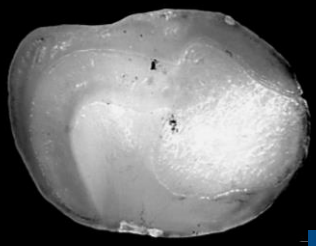
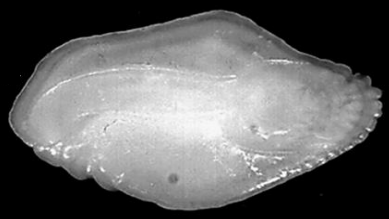



Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas

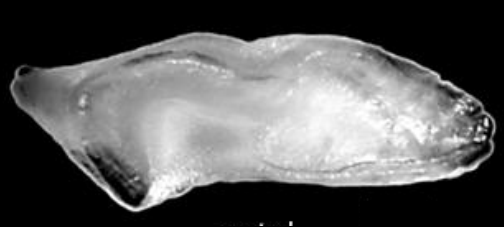
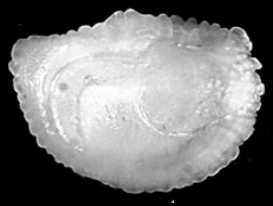
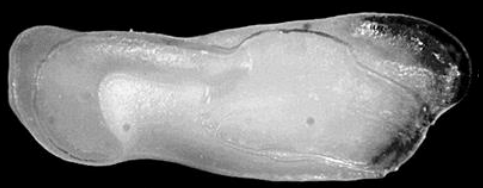
UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA

FACULTAD DE CIENCIAS

Ecomorfología de siete especies de la familia Sciaenidae (Teleostei; Acanthuriformes) en la costa de Uruguay en base a otolitos

Autor: MSc. José E. Verocai
Director: Dr. Walter Norbis
Co-Director: Dr. Antoni Lombarte

Tesis presentada para optar por el título de Doctor en Ciencias Biológicas
Marzo, 2024

Tesis para optar por el título de Doctor en Ciencias Biológicas Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA), Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

Ecomorfología de siete especies de la familia Sciaenidae (Teleostei; Acanthuriformes) en la costa de Uruguay en base a otolitos.

Autor: MSc. José E. Verocai
Director: Dr. Walter Norbis
Co-Director: Dr. Antoni Lombarte

Tribunal de aprobación:

Presidente:	Dra. Denise Vizziano
Vocal:	Dr. Marcelo Loureiro
Vocal:	Dr. Iván González

Marzo, 2024

INDICE TEMATICO

RESUMEN i

ABSTRACT iv

LISTA DE TABLAS vii

LISTA DE FIGURAS viii

Introducción general 1

Ecomorfología en Peces 1
Marco general de las Especies de estudio 2
El oído interno y los otolitos 6
Hipótesis y Objetivos 12
Área de Estudio 13

CAPITULO I. Cambios ontogenéticos en los otolitos *sagitta* de la corvina blanca *Micropogonias furnieri* (Acanthuriformes: Sciaenidae) y su implicancia en la comunicación acústica

Resumen 16
Introducción 18
Material y Métodos 19
Resultados 21
Discusión 25
Referencias Bibliográficas 28

CAPITULO II. Análisis biométrico de los otolitos *sagitta* de siete especies de la familia Sciaenidae en la costa de Uruguay.

Introducción 34
Material y Métodos 35
Resultados 41
Discusión 68
Conclusiones 81

CAPITULO III. Forma-función del *sulcus acusticus* del otolito *sagitta* en siete especies de Sciaenidae (Acanthuriformes) utilizando morfometría geométrica (Atlántico Sudoccidental).

Resumen 83
Introducción 85
Material y Métodos 85
Resultados 88
Discusión 92
Referencias Bibliográficas 95

Discusión general 99

Perspectivas 106

Referencias Bibliográficas 108

RESUMEN

Los ecomorfólogos se centran en el estudio de la función de las estructuras morfológicas en un marco ambiental y evolutivo, de modo de promover nuestro entendimiento general de las consecuencias ecológicas y evolutivas de la construcción animal. Los otolitos *sagitta* son estructuras complejas compuestas por carbonato de calcio, otros minerales y una matríz proteica, se encuentran en el oído interno de los teleósteos y sus formas son específicas de cada taxón. Sin embargo, estas estructuras presentan pequeñas variaciones de forma influenciadas por factores extrínsecos al pez.

Los Sciaenidae son un grupo de peces Teleósteos (Orden Acanthuriformes) de importancia comercial y el manejo de este recurso es un tema prioritario para las economías locales y nacionales de los países que explotan estas especies. Los integrantes de esta familia se caracterizan en general, por haberse especializado en la comunicación acústica. Su habilidad para producir sonidos es conocida hace tiempo (como algunos de sus nombres vulgares lo indican) y aquellos Sciaenidae que poseen músculos sónicos bien desarrollados asociados a la vejiga natatoria, utilizan el sonido como parte de su comportamiento reproductivo.

La propuesta de este estudio fue analizar la forma del otolito (*sagitta*) de siete especies de Sciaenidae (*Cynoscion guatucupa, Macrodon atricauda, Menticirrhus martinicensis, Micropogonias furnieri, Paralonchurus brasiliensis, Pogonias courbina* y *Umbrina canosai*) y explorar la posible asociación con el ambiente donde habitan las especies, con su biología y su comportamiento. Los tres capítulos de esta investigación contribuyeron a conocer esas posibles asociaciones entre las especies con su ambiente, su escenario sonoro y como estos factores podrían haber influido en la forma del otolito y cuál sería su interpretación a nivel específico y evolutivo. En este trabajo se lograron diferenciar grupos de forma en base a la emisión o no de sonido y a las frecuencias dominantes de emisión con dos diferentes metodologías.

En el Capitulo I se analizaron las variaciones de forma del otolito de la corvina blanca (*Micropogonias furnieri*) durante su desarrollo ontogenético considerando el ambiente que ocupan. Los resultados mas relevantes indicaron que la variación de los índices estuvo correlacionada con los diferentes grupos de talla, y que las diferencias entre los índices evidenciaron los diversos ambientes que frecuentan los juveniles. El cambio observado en la relación de aspecto SA/OA (área *sulcus*/área otolito) podría ser atribuible a una necesidad de un cambio en la precepción del sonido (pulso y frecuencia) experimentada por individuos mayores de 20 cm. que comienzan a frecuentar las mismas áreas que los adultos desovantes. En este sentido, los cambios ontogenéticos morfológicos del otolito *sagitta* jugarían un rol importante en la percepción y comunicación acústica de esta especie.

En el Capítulo II se analizó cuáles fueron los índices de forma que más contribuyen a caracterizar las diferencias encontradas (o no) entre los otolitos de las siete especies propuestas, explorando las causas (factores endógenos y exógenos) que podrían influir en su morfología. Los resultados mostraron que existen correlaciones entre la masa del otolito y la frecuencia dominante a la cual emiten sonido; siendo que, las especies que presentaron *sagittas* con mayores masas fueron las que emitieron sonido con menores valores de frecuencias dominantes. Tambien se encontró que las especies que tuvieron *sagittas* con formas tendientes a la circularidad (CIR) emiten frecuencias dominantes de sonido más bajas (*P. courbina, M. furnieri* y *U. canosai*).

En el Capitulo III se planteo como objetivo analizar comparativamente la forma del *sulcus* de los otolitos *sagitta* en relación a la producción de sonido como adaptación funcional y explorar la posible presencia de señal filogenética a través de su forma. Se pudieron identificar tres diferentes patrones de forma. El primero presentó el *sulcus* con un *ostium* más redondeado y más grande, y una *cauda* corta que comprendió a *P. courbina, U. canosai* y *M. furnieri*. El segundo patrón de forma se observó en los otolitos de *C. guatucupa*, presento un *sulcus* con un *ostium* más alargado y menor área, y *cauda* más larga, otorgándole al *sulcus* una forma general más estilizada y fusiforme. El tercer patrón de forma se caracterizó por presentar mínimas deformaciones del

sulcus con respecto a la forma de consenso, y estuvo integrado por dos especies que no emiten sonido (*M. martinicensis* y *P. brasiliensis*). Se encontraron tres situaciones que probablemente muestran diferentes caminos evolutivos en la forma del *sulcus*, siendo que los procesos evolutivos implicados, que generaron similitudes morfológicas, serian diferentes en cada una de las especies. Estos resultados se encuentran en concordancia con numerosos autores, que postularon que la forma del otolito y del *sulcus*, se encontraría muy influenciada por la adaptación a factores ambientales y comportamentales (producción/recepción de sonido entre otros). En conclusion el otolito *sagitta* y la *macula* sensorial asociada al *sulcus acusticus* son estructuras muy plásticas que están sujetas a una fuerte presión evolutiva en relación a factores ambientales y conductuales, dando lugar a una gran variabilidad de formas que se pueden asociar a un carácter específico. La variación en la forma del *sulcus* les permitiría a los Sciaenidae coexistir en los mismos escenarios sonoros costeros, sin perder sus necesidades auditivas particulares, aun superponiendo sus áreas de distribución espacial y temporal

ABSTRACT

Ecomorphologists focus in the study of the function of morphological structures in an environmental and evolutionary framework, so as to further our overall understanding of the ecological and evolutionary consequences of animal construction. *Sagitta* otoliths are complex structures composed of calcium carbonate, other minerals and a protein matrix, they are found in the inner ear of teleosts and their shapes are taxon-specific. However, these structures present small variations in shape influenced by factors extrinsic to the fish.

The Sciaenidae are a commercially important group of fishes and the management of this resource is a priority issue for the local and national economies of the countries that exploit these species. The members of this family are generally characterized by their specialization in acoustic communication. Their ability to produce sounds is well known (as some of their common names indicate) and those Sciaenidae that possess well-developed sonic muscles associated with the swim bladder use sound as part of their reproductive behavior. Otoliths from seven species were analyzed: *Cynoscion guatucupa, Macrodon atricauda, Menticirrhus martinicensis, Micropogonias furnieri, Paralonchurus brasiliensis, Pogonias courbina* y *Umbrina canosai*.

The proposal of this study was to analyze the shape of the otolith (*sagitta*) and explore the possible correlation with the environment in which the species live, their biology and their behavior. The three chapters of this research contributed to know the interactions between the species of the family Sciaenidae with their environment, their sound stage and how these factors could have influenced in the otolith form, and what would be their interpretation at a specific and evolutionary level. In this work it has been possible to differentiate shape groups based on the emission or non-emission of sound and the dominant emission frequencies with two different methodologies.

In Chapter I, the variations in the shape of the otolith of the white croaker (*Micropogonias furnieri*) during its ontogenetic development were analyzed considering the environment they

occupy. The most relevant results indicated that the variation of the indices was correlated with the different size groups, and that the differences between the indices were probably correlated to different environments frequented by juveniles. The observed change in the SA/OA (*sulcus* área/otolith área) ratio could be attributable to a need for a change in sound preception (pulse and frequency) experienced by individuals larger than 20 cm that begin to frequent the same areas as spawning adults. In this sense, the ontogenetic morphological changes of the otolith *sagitta* would play an important role in the perception and acoustic communication of this species.

In Chapter II, I analyzed which shape indexes contribute the most to characterize the differences found (or not) among the otoliths of the seven proposed species and exploring the causes (endogenous and exogenous factors) that could influence their morphology. The results showed that there are correlations between otolith mass, emission and the dominant frequency at which they emit sound, and the species that presented *sagittas* with higher masses were those that emitted sound with lower dominant frequency values. It was also found that species that had *sagittas* with circularity-tending shapes (CIR) emitted lower dominant frequencies of sound (*P. courbina*, *M. furnieri* and *U. canosai*).

The objective of Chapter III was to comparatively analyze the shape of the sulcus of *sagitta* otoliths in relation to sound production as a functional adaptation and to explore the possible presence of phylogenetic signal through its shape. Three different shape patterns could be identified. The first one presented the *sulcus* with a rounder and larger *ostium*, and short *cauda* that included *P. courbina, U. canosai* and *M. furnieri*. The second shape pattern, observed in the otoliths of *C. guatucupa*, presented a *sulcus* with a more elongated *ostium* and smaller area, and longer *cauda*, giving the *sulcus* a more stylized, fusiform shape. The third shape pattern was characterized by minimal *sulcus* deformations with respect to the consensus shape, and was integrated by two species that do not emit sound (*M. martinicensis* and *P. brasiliensis*). Three situations were found that probably show different evolutionary paths in the shape of the *sulcus*, being that the evolutionary processes involved, which generated morphological similarities, would

be different in each of the species. These results are in agreement with numerous authors, who postulated that the shape of the otolith and *sulcus* would be strongly influenced by adaptation to environmental and behavioral factors (sound production/reception, among others). In conclusion, the *sagitta* otolith and the sensory macula associated with the *sulcus* acusticus are highly plastic structures that are subject to strong evolutionary pressure in relation to environmental and behavioral factors, giving rise to a great variability of forms that can be associated with a specific character. The variation in the shape of the *sulcus* would allow the Sciaenidae to coexist in the same coastal sound scenarios, without losing their particular auditory needs, even overlapping their spatial and temporal distribution areas.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Situación pesquera de las especies de la familia Sciaenidae…….……....4

Tabla 2. Distribución, rangos de profundidad, tipos de fondo, rangos de salinidad…….....6

CAPITULO I.

Table 1. Kruskal-Wallis test for the six biometric indexes of the *sagitta* otolith……23

Table 2. Morphometric variables that contributed the most to discriminate groups ……..24

CAPITULO II

Tabla 1. Especie, origen de la muestra, número de individuos y otolitos procesados…….……36

Tabla 2. Especies utilizadas, rango, promedio de tallas y talla de primera madurez….……..41

Tabla 3. Relaciones entre longitud otolito – longitud pez (OL - LT)……...….…….51

Tabla 4. Relaciones entre longitud pez – ancho otolito (LT – OH)……...…….…….……52

Tabla 5. Resultados de la prueba de Mann-Whitney para el índice de circularidad……55

Tabla 6. Resultados de la prueba de Mann-Whitney para el índice de rectangularidad……...……...56

Tabla 7. Resultados de la prueba de Mann-Whitney para el índice de elipcidad……...…….57

Tabla 8. Resultados de la prueba de Mann-Whitney para el índice de forma OH/OL…...…….58

Tabla 9. Resultados de la prueba de Mann-Whitney para el índice de forma OL/TL…...…….…….60

Tabla 10. Resultados de la prueba de Mann-Whitney para el índice de forma AS/AO…..……61

Tabla 11a. Relaciones potenciales entre el área del otolito y la longitud total del pez……..….……61

Tabla 11b. Relación AS/AO para las siete especies analizadas……..……62

Tabla 12. Especies que presentaron mayores valores de índices de forma…….……66

Tabla 13. Valores biométricos del otolito tomados de los peces adultos para las siete especies...….……67

Tabla 14. Especie, K = constante de crecimiento de V. Bertalanffy, E Max = edad máxima registrada…75

CAPITULO III

Tabla 1 Especies analizadas, situación pesquera hábitos, producción de sonido……86

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Profundidades máximas y promedio de las siete especies de Sciaenidae analizadas……4

Figura 2. Fotografía del encéfalo mostrando la ubicación de los canales semicirculares en el pez……11

Figura 3. Mapa de la región mostrando la zona de captura de las especies analizadas…….……..14

CAPITULO I

Figure 1. Study área indicating the sampling site in the Rio de la Plata estuary…….19

Figure 2. Measuremens made on the inner face of *sagitta* otoliths of *Micropogonias furnieri*……...……20

Figure 3. Relationship between otolith length and fish length…….……22

Figure 4. Relationship between otolith height and fish length…….……22

Figure 5. Mann-Whitney test corrected by the Bonferroni criterion for the six indexes…….……24

Figure 6. Discriminant analysis of the six indexes used and the five groups considered in this work……25

CAPITULO II

Figura 1. Cara interna de un otolito *sagitta*, indicando las zonas en las que se realizaron las medidas..….37

Figura 2. Otolito de *Micropogonias furnieri*……..……...……42

Figura 3. Otolito de *Pogonias courbina*……..…….44

Figura 4. Otolito de *Paralonchurus brasiliensis*……..……45

Figura 5. Otolito de *Macrodon atricauda*……46

Figura 6. Otolito de *Menticirrhus martinicensis*…….……48

Figura 7. Otolito de *Cynoscion guatucupa*……..……...……49

Figura 8. Otolito de *Umbrina canosai*……..……..……50

Figura 9. Dispersión de los datos y ajuste de las relaciones longitud pez–longitud otolito…….53

Figura 10. Box-plot con los valores de los índices de circularidad calculados ……..…..……54

Figura 11. Valores de los índices de rectangularidad calculados para los otolitos (*sagitta*)……...……55

Figura 12.Valores de los índices de elipcidad calculados para los otolitos (*sagitta*)…….…..……56

Figura 13. Valores de los índices de forma (OH/OL) calculados para los otolitos de las siete especies.....58

Figura 14. Valores de los índices de forma (OL/TL) calculados para los otolitos de las siete especies…..59

Figura 15. Índices de forma (AS/AO) calculados para los otolitos de las siete especies analizadas…..…60

Figura 16. Análisis Canónico Discriminante de los otolitos (*sagitta*) para las siete especies analizadas...64

Figura 17. Variabilidad ontogenética de los otolitos de *C. guatucupa*…….……..……..65

Figura 18. Fotografía de las 7 especies analizadas, ejemplares adultos, misma relación de escala…...….68

Figura 19. Frecuencias registradas por sonogramas para las especies que emiten sonido en este estudio...78

Figura 20. Valores de los índices de masa de los otolitos tomados de los peces adultos…….79

CAPITULO III

Figure 1. Map of the study area off the Uruguayan coast indicating (shaded area) the sampling site…....86

Figure 2. Medial side of the left sagittal otolith showing ……..……..86

Figure 3. Multivariate regression of shape variables (y-axis) on log of centroid size (x-axis)……....87

Figure 4. Distribution of the sulcus forms of the seven species…….……..88

Figure 5. CVA (canonical variable analysis) plot showing CV1 and CV2..……88

Figure 6. Average shape variation in the sulcus acusticus by species shows shape changes……...89

Figure 7. Overall multivariate pattern of shape similarity among seven Sciaenidae……..……..…...…….89

Figures 8a, 8b y 8c. Phylogenetic trees superimposed on a plot of the first two principal components.....90

Figure 9. Phylogenetic tree of the seven Sciaenidae species analysed in this work……...…....…….90

Figure 10. Relation of the phylogeny with the logarithm of the ……..……91

Figure 11. Evolutionary allometry of the sulcus of the otoliths of the Sciaenidae family……....……91

Figure 12. Sonogram-recorded frequencies (Hz) emitted by the five sound-emitting Sciaenidae species...91

Introducción general

Ecomorfología en Peces

El análisis morfométrico en estructuras de peces teleósteos, es fuente primaria de información para estudios taxonómicos y evolutivos (Strauss y Bond, 1990). Idealmente, cualquier aspecto que determine la formación y el cambio de una estructura morfológica debería ser considerado, incluyendo la genética, filogenia, ontogenia, ecología y etología. Esta lista deja en claro que la morfología debe "cooperar" con varias áreas de investigación de la biología. Los resultados obtenidos se pueden relacionar con la biología, hábitos de vida de las especies estudiadas así como la adaptación de la forma y la función a determinado ambiente, lo que provee la necesaria integración de las disciplinas mencionadas.

Los trabajos más comunes utilizando morfología de peces buscan explicar cómo una determinada estructura corporal del pez afecta su desempeño o función en el ecosistema. La ecomorfología es empleada también para determinar aspectos importantes de la ecología de los peces como ser: hábitos alimenticios y posición en la columna de agua, entre otros. De este modo los ecomorfólogos se centran en la función de las estructuras morfológicas en un marco ecológico (ambiente) y evolutivo (histórico), de modo de promover nuestro entendimiento general de las consecuencias ecológicas y evolutivas de la construcción animal (Romer y Parsons, 1986). Estas relaciones han sido analizadas en los peces por varios investigadores (Gatz, 1979; Watson y Balon, 1984; Winemiller, 1991; Wainright y Richard, 1995).

Gatz (1979), utilizó atributos morfológicos obtenidos a partir de caracteres como índice de tamaño, altura relativa, orientación de la boca y posición del ojo entre otros. Watson y Balon (1984) seleccionaron las características morfológicas que más reflejaban la ecología de los peces basados en 56 caracteres propuestos por Gatz (1979), sirviendo de referencia para la mayoría de los trabajos ecomorfológicos que se han realizado con peces. Recasens et al., (2006) compararon

puntos homólogos morfológicos en los peces de diferentes especies para realizar medidas de su contorno y discriminar los diferentes orígenes de los mismos.

Marco general de las especies objeto de estudio

Dentro de la provincia biogeográfica "Atlántico Sudoccidental templada-cálida", la ecoregión "Plataforma Uruguay-Buenos Aires" (34°41´S) se caracteriza por presentar alta productividad, abundantes poblaciones de peces y numerosas colonias de mamíferos marinos y aves (Sealey y Bustamante, 1999). Por sus características hidroclimáticas, el Uruguay posee ambientes costeros muy ricos y diversos, pero debido al crecimiento y la diversificación de la economía, los ecosistemas costeros han aumentado su vulnerabilidad. El espacio costero concentra el 79% del turismo total del país, trayendo como consecuencia un aumento de los servicios, transporte, residuos sólidos, aguas servidas, fertilizantes y contaminantes en general; creando una degradación sistemática de los ecosistemas terrestres y acuáticos (Freplata, 2004).

La fauna marina adyacente a la costa Uruguaya presenta signos de deterioro y alteración de sus hábitats (Freplata, 2004). Los peces costeros en particular han soportado mucho tiempo pesquerías artesanales e industriales, trayendo como consecuencia de que varias especies hayan sido declaradas plenamente explotadas, como es el caso de dos integrantes de la familia Sciaenidae, la corvina blanca (*Micropogonias furnieri*) y la pescadilla de calada (*Cynoscion guatucupa*) (Norbis et al.,2006).

La familia Sciaenidae integra el Orden Acanthuriformes, incluye cerca de 50 géneros y 270 especies que se encuentran muy extendidas y diversificadas particularmente en América y está representada por 9 especies en el Río de la Plata y costa atlántica uruguaya (Nión et al., 2013). Sus integrantes presentan concentraciones muy abundantes en aguas costeras, en general a profundidades menores a 60 m, cerca de las regiones continentales y estuarios, y muchas tienen un valor comercial considerable. Se caracterizan por poseer aleta dorsal larga, con profundo corte,

separando los radios espinosos de los blandos, una barba sola o un conjunto de pequeñas barbillas en el mentón en algunas especies; hueso vómer y el palatino sin dientes; una fuerte especialización en la producción de sonidos y comunicación acústica expresada por el desarrollo de un músculo sónico en relación con la vejiga natatoria (Tellechea et al., 2010, 2011, Tellechea y Norbis, 2012) y otolitos (*sagitta*) excepcionalmente grandes (Yañez – Arancibia, 1985; Nelson, 1994; Bond, 1996, Cruz y Lombarte, 2004).

Las poblaciones de peces que viven en áreas costeras están sujetas a cambios en el ambiente, como el aporte de aguas continentales, la distribución de la temperatura, la salinidad, las corrientes y nutrientes, entre otras condiciones oceanográficas. Los ecosistemas estuarinos y costeros, con condiciones ambientales altamente variables a lo largo de diferentes escalas temporales y espaciales, proveen una buena oportunidad para investigar las características ecomorfológicas en los peces, siendo la ecomorfología, una ciencia de síntesis que trata las interacciones entre la morfología de los organismos con las presiones selectivas de su entorno, dentro de un contexto evolutivo y de dinámica poblacional (Karr y James, 1975; Strauss y Bookstein, 1982; Bock, 1994; Betz, 2006).

Se eligieron 7 especies de Sciaenidae (marinos y fluviomarinos) que habitan las costas uruguayas. La abundancia de cada una de las especies seleccionadas es muy variable y a pesar de que todas ellas están afectadas por la pesca industrial y/o artesanal, existe una marcada desigualdad en su interés pesquero en el Uruguay (Chirichigno et al., 1982) (Tabla 1).

Algunas de estas especies poseen interés comercial, como la corvina blanca (*Micropogonias furnieri*) que ocupa el segundo lugar dentro de los desembarques nacionales y el primer lugar dentro de las especies costeras y la pescadilla de calada (*Cynoscion guatucupa*), que ocupa el segundo lugar de los desembarques costeros (Nion, 1985; Norbis et al., 2006). Otras especies, como *Macrodon atricauda, Umbrina canosai* y *Pogonias courbina* son también objeto de captura por la pesca industrial y artesanal, y el estado de conocimiento de los aspectos biológicos de estas especies es menor. Por último hay otras 2 especies de Sciaenidos que habitan en la costa Uruguaya

(*Menticirrhus martinicensis* y *Paralonchurus brasiliensis*), que aparecen como no explotadas comercialmente, y son las que menos reportes científicos presentan acerca de su biología dentro de la región (Nion, 1985; Norbis et al., 2006).

Tabla 1. Situación pesquera de las especies de la familia Sciaenidae en el Uruguay identificando nombre vulgar, distribución y modo de pesca (FM= frente marítimo; RP= Río de la Plata).

Especie	**Nombre Vulgar**	**Distribución**	**Modo de pesca**	
Macrodon atricauda (Gunther, 1880)	Pescadilla de red	Nectopelágico, marino, salobre (FM – RP)	Industrial – Artesanal	
Menticirrhus martinicensis (Linnaeus, 1758)	Burriqueta	Bentófago, oceanodromo, salobre, marino (FM- RP)	Deportiva – Artesanal	
Micropogonias furnieri (Desmaret, 1823)	Corvina blanca	Bentófago, salobre, marina (FM – RP)	Industrial – Artesanal Deportiva	
Paralonchurus brasiliensis (Steindachner, 1875)	Córvalo	Bentófago, salobre, marina (FM)	Industrial	
Umbrina canosai (Berg, 1895)	Pargo blanco	Bentófago, oceanodromo, salobre, marino (FM)	Industrial – Artesanal	
Cynoscion guatucupa (Cuvier, 1830)	Pescadilla de calada	Nectopelágico, oceanodromo, marino (FM – RP)	Industrial – Artesanal	
Pogonias courbina (Lacépède, 1801)	Corvina negra	Bentófago, salobre, marina (FM – RP)	Industrial – Artesanal – Deportiva	

Todas estas especies presentan algo en común, y es que existe un gran vacío de información comparativa, acerca de cuál es el significado ecológico de la diferencia en la forma – función de sus otolitos y cómo los parámetros ambientales y las características del hábitat condicionan la morfología de sus otolitos *sagitta.* En la región existen algunos estudios realizados en la corvina blanca, pero de las demás especies no existen antecedentes, y para nuestras costas (Río de la Plata, Lagunas costeras y Océano Atlántico) tampoco existen antecedentes publicados.

Varios miembros de la familia Sciaenidae presentan una amplia distribución latitudinal, algunos de ellos son residentes estuarinos, otros viven en aguas marinas, mientras que otros realizan

parte de su ciclo de vida en estuarios y durante su etapa adulta habitan ambientes marinos (Militelli, 2007). Rico (2000) analizó la distribución y la abundancia de las diferentes especies de Sciaenidae asociada a la salinidad del fondo, definiendo dos grupos dentro de esa familia. Un primer grupo de especies con preferencias por ambientes marinos, en donde se encuentran la pescadilla de calada, el pargo, la burriqueta y el corvalito cuyas abundancias decrecen a medida que penetran en el estuario, y un segundo grupo conformado por especies que toleran un amplio rango de salinidad, como la corvina blanca, la pescadilla de red y la corvina negra.

Las 7 especies de Sciaenidae elegidas no ocupan los mismos ambientes ni poseen las mismas características ecológicas. Habiendo especies que son nectopelágicas y otras demersales, abarcando diferentes profundidades y ubicándose a diferentes distancias de la costa, tolerando diferentes rangos de salinidad y temperaturas, con hábitos alimenticios diferentes, y con emisión o no de sonido (Tabla 2, Fig. 1).

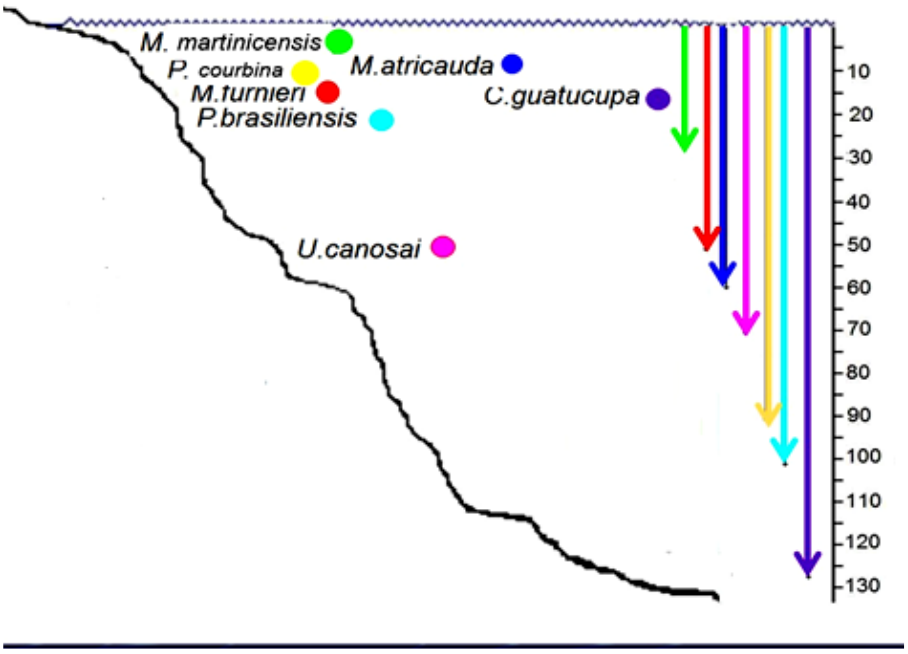


Figura 1. Profundidades máximas registradas (líneas verticales con código de la especie entre paréntesis) y profundidades a las que se han registrado las mayores abundancias (especies en negro) de las 7 especies de Sciaenidae analizadas.

Tabla 2. Distribución, rangos de profundidad, tipos de fondo, rangos de salinidad (S) y temperatura (T), alimentación y generación de sonido

Especie	**Distribución**	**Tipo de fondo**	**Sal y Temp**	**Alimentación**	**Sonido**
Paralonchurus brasiliensis	Panamá hasta Argentina	arena limosa arena lodosa	T (9.1 – 22.3°C) S (23 ups)	crustáceos y peces	NO
Macrodon atricauda	Venezuela hasta Argentina	arena o arcilla+limo fango	T (11 a 22°C) S (15.5 – 32.9 ups)	carnívoro peces canibalismo camarones	SI
Umbrina. canosai	Rio Grande (Brasil) hasta Argentina	arena fango	T (16- 18 °C) S (30 ups)	anélidos, moluscos poliquetos	SI
Pogonias courbina	Sur de Brasil hasta golfo San Matias, Argentina	arena limo	T (12 – 33 °C) S (9 – 26 ups)	anélidos, anfípodos moluscos, camarones	SI
Menticirrhus martinicensis	Long Island USA Sur Buenos Aires Arg	arena fango	T (22 – 24 °C) S (23 ups)	cangrejos, fauna bentónica	NO
Micropogonias furnieri	Yucatán (Mexico) hasta Argentina	arena fango	T (12.3 – 22.5°C) S (10 – 30 ups)	moluscos, crustáceos decápodos	SI
Cynoscion guatucupa	Rio de Janeiro (Brasil) hasta 43° Sur (Argentina)	arena-limo duros	T (12 – 22 °C) S (15 – 34ups)	peces, camarones canibalismo	SI

El oído interno y los otolitos

Los peces obtienen información acerca de su entorno a través de los ruidos del fondo y señales específicas (Fay y Popper, 2000). Esta información puede ser en forma de sonido producido por depredadores o presas, o de olas, o reflexiones de energía del lecho marino (Platt y Popper, 1981). El sistema acústico en los teleósteos incluye los canales semicirculares que poseen 3 ampollas (*sáculo*, *lagena* y *utrículo*) en cada una de las cuales hay un otolito (*sagitta*, *asteriscus* y *lapillus*) (Fig. 2) (Popper y Fay, 1999). En los teleósteos los otolitos son concreciones formadas por la precipitación de las sustancias presentes en el líquido endolinfático y están formados por

cristales de carbonato de calcio suspendidos en una matriz proteica (Mugiya, 1964; Degens et al., 1969; Panella, 1971; Simkiss, 1974; Morales-Nin, 1987; Gauldie et al., 1997; Dove, 1998; Popper y Zhongmin, 2000).

Los otolitos son un componente importante del sistema responsable de la audición en peces, este detecta los dos componentes de la onda mecánica que genera un pulso de sonido: 1) de forma directa por el desplazamiento diferencial (entre otolito y resto del cuerpo) del movimiento de las partículas que genera una onda, y 2) a través de la vejiga natatoria por el cambio de presión que genera la misma onda mecánica que produce el sonido, siendo la forma del otolito determinante de frecuencias particulares para las cuales actúa como transductor (Popper y Cooms, 1980; Gauldie, 1988). Los movimientos de la cabeza del pez hacen variar la posición de los otolitos, "informándole" al organismo la posición en la que se encuentra. Cada órgano otolítico contiene un epitelio sensorial (mácula) compuesta de células ciliadas mecano-receptoras. El movimiento diferencial entre el epitelio y el otolito, estimula las células sensoriales que transmiten información acústica y posicional del medio al sistema nervioso central (Lombarte y Fortuño, 1992; Popper y Lu, 2000; Popper et al., 2003; Ladich y Popper, 2004).

Como consecuencia de que son resistentes a la acción química y mecánica del estómago y los intestinos, los otolitos se encuentran en las heces fecales, intestinos y estómagos de animales depredadores (ictiófagos) revelando relaciones predador-presa, y así permitien el examen de la estructura trófica de los ecosistemas (Corrêa y Viana, 1992; Pansard, 2009; Rossi-Wongtschowski et al., 2014).

Los otolitos son estructuras que crecen durante toda la vida del pez (sin que exista reabsorción) mediante la deposición de una serie de capas concéntricas que contienen zonas de alta y baja densidad óptica, y se asume que registran eventos temporales de periodicidad diaria y estacional (Ramcharitar et al., 2001). Registran información en su microestructura y composición química a escalas temporales diferentes, relacionadas con su crecimiento y variaciones del ambiente (Kalish, 1989; Campana, 1999; Morales-Nin et al., 2005; Hamer y Jenkins, 2007a) y

contienen información desde el nacimiento de cada pez (Campana y Casselman, 1993). Esta información (que de otra manera es extremadamente difícil, sino imposible de colectar), incluye edad y crecimiento, patrones de migración e interacciones con el hábitat, puede ser interpretada a nivel de poblaciones, en términos de ecología, demografía e historia de vida de los peces, ambientes acuáticos y en estudios de monitoreo ambiental (Papalopoulou et al., 1980; Kalish, 1990; Gauldie, 1990; Radtke y Shafer, 1992; Begg et al., 2005).

En las últimas décadas se ha pasado de estudios clásicos de edad y crecimiento a estudios con enfoques ecológicos más aplicados. Dentro de estos estudios aparece el análisis de la morfometría del otolito como nueva área de investigación, siendo que la forma de estas estructuras ha sido asociada a un componente filogenético característico del grupo taxonómico al cual pertenecen (Gaemers, 1984; Lombarte y Castellón, 1991), y también se sabe que puede ser influenciada por las condiciones ambientales en las cuales se desarrollan los peces (Gauldie, 1990; Torres et al., 2000; Lombarte et al., 2010).

Las características morfológicas en los otolitos de los peces han sido objeto de estudio para identificar peces en paleoictiología, por su durabilidad y resistencia a la intemperie permanecen en estratos fósiles (Gaemers, 1973, 1976; Carey, 1992; Corrêa y Viana, 1992; Assis, 2000; Schwarshans, 2012, 2013, 2014). Se han utilizado en estudios de ecología tropical, eco-morfología funcional y variabilidad intra e inter-específica entre peces del mismo género (Gaemers, 1984; Nolf, 1985, 1995; Lombarte y Castellón, 1991; Lombarte y Lleonart, 1993; Torres et al., 2000).

Por su alta especificidad, los otolitos se han utilizado como caracteres taxonómicos en la identificación de especies de peces (Schimt, 1969; Ré, 1986; Corrêa y Viana, 1992; Lemos, et al.,1992/93; Volpedo y Echeverría, 1997, 2000; Assis, 2000, 2004; Campana, 2004; Tuset et al., 2008). La forma del otolito también ha sido utilizada como una ayuda para el manejo de la estructura de grupos o “stock” (entendiéndose por stock pesquero un grupo de peces nacidos en una misma época del año en un área determinada), para especies tan diversas como el Bacalao del

Atlántico, Caballa del Atlántico, Caballa rey y Cojinoba plateada (Castonguay et al., 1991; Campana y Casselman, 1993; DeVries et al., 2002; Smith et al., 2002; Talman et al., 2003; Piera et al., 2005). Burke et al., (1993), estudiaron la relación que existe entre la morfometría de la *sagitta* de *Micropogonias undulatus* y el hábitat donde vive esta especie.

Los estudios del significado ecomorfológico de la forma del otolito se han desarrollado porque ha habido suficiente evidencia sobre la adaptación especializada de la forma del otolito a los requerimientos auditivos de los hábitats de los peces (Lombarte, 1992; Lombarte y Lleonart, 1993; Aguirre y Lombarte, 1999). Sin embargo, es prácticamente desconocida como la gran variabilidad morfológica de los otolitos, principalmente del *sagitta*, influye en el proceso de detección y transducción de las diferentes frecuencias de sonido. Además, los mecanismos que causan las diferencias en la forma del otolito dentro de la misma especie, están pobremente entendidos (Popper y Lu, 2000). Platt y Popper (1981) sugieren que la variabilidad en la forma del *sagitta* (especialmente en el área del *sulcus acústicus*) podría ser una característica morfofuncional, dado que la deposición de nuevo material en el otolito está relacionada principalmente a mantener su forma y su función (Gauldie, 1988).

Sanz-Echevarría (1950) y Volpedo y Echevarría (2003) observaron una relación entre ecotipos de peces y la forma del otolito, señalando que los otolitos de especies pelágicas son largos con un bien desarrollado *rostrum*, mientras que los otolitos de especies bentónicas son de forma redondeada. El tamaño relativo de la *sagitta* también ha sido relacionado con adaptaciones a factores ambientales por otros autores (Lombarte y Lleonart, 1993; Lychakov y Revane, 2000; Paxton, 2000; Parmentier et al., 2001).

A nivel de especies, diferencias en la forma del otolito pueden ser utilizadas como indicadores fenotípicos de estructura de grupos o stocks, (Ihssen et al., 1981), pero es un pensamiento general que reflejan diferencias en las condiciones ambientales, particularmente aquellas que influyen en la alimentación y crecimiento y/o sutiles diferencias genéticas (Lombarte

y Lleonart, 1993; Campana y Casselman, 1993; Gauldie y Crampton, 2002; Gagliano y McCormick, 2004).

Si bien los *sagitta* presentan ciertas características morfológicas que se establecen temprano en la ontogenia de los peces, algunas características como el área y la profundidad del *sulcus,* y la relación entre el área del *sulcus* y el área del otolito, varían de acuerdo a factores ecológicos (Tuset et al., 2003). Lombarte et al., (2010) analizando 18 especies de la familia Notothenidae encontraron una alta correspondencia entre factores ecológicos y la morfología de los otolitos, asociados con la diferencia en su alimentación, distribución espacial y profundidad. Bervian et al., (2006) estudiando los otolitos de *Micropogonias furnieri*, han comprobado que el crecimiento somático y el del otolito responden a diferentes condiciones ambientales.

Para muchas especies de la familia Sciaenidae existe una marcada variación en la forma de varias estructuras, que están relacionadas con la audición, como la vejiga natatoria, y los propios otolitos (Ramcharitar et al., 2001). Los integrantes de esta familia se caracterizan en general, por haberse especializado en comunicación acústica. Su habilidad para producir sonidos ha sido conocida hace tiempo (como algunos de sus nombres vulgares lo indican) y aquellos Sciaenidae que poseen músculos sónicos bien desarrollados asociados a la vejiga natatoria, utilizan el sonido como parte de su comportamiento reproductivo (Holt, 2002; Tellechea et al., 2010, 2011). Muchos integrantes de esta familia, han sido tenidos en cuenta como modelo para estudiar la estructura y función del oído interno en los peces (Cruz y Lombarte, 2004).

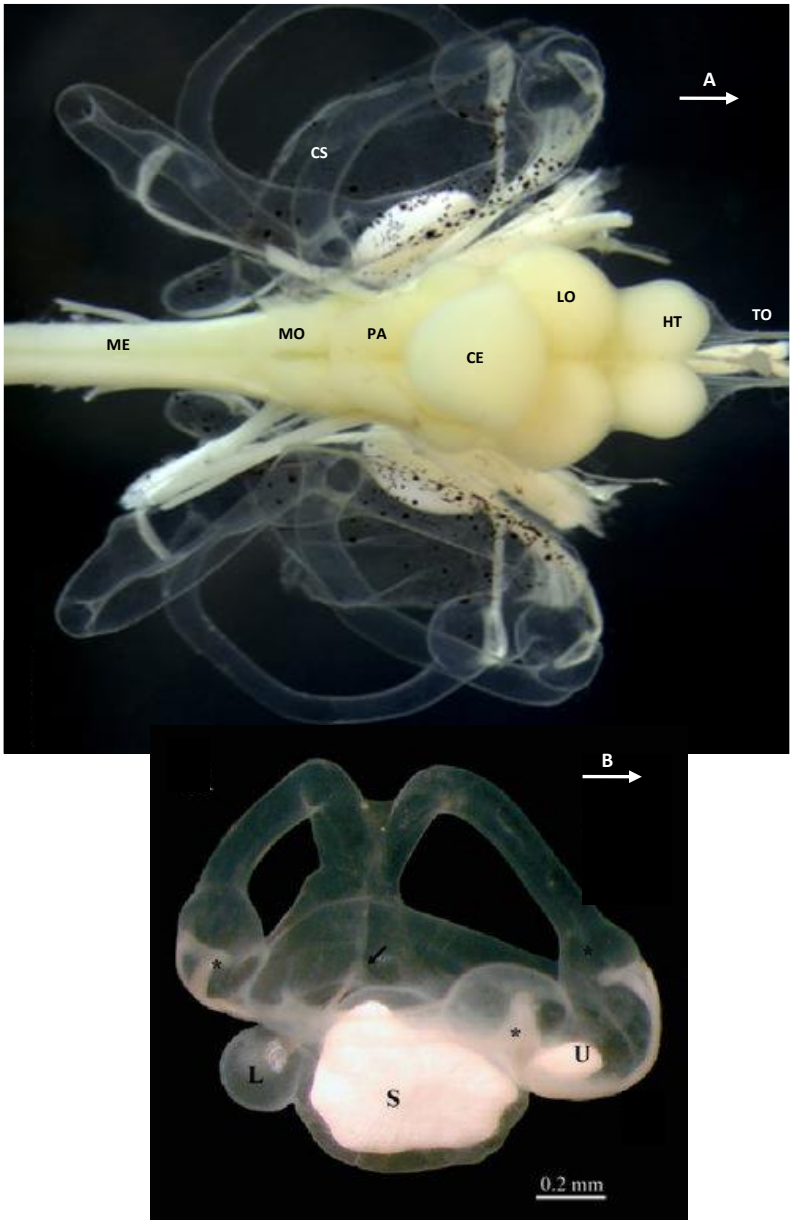


Figura 2. Fotografía del encéfalo mostrando la ubicación de los canales semicirculares en el pez donde se encuentran alojados los otolitos (A) (TO = tractos olfatorios, HT = hemisferios telencefálicos, LO = lobulos ópticos, CE = cerebelo, PA = pabellones auriculares, CS = canales semicirculares, MO = medula oblonga, ME = medula espinal) y (B) otolitos dentro de los canales semicirculares (U = urticulo, S = sáculo, L = lagena) (Modificado de Dolores, et al., 2001 y Moreno-Rodriguez, 2021).

Hipótesis y Objetivos

La morfología del otolito está influenciada por una combinación de factores, endógenos y exógenos (características biologicas, filogenia y características ecológicas del ambiente donde se desarrolló el pez).

Se predice que en el otolito se pueden identificar señales filogenéticas y que las especies más emparentadas poseen otolitos similares morfológicamente.

Se predice que las condiciones ambientales ejercen influencia en las características morfológicas del otolito a nivel interespecífico, reflejándose en las diferentes formas encontradas.

Como objetivo general se planteó estudiar la ecomorfología de siete especies de Sciaenidae que habitan la costa Uruguaya considerando las características de la forma del otolito *sagitta* y el ambiente que ocupan las especies.

Para cumplir con los objetivos propuestos se realizaron las siguientes preguntas:

1) ¿La forma del otolito (*sagitta*) de la corvina blanca (*Micropogonias furnieri*) cambia durante el crecimiento en longitud del pez? Y ¿Cómo se interpretan esos cambios de acuerdo a su funcionalidad?
2) ¿En qué características biométricas se diferencia la forma de los otolitos (*sagitta*) de las siete especies analizadas, y cuáles serían los factores que más contribuyen a su diferenciación?
3) ¿Qué tanta información entrega la forma del *sulcus* del otolito de las siete especies analizadas, considerando a la producción de sonido como adaptación funcional?
4) ¿La forma del sulcus podrá ser util para detectar señal filogenética?

Área de Estudio

La costa uruguaya tiene 670 km. de longitud aproximadamente desde la boca del Río Uruguay (34ºS – 58ºW) hacia el límite NE con el Chuy (33ºS – 53ºW) (MTOP-PNUD, 1979) (Fig. 3). En este sentido presenta un sistema fluvial, estuarino y marino determinado por la descarga del Río de la Plata en el Océano Atlántico. Dentro de cada región (fluvial, estuarina y marina), muchos cursos de agua y lagunas costeras desembocan en sus costas formando pequeñas áreas sub estuarinas con menores profundidades y más protegidas que el principal cuerpo de agua del Río de la Plata (Giménez et al., 2005). Estas zonas son lugares de refugio y alimentación de familias de peces tales como Clupeidae, Engraulidae, Atherinidae, Sciaenidae, Mugilidae y Paralychthidae (Giménez et al., 2003; Retta et al., 2006).

El Río de la Plata se ubica en la costa Este de Sudamérica entre 34°00´ - 36°10´ Sur y 55°00´ - 58°10´ Oeste, con una superficie de 38.800 Kilómetros cuadrados, 200 kilómetros de longitud y sección creciente hacia el suroeste presentando 32 Km. entre Colonia-La Plata; 100 Km. entre Montevideo-Punta Piedras y 230 Km. entre Punta del Este-Cabo San Antonio. El sistema constituye el colector de la segunda cuenca hidrográfica del continente formada por los ríos Uruguay y Paraná-Paraguay (Nagy et al., 1987; Framiñan et al., 1996, 1999; Guerrero y Piola, 1997).

Por su batimetría, sedimentología y gradiente salino causado por el estuario que descarga dentro del Océano Atlántico, se divide en tres regiones geográficas. Región interna o superior: al oeste de la línea Colonia – Buenos Aires; corresponde al delta fluvial donde se depositan los sedimentos más gruesos y se caracteriza por la presencia del delta del Paraná y el Sistema Fluvial Norte integrado por una serie de canales que se extienden desde el nacimiento del Río hasta Colonia. Región intermedia: entre las líneas Colonia – Buenos Aires y Montevideo – Punta Piedras; como rasgo que la distingue está el Banco Ortíz, con profundidades próximas a los 3 m

en las zonas más profundas, así como el Canal Norte y el Canal Intermedio (Nagy et al., 1987; López Laborde, 1987).

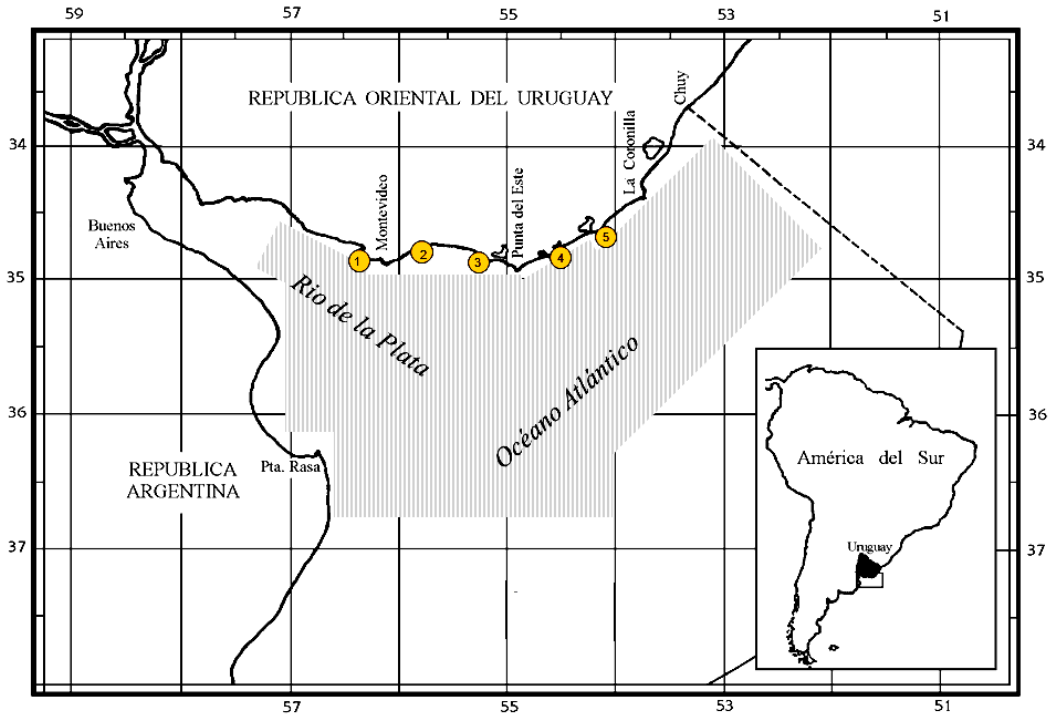


Figura 3. Mapa de la región mostrando la zona de captura (gris oscuro) de las especies analizadas (círculos naranjas 1= Pajas Blancas; 2= San Luis; 3 = Piriápolis; 4 = José Ignacio; 5= La Paloma).

Región exterior: al Este de la Línea Montevideo – Punta Piedras y hasta el límite legal del Río (Punta del Este – Cabo San Antonio). Se caracteriza por un arco de sedimentos pelíticos (limos, limos arcillosos, arcillas limosas y facies de mezcla) limitando un importante cuerpo arenoso que se extiende sobre la desembocadura del Río y la plataforma media y externa (Nagy et al., 1987; López Laborde, 1987). Además presenta en su parte media y exterior un régimen estuarino, caracterizado por ser un elemento hidrográfico semi-incluído en la línea general de las costas, con amplia conexión libre con el mar abierto, determinadas por los aportes del océano Atlántico y de los ríos Paraná y Uruguay. El régimen de mareas del río es semidiurno con desigualdades diurnas; se oponen a su desarrollo, la descarga fluvial, la acción combinada de la

fricción, la pendiente y la forma del río (Poplawski, 1983; Nagy et al., 1987; CARP, 1990). El frente marino Atlántico dentro de la plataforma Uruguaya se caracteriza por una compleja hidrodinámica, debido a la presencia de masas de agua con características termohalinas contrastantes y una importante descarga continental del Rio de la Plata. Recibe la influencia de las corrientes de Brasil y de Malvinas, presentando salinidades promedio de 32 y mayor transparencia que las aguas estuarinas, (Nagy et al., 1987; Ecoplata, 1996; Framiñan y Brown, 1996; Guerrero y Piola, 1997; Framiñan et al., 1999;). Es una zona conocida por su alta productividad biológica (Bakun y Parrish, 1991; Acha et al., 2004) producto de fuertes gradientes horizontales que se extienden verticalmente (frentes). Los frentes se caracterizan por una elevada biomasa fitoplanctónica y cambios en la estructura de la trama trófica (Olson, 1994, Alemany et al., 2009).

CAPITULO I. Cambios ontogenéticos en los otolitos *sagitta* de la corvina blanca *Micropogonias furnieri* (Acanthuriformes: Sciaenidae) y su implicación en la comunicación acústica

Manuscrito publicado en la revista: **Animal Biology**: "Ontogenetic changes in *sagitta* otoliths of whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* (Acanthuriformes: Sciaenidae) and its implication in acoustic communication" Animal Biology, 73 (2023) 195–211. DOI: 10.1163/15707563-bja10105.

Resumen

Los otolitos de los teleósteos forman parte del oído interno. Están relacionados al sistema de equilibrio y son también parte del componente mecánico de la transmisión de sonido, responsable de la audición en los peces. Su morfología se encuentra determinada por la función que ellos cumplen y también por los factores ambientales. En este contexto, el objetivo fue: analizar los posibles cambios morfológicos de los otolitos *sagitta* de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) durante su ontogenia, basados en seis índices biométricos. Se analizaron 162 otolitos sagitta de *Micropogonias furnieri* colectados en el estuario del Río de la Plata. La variación de los índices estuvo asociada a los diferentes grupos de longitudes de los peces. La rectangularidad y las relaciones de aspecto [longitud otolito/longitud total del pez (OL/TL) y área sulcus/área otolito (SA/OA)] fueron los índices que más contribuyeron a la función discriminante. Las diferencias entre los índices biométricos estuvieron correlacionadas con los diferentes ambientes ocupados por los peces juveniles. El cambio observado en la relación SA/OA podría deberse a la necesidad de responder a cambios en la percepción del sonido (pulso y frecuencia) experimentados por individuos mayores a 20 cm, que comienzan a frecuentar las mismas áreas que los adultos desovantes. En este sentido, los cambios ontogenéticos en la morfología de los otolitos sagitta juegan un importante rol en la percepción y en la comunicación acústica para esta especie.

BRILL

Animal Biology (2023) DOI 10.1163/15707563-bja10105

Animal Biology
brill.com/ab

Ontogenetic changes in sagitta otoliths of whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* (Acanthuriformes: Sciaenidae) and its implication in acoustic communication

José E. Verocai[1,*], Antoni Lombarte[2] and Walter Norbis[3,4]

[1] Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Montevideo 11400, Montevideo, Uruguay
[2] Institut de Ciències del Mar – Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) – Barcelona, Passeig Marítim de la Barceloneta, 37, 08003 Barcelona, Catalonia, Spain
[3] Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Montevideo 11400, Montevideo, Uruguay
[4] Departamento de Biología, Direccion Nacional de Recursos Acuáticos, MGAP, 11200, Montevideo, Uruguay
*Corresponding author; e-mail: otolito21@gmail.com
ORCID iDs: Verocai: 0000-0001-6240-4797; Lombarte: 0000-0001-5215-4587; Norbis: 0000-0002-7819-3450

Received 22 September 2022; final revision received 28 January 2023; accepted 16 February 2023; published online 29 March 2023

Abstract

The otoliths of teleosts are part of the inner ear. They are related to the balance system and are also mechanical components of sound transmission, responsible for hearing in fish. Their morphology is determined by the function they perform and is also influenced by environmental factors. In this context, our goal was to: analyse the possible morphological changes of sagitta otoliths of *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) during its ontogeny, based on six biometric indexes. We analysed 162 sagittae otoliths of *Micropogonias furnieri* collected in the Rio de la Plata estuary. The variation of the indexes was associated with the different size groups. Rectangularity and aspect ratio [otolith length/total fish length (OL/TL) and sulcus area/otolith area (SA/OA)] were the indexes that contributed the most to the discriminant function. Biometric index differences were related to diverse juvenile environments. The observed shift in the SA/OA relationship could be attributable to a need to respond to a change in the perception of sound (pulse and frequency) experienced by individuals larger than 20 cm that begin to frequent the same areas as spawning adults. In this sense, the ontogenetic morphological change of sagitta otoliths plays an important role in perception and acoustic communication for this species.

Published with license by Koninklijke Brill NV | DOI: 10.1163/15707563-bja10105
© JOSÉ E. VEROCAI ET AL., 2023 | ISSN: 1570-7555 (print) 1570-7563 (online)

Downloaded from Brill.com04/18/2023 06:21:20PM
via free access

Keywords
Biometric indexes; *Micropogonias furnieri*; ontogenetic; otolith; Rio de la Plata estuary; whitemouth croaker

Introduction

The sagitta otoliths of teleost fishes are structures composed of calcium carbonate (aragonite, vaterite), organic matter and trace elements (Simkiss, 1974; Morales-Nin, 1987; Gauldie & Nelson, 1990). They are located inside the skull, in the otic capsule, being part of the inner ear, are mechanical components of sound transmission, and also function as an organ of equilibrium (Fay & Coombs, 1983; Campana & Casselman, 1993; Popper & Platt, 1993). In addition to being genetically established, its morphology is also determined by its function (Gauldie, 1988; Lombarte et al., 2006; Tuset et al., 2008). It is also influenced by intrinsic and extrinsic factors, such as reproduction, feeding, depth, salinity and water temperature (Casselman, 1990; Lombarte & Lleonart, 1993; Lombarte et al., 2003). Owing to its relevance as a sensory organ, the morphology of sagitta otoliths in sciaenids has been described in numerous works. The main reason is that most members of this family are characterized by being specialized in acoustic communication, finding a relationship between the structure of the otolith, the swim bladder and the auditory function (Ramcharitar et al., 2001, 2004, 2006; Cruz & Lombarte, 2004; Ramcharitar & Popper, 2004).

In that context, the study of otolith biometric indexes (shape) variation during fish growth has implications for the function they fulfill throughout development, particularly in long-lived species such as *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) (Norbis & Verocai, 2005) (42 years) which presents the largest otoliths among the Rio the Plata estuary sciaenids (Chao, 1978; Baldás et al., 1997).

Despite the existence of other very suitable methods to analyze otolith shape for species classification (Tuset et al., 2021), we investigate the morphological variation of the sagitta otoliths based on the relationships that exist among different otolith biometric proportions (indexes), with a detailed anatomical description that helps to interpret its ontogenetic variation. These will contribute to knowing the morphometric relationships between fish total length (TL) and otolith (Tuset et al., 2003; Carvalho et al., 2015; Lombarte & Tuset, 2015; Giménez et al., 2016). *Micropogonias furnieri* sagitta morphometry has been described in previous works using some of these biometric indexes (Corrêa & Vianna, 1992; Volpedo & Echeverria, 1999; Waessle et al., 2003; Rossi-Wongtschowski et al., 2014). However, otolith ontogenetic development described by biometric proportions (indexes), (Tuset et al., 2008), has not been employed for the study of this species.

The whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* is a coastal sciaenid (depth < 50 m), benthic and euryhaline species. It is distributed from the Yucatan Peninsula (Mexico), along the east coast of South America to the Gulf of San Matías (Argentina) (41°S) (Isaac, 1988). It is particularly abundant in the Rio de la Plata

estuary and it is the main resource of artisanal and industrial coastal fisheries in southern Brazil, Uruguay and Argentina (Norbis, 1995; Haimovici &d Ignacio, 2005; Norbis et al., 2006). It is a benthic predator that feeds mainly on crustaceans (crabs) and polychaetes (Puig, 1986; Masello et al., 2002; Olsson et al., 2013). Their spawning period spans from October to March (austral summer) and spawning occurs mainly in the frontal region of the Rio de la Plata estuary and the Uruguayan Atlantic coast (Macchi et al., 1996, 2003; Vizziano, 2002). Like many sciaenids, *M. furnieri* also produces sound. Two different types can be identified: advertisement calls during the reproductive season (only by males) and disturbance calls (by both sexes) (Tellechea et al., 2010). Due to its great economic importance, the whitemouth croaker is the most studied fish in the Rio de la Plata; however, there are few works that focus directly on the ontogenetic trajectory of the otolith using biometric indexes.

The goal of this work was knowing whether the whitemouth croaker sagitta otolith changes its shape in correlation with the five length categories of the fish, in addition to knowing if changes can be interpreted as morphological and functional variations of these biometric indexes.

Methods

The otoliths of *M. furnieri* caught in the Rio de la Plata estuary (fig. 1) were obtained in 2018 from samplings of industrial landings carried out by Direccion Nacional de Recursos Acuaticos (DINARA) and artisanal fisheries. The total length (TL) (cm) was recorded for each individual. Based on the distribution of lengths (Waessle

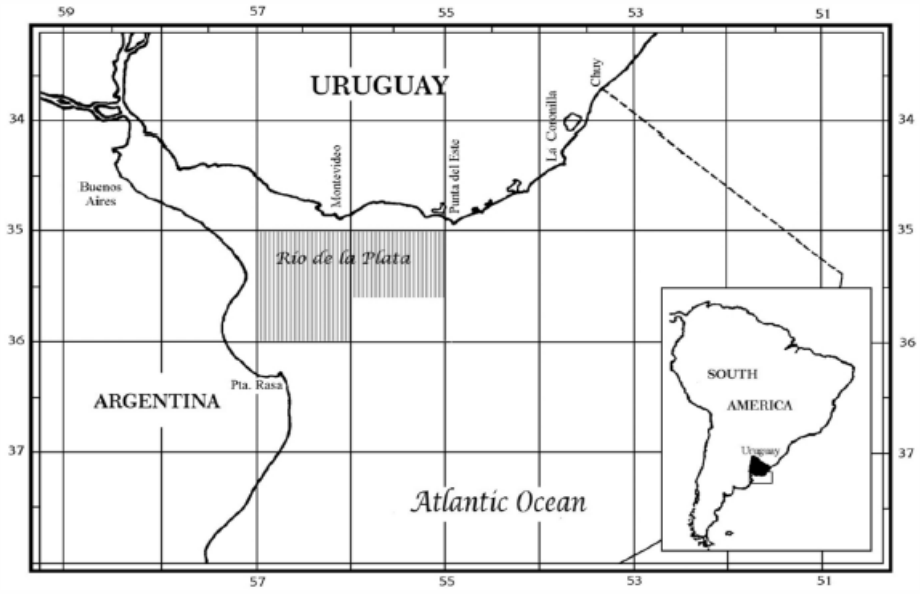


Figure 1. Study area indicating (shaded area) the sampling site in the Rio de la Plata estuary.

et al., 2003; Verocai, unpublished data) five groups (G) were determined (G1, 5.0 to 9.9 cm; G2, 10.0 to 14.9 cm; G3, 15.0 to 19.9 cm; G4, 20.0 to 29.9 cm; and G5, 30.0 cm and greater). Sagitta otoliths were extracted and cleaned with 98% isopropyl alcohol and dry-stored in paper envelopes.

Otolith measurements

The medial surface of the right sagitta otolith was photographed with a digital camera attached to a binocular loupe (Olympus SZ61, Lumenera Infinity 1 camera). All images were analyzed using Image J v.1.50 software. Otoliths were described morphologically, according to the terminology proposed by Tuset et al. (2008). Otolith length (OL) and maximum otolith width (OH) were recorded in centimeters. Perimeter (OP), area of the medial surface of the otolith (OA) and area of the acoustic sulcus (SA) were also measured (fig. 2). Potential equations were used so as to analyze the relationships between TL and OL and between TL and OH. Also, the relationships between SA and TL, SA and OH and SA/OA and TL were analyzed. For these relationships, allometric coefficients were calculated using the log-linear version of the equation $y = aX^b$, and tested for significant deviations from isometry ($b = 1$ for SA vs OA comparisons, and $b = 2$ for OA vs TL and SA vs TL).

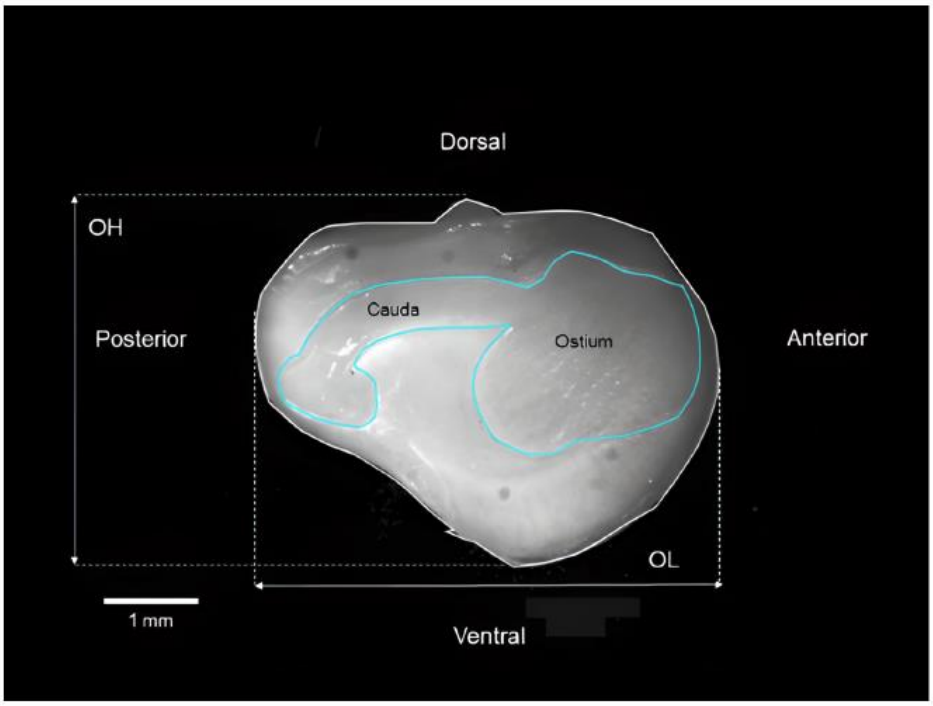


Figure 2. Measuremens made on the inner face of sagitta otoliths of *Micropogonias furnieri*: OH, otolith height; OL, otolith length; sulcus (ostium and cauda).

Downloaded from Brill.com04/18/2023 06:21:20PM

Six biometric indexes were used for each of the five length classes: rectangularity (REC) (describing variations in length and width with respect to area, with values of 1 when it is a perfect square) [OA/(OL × OH)]; circularity (CIR), which provides information on the similarity to a circle, with a value of 1 when it is a perfect circle ($4OA/OP^2$) (Takashimizu & Iiyoshi, 2016); aspect ratio (OH/OL), which indicates to what extent the otolith is circular or elongated (Francus, 1999); (OL/TL); relative surface area of the acoustic groove (SA/OA); and ellipticity (ELE) [(OL − OH)/(OL + OH)] (Tuset et al., 2003, 2008). In this work, an interpretation of the meaning of the indexes in relation to the ontogenetic development of otoliths was made considering anatomical changes and taking into account size categories.

Statistical analysis

In order to determine whether each of the shape indexes presented differences among length groups, the Kruskal-Wallis nonparametric analysis of variance was used (Sokal & Rohlf, 1995). If significant differences were found among groups, the Mann-Whitney test corrected by the Bonferroni criterion was used, so as to determine among which groups there were differences (Sokal & Rohlf, 1995). Canonical Discriminant Analysis (CDA) was used to compare the five length groups according to the six indexes. It was also used to determine which indexes contributed more to group discrimination. The CDA assesses the separation among individuals by stage through canonical and discriminant axes, evaluating the presence of groups in a multivariate space by maximizing the variations among them. Wilk's lambda was used to test the significant differences among groups (Manly & Alberto, 2016). Wilks' lambda is a measure of how well each function separates cases into groups. This statistic varies between 0 and 1; smaller values of Wilks' lambda indicate greater discriminatory ability of the function. This statistic follows an asymptotic Snedecor F distribution with the number of groups and variables in the numerator, and the degrees of freedom of the dispersion matrices in the denominator (Rao, 1952). PERMANOVA (Anderson, 2001) was also used to compare size groups according to the indexes and to test for significant differences among them. Mahalanobis distance was used and $p = 0.05$, in all cases. All statistical analyses were performed using Past software (Version 4.07) (Hammer et al., 2001).

Results

A total of 164 individuals were analyzed (length range: 5.5 to 46.0 cm). A general pattern of sagitta otolith shape was determined. They presented a dorsal areal depression, a rounded anterior region, a concave external face, and a convex internal face. It had no rostrum nor antirostrun. The acoustic sulcus had the following characteristics: position: supramedial; opening: pseudo-ostial; orientation: horizontal; morphology: heterosulcoid, laterally bent and concave ostium, and a tubular and notoriously curved cauda in adults, more than in young fish (fig. 2).

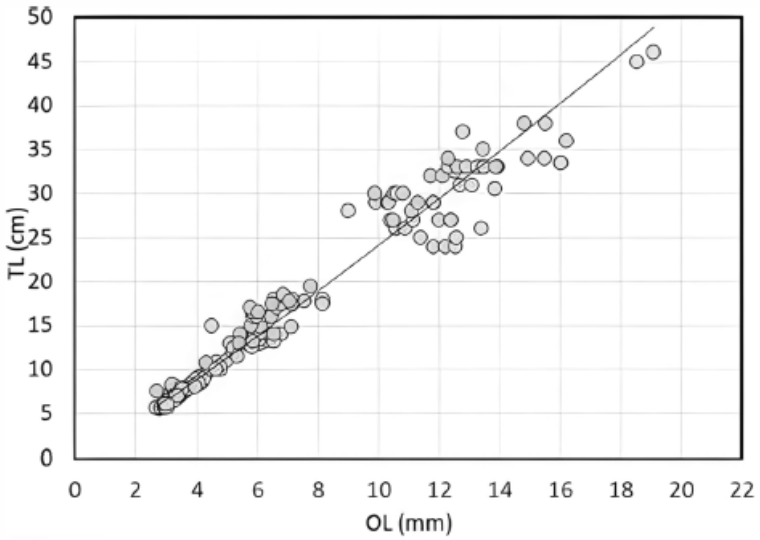


Figure 3. Relationship between otolith length and fish length (potential fit).

The OL vs TL relationship was potentially and significantly different from 1, (positive allometry) ($TL = 1.9804 \times OL^{1.086}$, $S_b = 0.015$, $r = 0.985$, $N = 162$, $tc = 71.83$, $P < 0.00001$) and the OH vs TL was significant but the slope was equal to 1 (isometry) (fig. 3), ($TL = 3.041 \times OH^{0.994}$, $S_b = 0.024$, $r = 0.955$, $N = 162$, $tc = 41.20$, $P < 0.00001$) (fig. 4). The average SA/OA ratio for all individuals was 0.393 (±0.0427). The SA presented a significant relationship with OA ($b = 1.063$, $S_b = 0.0067$, $r = 0.996$, $N = 162$, $tc = 157.61$, $P < 0.00001$) and also presented a positive and significant allometric growth. The relationship between OA and TL was positive and significant ($b = 1.739$, $S_b = 0.026$, $r = 0.982$, $N = 162$,

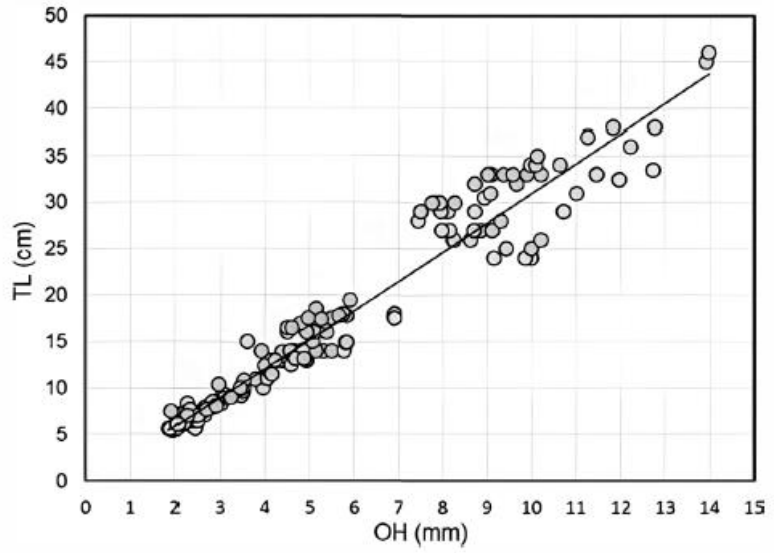


Figure 4. Relationship between otolith heigth and fish length (potential fit).

$tc = 67.02$, $P < 0.00001$) with negative and significant allometry. The relationship between SA and TL was positive and significant ($b = 1.855$, $S_b = 0.027$, $r = 0.983$, $N = 162$, $tc = 67.63$, $P < 0.0001$), with negative and significant allometry. These two variables are associated with $\log_{10}$ TL, showing a positive and significant relationship ($N = 162$, $b = 3.29$, $S_b = 0.331$, $r = 0.618$, $tc = 9.94$ $P < 0.00001$) indicating that size is an important predictor of the relationship between sulcus area and otolith area (SA/OA).

Biometric shape indexes

The Kruskal-Wallis test showed significant differences among length groups (G1 to G5) (table 1). The Mann-Whitney test showed there were significant differences between the different groups. The OL/TL index exhibits significant differences between G1, G2 and the other groups (G3, G4 and G5). The REC and SA/OA indexes showed significant differences between G1 and G2 to G5. In addition, G2 showed significant differences with the G4 and G5 groups, respectively. CIR showed differences between groups G1, G3 and G5 (fig. 5).

The CDA showed significant differences among the analyzed groups (Wilks = 0.306, $F_{24,548} = 9.227$, $P = 1.043$ e$-27 < 0.05$, Pillai trace $P = 0.893$, $F_{24,260} = 7.67$, $P = 6.407$ e$-23 < 0.05$). G1 and G2 present significant differences between them and also with the other groups ($P < 0.0001$), G3, G4 and G5 did not show significant differences among them ($P > 0.005$). This showed that the otolith biometric indexes presented the greatest changes in the early stages of the fish life (up to 15 cm) and little variation after this stage. The percentage of correct classification was 62.28%; when applying cross-validation, 56.29%. The first factor accumulated 76.22% of the explained variance, separated the length groups along the axis and, in turn, showed an order from negative to positive values. The second factor explained 14.19% (together more than 90%).

Table 1.
Kruskal-Wallis test for the six biometric indexes of the sagitta otolith of *Micropogonias furnieri*.

Index	*H*	*P*
CIR	21.28	0.000
REC	69.94	0.000
ELE	40.82	0.000
OH/OL	40.97	0.000
OL/TL	88.74	0.000
SA/OA	59.28	0.000

CIR, circularity; ELE, ellipticity; *H*, Kruskal-Wallis statistic; OH/OL, otolith height/otolith length; OL/TL, otolith length/total fish length; *P*, probability; REC, rectangularity; SA/OA, sulcus area/otolith area.

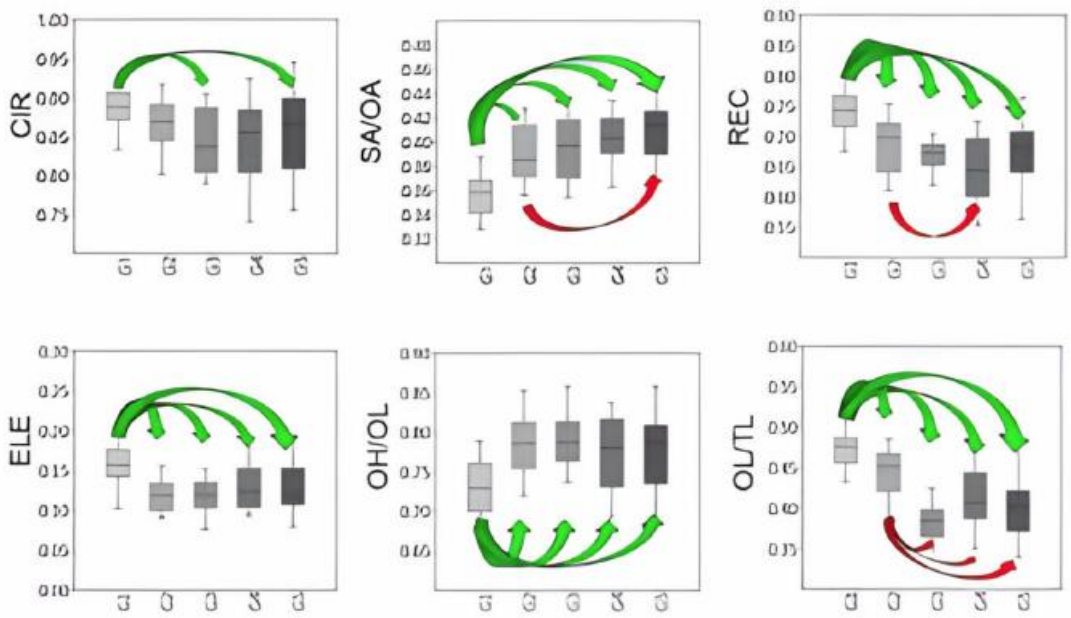


Figure 5. Mann-Whitney test corrected by the Bonferroni criterion for the six indexes separated by length group (G1 to G5): CIR, circularity; ELE, ellipticity; OH/OL, otolith height/otolith length; OL/TL, otolith length/total fish length; REC, rectangularity; SA/OA, sulcus area/otolith area. Arrows (G1, green; G2, red) indicate significant differences between groups (Past version 4.06).

Morphological coefficients (table 2) indicate that the rectangularity (REC), and aspect ratio (OL/TL and SA/OA) indexes contributed most to the discriminant function, characterizing individuals of length groups G1 and G2 (REC and OL/TL, respectively) and individuals of length groups G3, G4 and G5 (SA/OA). The REC index presented an acute angle with CIR, showed significant differences between

Table 2.
Morphometric variables that contributed the most to discriminate the groups with the first two principal factors of the discriminant analysis that explain 90.41% of the variability.

	Factors	
Indexes	F1	F2
CIR	−2.861	0.890
REC	−12.064	−4.201
ELE	6.202	−17.560
OH/OL	5.794	8.240
OL/TL	−11.030	11.838
SA/OA	10.544	1.674

CIR, circularity; ELE, ellipticity; *H*, Kruskal-Wallis statistic; OH/OL, otolith height/otolith length; OL/TL, otolith length/total fish length; *P*, probability; REC, rectangularity; SA/OA, sulcus area/otolith area.

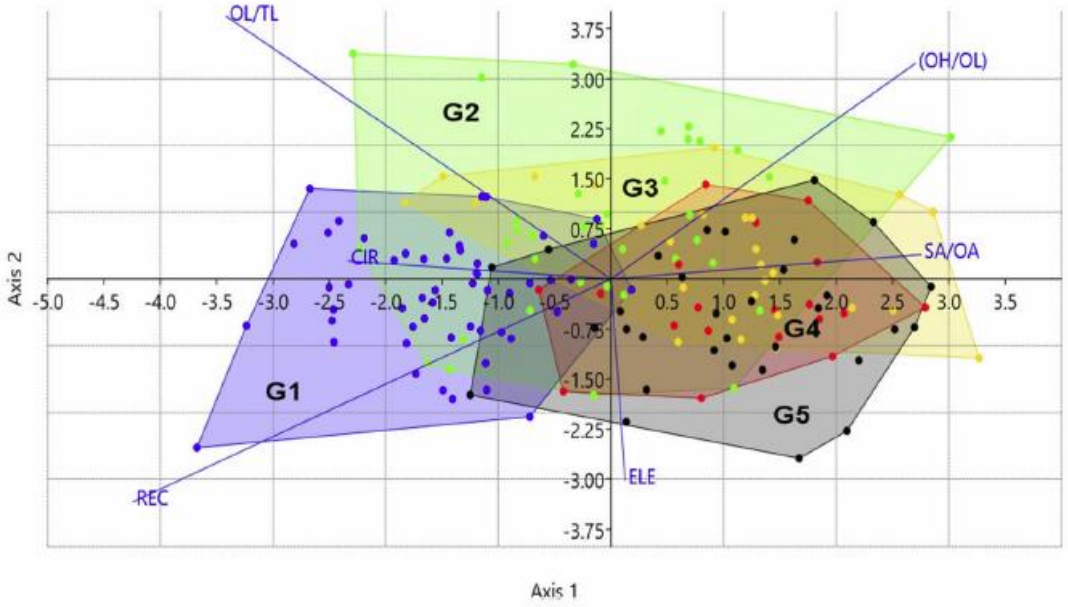


Figure 6. Discriminant analysis of the six indexes used and the five size groups (G1 to G5) considered in this work.

G3 and G5, and contributed to characterize G1 and G2, but to a lesser extent. Otoliths of the G2 group were located along axis 1 as a transition group between the G1 length group and the other groups (G3 to G5). The OL/TL and OH/OL indexes contributed to determine this group. These fish showed rapid otolith length growth, relative to growth in fish length, and a higher (OH/OL) index relative to the four remaining length groups. Length group G3 presented the slowest otolith growth with respect to fish length, being less rectangular and with a higher OH/OL ratio than those in length groups G1 and G2. The G4 and G5 length groups (older than two years) showed more elliptical, less circular and less rectangular otoliths, presenting slower otolith growth in relation to fish length growth and larger sulcus area in relation to the total otolith area (SA/OA, fig. 6). There were significant differences between size groups (PERMANOVA, Permutation N: 9999, $F = 7.086$, $P = 0.0001 < 0.05$) with similar results to those obtained by CDA.

Discussion

This work showed that the biometrical (morphological) changes occurring in the sagitta otolith of *M. furnieri* presented variations associated with different length groups. Otoliths are a permanent record of events occurring in a fish's life history. Furthermore, the way in which otolith growth (thickness and density of deposited material) is related to fish growth is complex, with a dependence between intrinsic otolith characteristics (size, morphology, and growth) and environmental factors (temperature, salinity) (Wilson, 1985, Mosegaard et al., 1988, Lombarte & Lleonart, 1993; Lombarte et al., 2003). These growth patterns in otoliths are

reflected in variables associated with the size of the structure that can be quantified by biometric indexes (Secor et al., 1989; Campana & Casselman, 1993; Lombarte et al., 2003; Tuset et al., 2008).

For many fish species, size (length) prediction can be achieved from otolith length (Giménez et al., 2016). In *M. furnieri*, calcium deposition takes place in the anteroposterior axis in individuals larger than 10 cm (Volpedo & Etcheverría, 1999). This results in an OL vs TL relationship tending to isometry. However, in this study, the relationship that explained more than 98% of TL as a function of OL, was potential and allometric. For individuals smaller than 17 cm, the same relationship was found (Waessle et al., 2003). The potential relationship between OH and TL was isometric; this may be a consequence of material deposition in the transverse axis of the otolith, which takes place from early stages in the sagitta development (Volpedo & Etcheverria, 1999; Wassele et al., 2003). The whitemouth croaker shows rapid growth in the first two years of life (Norbis & Verocai, 2005; Borthagaray et al., 2011) as shown in the G1 and G2 length groups. By means of CDA, the indexes that most contributed to characterize these differences with the G3, G4 and G5 groups were REC and OL/TL. Rectangularity can be explained in terms of the development of accessory planes of growth in the otolith. It is a measure of 'boxiness', i.e., how well the otolith shape fills the area of its smallest enclosing rectangle (Galley et al., 2006). Growth of the primordium (otolith core) occurs at a higher rate along the anteroposterior axis than along the dorsal-ventral axis, (Volpedo & Etcheverría, 1999; Waessle et al., 2003). As a result, the otolith becomes longer with age. This deposition of material results in the inability to retain its initial oblong shape (exhibiting small changes in rectangularity with increasing size). Instead, it develops an irregular elongated shape that progressively fills less of its surrounding rectangle (Galley et al., 2006).

The littoral shallow waters (<6 m) and deeper waters (>6 m) of the Rio de la Plata estuary present different hydrodynamic and physical-chemical patterns, creating different environments (Guerrero et al., 1997; Nagy et al., 2002, 2008). The *M. furnieri* juvenile's preference for littoral waters (individuals < 20 cm), is related to the protection from predators, food availability and environmental conditions (Allega et al., 2020), all of which promote faster growth. This habitat preference varies during its ontogenetic development; larvae are associated with less brackish and more turbid waters (average < 1 psu) (Wells & Daborn, 1998; Braverman et al., 2009; Allega et al., 2020), and they make migratory movements, from breeding areas to deeper waters (Acha et al., 1999; Martinez & Retta, 2002; Vizziano et al., 2002; Jaureguizar et al., 2016). This is probably one of the causes that affect fish growth, producing modifications in their otoliths to adapt to different environmental conditions. High indexes (OL/TL) would be associated with groups that are found in high-turbidity environment, such as the waters of the Rio de la Plata estuary, needing to enhance other sensory systems related to acoustic communication (Gauldie, 1988; Paxton, 2000; Cruz & Lombarte, 2004). The differences found between groups G1 and G2 and the other groups might be related to different

hearing sensitivities. From 12 cm onwards, juvenile *M. furnieri* migrate to deeper and more saline waters (Castello, 1986; Vizziano et al., 2002). Although adults (>32 cm) tolerate a wide range of salinity (0.5-33 psu), the highest concentrations are located in estuarine and marine waters (>25 psu) (Acha el at., 1999; García et al., 2010; Lorenzo et al., 2011). High values of the sphericity index (OH/OL) for all length groups analyzed (G1 to G5) would confirm the hypothesis that individuals with high values of sphericity frequent environments associated with soft substrates (Volpedo & Etcheverría, 2003). G2 fish showed a lower OL/TL ratio than G1 individuals. This indicates a slower growth of the otolith along its anteroposterior axis with respect to the total length of the fish. This variation in the OL/TL ratio may be a consequence of a faster somatic growth so as to access a better food supply and to have a greater possibility of predator escape. The diet composition of *M. furnieri* varies according to the size of the fish. The mouth size increases as the fish increases in length, making them able to access prey with more energetic value (Olsson et al., 2013). Different food items have been linked to morphological differences in teleosts otoliths (Aguirre & Lombarte, 1999). G2 corresponds to individuals that are less than one year old and show great spatial dispersion (Allega et al., 2020) as a consequence of a long reproductive period. This species reproduces from October to March, with two main spawning peaks (Pravia et al., 1995; Macchi et al., 1996; Viziano, 2002). Two groups arrive at the breeding area, with different size and growth characteristics (Norbis & Verocai, 2005), giving rise to the same cohort with a bimodal length distribution (Norbis & Verocai, unpublished data). Fish larger than 20 cm (G4 and G5) presented otoliths with very similar characteristics to each other. They behave as a single group, being more elliptical in shape, together with morphotype I defined by Santos et al. (2017) for individuals that inhabit the Rio de la Plata estuary.

In addition, it was shown that the G4 and G5 groups presented a larger acoustic groove in relation to the total otolith area (SA/OA). The increase in this index could be associated with the development of inner-ear perception and hearing ability. The mechanism of hearing in fish involves a physical interaction between the sagitta otolith and the macula. Therefore, larger fish have more sensory cells than smaller fish (Ramcharitar et al., 2001). The SA/OA ratio indirectly describes how much of the otolith surface area is in contact with the macula (M) through the acoustic sulcus. The ratio of macula area/otolith area (MA/OA) versus auditory threshold indicates that there is a strong relationship between MA/OA and otolith sensitivity at different frequencies. For this reason, fish with a relatively large sulcus may be more sensitive to sounds, with a relationship between the SA/OA ratio and the minimum auditory threshold (Platt & Popper, 1981; Gauldie, 1988). Sciaenids are known for their ability to produce sounds and are also called croakers (Fine et al., 1977, 2004; Myrberg, 1981; Saucier & Baltz, 1993; Ramcharitar et al., 2006). *Micropogonias furnieri* is one of the sciaenid species with the largest otoliths relative to body size (Verocai, unpublished data) and produces two types

of sound (disturbance calls by both sexes; advertisement calls only by males) (Tellechea et al., 2010, 2011). The disturbance calls are produced at sizes from 10 cm, with a pronounced change (pulse duration and dominant frequency) from 20 cm, when the fish are still juveniles (size at first maturity, 32 cm, Norbis & Galli, 2013). From 20 cm onwards, these sound characteristics stabilize (Tellechea et al., 2010). The relationship between SA/OA may contribute to the change in sound perception, related to changes that were found in the G1, G2 and G3 groups. These changes in juvenile fish could contribute to maintaining their functionality as sound transducers (Gauldie, 1988). For the G4 and G5 groups, this change in the surface area of the acoustic groove (increased SA/OA rate) may be due to the need of containing more hair sensory cells. This is in order to respond to a change in sound perception experienced by individuals that, from 20 cm onwards, begin to frequent areas with similar characteristics of salinity and depth as spawning individuals (Macchi & Christiansen, 1996; Macchi et al., 1996; Jaureguizar et al., 2003). During the reproductive period, only adult males of *M. furnieri* produce advertisement calls (Tellechea et al., 2010, 2011). As a result, the ontogenetic changes described by means of otolith biometric indexes, would not only respond to environmental factors related to the development of the fish, but they are also associated with the sound perception of conspecifics, including those that participate in the reproduction (Tellechea et al., 2011).

Acknowledgements

We would like to thank the DINARA (Direccion Nacional de Recursos Acuáticos) and artisanal fishermen of Pajas Blancas who provide the otolith samples for this investigation. Also, thanks to Diego Norbis for improving the English text of the manuscript. Walter Norbis is supported by the ANII-SIN (Agencia Nacional de Investigaicon e Innovacion, Sistema Nacional de Investigadores). José Verocai and Walter Norbis also wish to thank the PEDECIBA-Biologia (Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas-Uruguay) for the funding provided. The datasets generated and analysed during the current study are available from the Department of Oceanography and Marine Ecology, Faculty of Sciences, University of the Republic, Montevideo, Uruguay.

References

Acha, E.M., Mianzán, H., Lasta, C.A. & Guerrero, R.A. (1999) Estuarine spawning of the whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* (Pisces: Scienidae), in the Río de la Plata, Argentina. *Mar. Freshw. Res.*, 50, 57-65. DOI:10.1071/MF98045.

Aguirre, H. & Lombarte, A. (1999) Ecomorphological comparisons of sagittae in *Mullus barbatus* and *M. surmuletus*. *J. Fish Biol.*, 55, 105-114. DOI:10.1006/jfbi.1999.0974.

Allega, L., Braverman, M., Campodónico, S., Carozza, C.R., Cepeda, G.D., Colonello, J.H., Derisio, C., Di Mauro, R., Firpo, C.A., Gaitán, E.N., et al. (2020) Estado del conocimiento biológico

pesquero de los principales recursos vivos y su ambiente; con relación a la exploración hidrocarburífera en la Zona Económica Exclusiva argentina y adyacencias. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), Mar del Plata, Argentina.

Anderson, M.J. (2001) A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Aust. Ecol.*, 26, 32-46. DOI:10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x.

Baldás, M.I., Pérez Macri, G., Volpedo, A.V. & Echeverria, D.D. (1997) Morfología de la sagitta de peces marinos de la costa bonaerense de la Argentina. I. *Carangidae*, *Sciaenidae*, *Mullidae*. *Atlantica*, Rio Grande, 19, 99-112.

Borthagaray, A.I., Verocai, J. & Norbis, W. (2011) Age validation and growth of *Micropogonias furnieri* (Pisces – Sciaenidae) in a temporally open coastal lagoon (South-western Atlantic – Rocha – Uruguay) based on otolith analysis. *J. Appl. Ichthyol.*, 27, 1212-1217. DOI:10.1111/j.1439-0426.2011.01778.x.

Braverman, M.S., Acha, E.M., Gagliardini, D.A. & Rivarossa, M. (2009) Distribution of whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*, Desmarest 1823) larvae in the Río de la Plata estuarine front. *Est. Coast. Shelf Sci.*, 82, 557-565. DOI:10.1016/j.ecss.2009.02.018.

Campana, S.E. & Casselman, J.M. (1993) Stock discrimination using otolith shape analysis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 50, 1062-1083. DOI:10.1139/f93-123.

Carvalho, B.M., Vaz-dos-Santos, A.M., Spach, H.L. & Volpedo, A.V. (2015) Ontogenetic development of the sagitta otolith of the anchovy, *Anchoa tricolor*, in a subtropical estuary. *Sci. Mar.*, 79, 409-418. DOI:10.3989/scimar.04218.31A.

Casselman, J.M. (1990) Growth and relative size of calcified structures of fish. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 119, 673-688. DOI:10.1577/1548-8659(1990)119<0673:GARSOC>2.3.CO;2.

Castello, J.P. (1986) Distribución, crecimiento y maduración sexual de la corvina juvenil (*Micropogonias furnieri*) en el estuario de la "Lagoa dos Patos", Brasil. *Physis*, 44, 21-36.

Chao, L.N. (1978) A basis for classifying Western Atlantic Sciaenidae (Teleostei: Perciformes). *NOAA Tech. Rep. Circul.*, 415, 1-65.

Corrêa, M.F.M. & Vianna, M.S. (1992) Catálogo de otólitos de Scianidae (Osteichthyes-Perciformes) do litoral do estado do Paraná, Brasil. *Neritica*, 7, 13-41. DOI:10.5380/rn.v7i1-2.85034.

Cruz, A. & Lombarte, A. (2004) Otolith size and its relationship with colour patterns and sound production. *J. Fish. Biol.*, 65, 1512-1525. DOI:10.1111/j.1095-8649.2004.00558.

Desmarest, A.-G. (1823) Première décade ichthyologique ou description complète de dix espèces de poissons nouvelles, ou imparfaitement connues, habitant la mer qui baigne les côtes de l'ile de Cuba. *Mer. Soc. Linn. Paris*, 2, 1-50.

Fay, R.F. & Coombs, S. (1983) Neural mechanisms in sound detection and temporal summation. *Hear. Res.*, 10, 69-92. DOI:10.1016/0378-5955(83)90018-7.

Fine, M.L., Winn, H.E. & Olla, B. (1977) Communication in fishes. In: T. Sebeok (Ed.) *How Animals Communicate*, pp. 472-518. Indiana University Press, Bloomington, IN, USA.

Fine, M.L., Schrinel, J. & Cameron, T.M. (2004) The effect of loading on disturbance sounds of the Atlantic croaker *Micropogonius undulatus*: air versus water. *J. Acoust. Soc. Am.*, 116, 1271-1275. DOI:10.1121/1.1736271.

Francus, P. (1999) Using image analysis to estimate quantitatively some microstructural parameters of detrital sediments. *Geol. Belg.*, 2, 173-180. DOI:10.20341/gb.2014.016.

Galley, E.A., Wright, P.J. & Gibb, F.M. (2006) Combined methods of otolith shape analysis improve identification of spawning areas of Atlantic cod. *ICES J. Mar. Sci.*, 63, 1710-1717.

García, M.L., Jaureguizar, A.J. & Protogino, L.C. (2010) From fresh water to the slope: fish community ecology in the Río de la Plata and the sea beyond. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 38, 81-94. DOI:10.3856/vol38-issue1-fulltext-8.

Gauldie, R.W. (1988) Function, form and time-keeping properties of fish otoliths. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 91, 395-402. DOI:10.1016/0300-9629(88)90436-7.

Gauldie, R.W. & Nelson, D.G.A. (1990) Otolith growth in fishes. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 97, 119-135. DOI:10.1016/0300-9629(90)90159-P.

Giménez, J., Manjabacas, A., Tuset, V.M. & Lombarte, A. (2016) Relationships between otolith and fish size from Mediterranean and north-eastern Atlantic species to be used in predator-prey studies. *J. Fish Biol.*, 89, 2195-2202. DOI:10.1111/jfb.13115.

Guerrero, R.A., Acha, E.M., Framiñan, M.B. & Lasta, C.A. (1997) Physical oceanography of the Río de la Plata Estuary, Argentina. *Cont. Shelf. Res.*, 17, 727-742. DOI:10.1016/S0278-4343(96)00061-1.

Haimovici, M. & Ignacio, J.M. (2005) *Micropogonias furnieri*, (Desmarest, 1823). In: M.C. Cergole, A.O. Ávila-da-Silva & C.L.D.B. Rossi-Wongtchowski (Eds) *Análise das principais pescarias comerciais da Região Sudeste-Sul do Brasil: dinâmica populacional das espécies em explotaçao*, pp. 101-107. Instituto Oceanográfico, Sao Paulo, Brazil.

Hammer, Ø., Harper, D.A.T. & Ryan, P.D. (2001) PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontol. Electronica*, 4, 9.

Isaac, V.J. (1988) Synopsis of biological data on the whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823). *FAO Fish. Synopt.*, 150, 35 pp.

Jaureguizar, A.J., Menni, R., Bremec, C., Mianzan, H. & Lasta, C. (2003) Fish assemblage and environmental patterns in the Río de la Plata estuary. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 56, 921-933. DOI:10.1016/S0272-7714(02)00288-3.

Jaureguizar, A.J., Solari, A., Cortés, F., Milessi, A.C., Militelli, M.I., Camiolo, M.D., Luz Clara, M. & García, M. (2016) Fish diversity in the Río de la Plata and adjacent waters: an overview of environmental influences on its spatial and temporal structure. *J. Fish. Biol.*, 89, 569-600. DOI:10.1111/jfb.12975.

Lombarte, A. & Lleonart, J. (1993) Otolith size changes related with body growth, habitat depth and temperature. *Environ. Biol. Fishes*, 37, 297-306. DOI:10.1007/BF00004637.

Lombarte, A. & Tuset, V. (2015) Morfometria de otólitos. In: A.V. Volpedo & A.M. Vaz-Dos-Santos (Eds) *Métodos de estudo com otólitos: princípios e aplicações*, pp. 269-302. CAFP-BA-PIESCI, Buenos Aires, Argentina.

Lombarte, A., Torres, G.J. & Morales-Nin, B. (2003) Specific *Merluccius* otolith growth patterns related to phylogenetics and environmental factors. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, 83, 277-281. DOI:10.1017/S0025315403007070h.

Lombarte, A., Chic, Ó., Parisi-Baradad, V., Olivella, R., Piera, J. & García-Ladona, E. (2006) A web-based environment from shape analysis of fish otoliths. The AFORO database. *Sci. Mar.*, 70, 147-152. DOI:10.3989/scimar.2006.70n1147.

Lorenzo, M.I., Díaz de Astarloa, J.M., Norbis, W. & Cousseau, M.B. (2011) Long term fish assemblages as units of management in a temperate estuary (Rio de la Plata – SW Atlantic Ocean). *Braz. J. Oceanogr.*, 59, 43-59.

Macchi, G.J. & Christiansen, H.E. (1996) Análisis temporal del proceso de maduracion y determinación de la incidencia de atresias en la corvina rubia (*Micropogonias furnieri*). *Frente Mar.*, 11, 73-83.

Macchi, G.J., Acha, M.E. & Lasta, C.A. (1996) Desove y fecundidad de la corvina rubia *Micropogonias furnieri* Desmarest, 1823 del estuario del Río de la Plata, Argentina. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 12, 99-113.

Macchi, G.J., Acha, E.M. & Militelli, M.I. (2003) Seasonal egg production of whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) in the Río de la Plata estuary, Argentina-Uruguay. *Fish. Bull.*, 101, 332-342.

Manly, B.F.J. & Alberto, J.A.N. (2016) *Multivariate Statistical Methods: a Primer*. 4th Edition. Chapman and Hall/CRC, New York, NY, USA. DOI:10.1201/9781315382135.

Martinez, G. & Retta, S. (2002) Characterization of croaker (*Micropogonias furnieri*) breeding areas along the Uruguayan coastal zone. In: D. Vizziano, P. Puig, C. Mesones & G. Nagy (Eds) *The Río de la Plata Research to Manage the Environment, Fish Resources and the Fishery in the Saline Front*, pp. 139-147. Ecoplata Program, Montevideo, Uruguay.

Massello, A., Scarabino, F., Gamarra, M. & Menafra, R. (2002) Study of feeding habits and stomach contents of *Micropogonias furnieri*. In: D. Vizziano, P. Puig, C. Mesones & G. Nagy (Eds) *The Río de la Plata Research to Manage the Environment, Fish Resources and the Fishery in the Saline Front*, pp. 147-161. Ecoplata Program, Montevideo, Uruguay.

Morales-Nin, B. (1987) The influence of environmental factors on microstructure of otoliths of three demersal fish species caught off Namibia. *S. Afr. J. Mar. Sci.*, 1, 255-262. DOI:10.2989/025776187784522207.

Mosegaard, H., Svedäng, H. & Taberman, K. (1988) Uncoupling of somatic and otolith growth rates in Arctic char (*Salvelinus alpinus*) as an effect of differences in temperature response. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 45, 1514-1524. DOI:10.1139/f88-180.

Myrberg, A.A. (1981) Sound communication and interception in fishes. In: W.N. Tavolga, A.N. Popper & R.R. Fay (Eds) *Hearing and Sound Communication in Fishes*, pp. 395-428. Springer-Verlag, New York, NY, USA. DOI:10.1007/978-1-4615-7186-5_20.

Nagy, G.J., Pshennikov-Severova, V. & Robatto, P. (2002) Monthly variability of salinity in the frontal zone of the Río de la Plata off Montevideo, in response to consecutive ENSO fluctuations and the flow of the Uruguay River (1998-2000). In: D. Vizziano, P. Puig, C. Mesones & G.J. Nagy (Eds) *The Río de la Plata: research to manage the environment, fish resources and the fishery in the saline front*, pp. 21-30. EcoPlata Program, Montevideo, Uruguay.

Nagy, G.J., Severov, D.N., Pshennikov, V.A., De los Santos, M., Lagomarsino, J.J., Sans, K. & Morozov, E.G. (2008) Río de la Plata estuarine system: relationship between river flow and frontal variability. *Adv. Space Res.*, 41, 1876-1881. DOI:10.1016/j.asr.2007.11.027.

Norbis, W. (1995) Influence of wind, behaviour and characteristics of the croacker (*Micropogonias furnieri*) artisanal fishery in the Rio de la Plata (Uruguay). *Fish. Res.*, 22, 43-58. DOI:10.1016/0165-7836(94)00310-S.

Norbis, W. & Galli, O. (2013) Spatial co-occurrence of two Sciaenid species (*Micropogonias furnieri* and *Cynocion guatucupa*) subject to fishing in the Río de la Plata and oceanic coast of Uruguay: ecological or technological interdependence? *Bol. Inst. Pesca*, 39, 137-148.

Norbis, W. & Verocai, J. (2005) Presence of two whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*, Pisces: Sciaenidae) groups in the Río de la Plata spawning coastal area as consequence of reproductive migration. *Fish. Res.*, 74, 134-141. DOI:10.1016/j.fishres.2005.03.005.

Norbis, W., Paesh, L. & Galli, O. (2006) Los recursos pesqueros de la costa de Uruguay: ambiente, biología y gestión. In: R. Menafra, L. Rodríguez-Gallego, F. Scarabino & D. Conde (Eds) *Bases para la conservación y el manejo de la costa Uruguaya*, pp. 197-209. Vida Silvestre Uruguay, Montevideo, Uruguay.

Olsson, D., Forni, F., Saona, G., Verocai, J. & Norbis, W. (2013) Temporal feeding habits of the whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* in a shallow coastal lagoon (southwestern Atlantic Ocean, Uruguay). *Cienc. Mar.*, 39, 265-276. DOI:10.7773/cm.v39i3.2181.

Paxton, J.R. (2000) Fish otoliths: do sizes correlate with taxonomic group, habitat and/or luminescence? *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 355, 1299-1303. DOI:10.1098/rstb.2000.0688.

Platt, C. & Popper, A.N. (1981) Fine structure and function of the ear. In: W.N. Tavolga, A.N. Popper & R.R. Fay (Eds) *Hearing and Sound Communication in Fishes*, pp. 3-38. Springer Verlag, New York, NY, USA. DOI:10.1007/978-1-4615-7186-5_1.

Popper, A.N. & Platt, C. (1993) Inner ear and lateral line. In: D. Evans (Ed.) *The Physiology of Fishes*, pp. 99-136. CRC Press, Boca Ratón, FL, USA.

Pravia, M.A., García, C., Ares, L. & Berois, N. (1995) Estimación de la fecundidad y determinación del tipo de desova de la corvina blanca *Micropogonias furnieri* (Teleostei: Sciaenidae). *Rev. Bras. Biol.*, 55, 13-25.

Puig, P. (1986) Análisis de contenidos estomacales de corvina blanca (*Micropogon opercularis*) (Sciaenidae, Perciformes). Verano 1984. *Com. Téc. Mix. Fr. Mar.*, 1, 333-340.

Ramcharitar, J. & Popper, A.N. (2004) Masked auditory thresholds in sciaenid fishes: a comparative study. *J. Acoust. Soc. Am.*, 116, 1687-1691. DOI:10.1121/1.1771614.

Ramcharitar, J., Higgs, D.M. & Popper, A.N. (2001) Sciaenid inner ears: a study in diversity. *Brain Behav. Evol.*, 58, 152-162. DOI:10.1159/000047269.

Ramcharitar, J., Deng, X., Ketten, D. & Popper, A.N. (2004) Form and function in the unique inner ear of a teleost: the silver perch (*Bairdiella chrysoura*). *J. Comp. Neurol.*, 475, 531-539. DOI:10.1002/cne.20192.

Ramcharitar, J., Higgs, D.M. & Popper, A.N. (2006) Audition in sciaenid fishes with different swim bladder-inner ear configurations. *J. Acoust. Soc. Am.*, 119, 439-443. DOI:10.1121/1.2139068.

Rao, C.R. (1952) *Advanced Statistical Methods in Biometric Research*. Wiley and Sons, Inc., New York, NY, USA.

Rossi-Wongtschowski, C.L.D.B., Siliprandi, C.C., Brenha, M.R., Gonsales, S.D.A., Santificetur, C. & Vaz-dos-Santos, A.M. (2014) Atlas of marine bony fish otoliths (sagittae) of Southeastern-Southern Brazil Part I: Gadiformes (Macrouridae, Moridae, Bregmacerotidae, Phycidae and Merlucciidae); Part II: Perciformes (Carangidae, Sciaenidae, Scombridae and Serranidae). *Braz. J. Oceanogr.*, 62, 1-103.

Santos, R.S., Costa, M.C., Queiroz, C. & Gerson, F. (2017) Different sagitta otolith morphotypes for the whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* in the Southwestern Atlantic coast. *Fish. Res.*, 195, 222-229. DOI:10.1016/j.fishres.2017.07.027.

Saucier, M.H. & Baltz, D.M. (1993) Spawning site selection by spotted seatrout, *Cynoscion nebulosus*, and black drum, *Pogonias cromis*, in Louisiana. *Environ. Biol. Fish.*, 36, 257-272. DOI:10.1007/BF00001722.

Secor, D.H., Dean, J.M. & Baldevarona, R.B. (1989) Comparison of otolith growth and somatic growth in larval and juvenile fishes based on otolith length/fish length relationships. *Rapp. P-V Réun. Cons. Int. Explor. Mer.*, 191, 431-438.

Simkiss, K. (1974) Calcium metabolism of fish in relation to ageing. In: T.B. Bagenal (Ed.) *Ageing of Fish*, pp. 1-12. Unwin Brothers, Surrey, UK.

Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. (1995) *Biometry: the Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. 3rd Edition. WH Freeman and Company, New York, NY, USA.

Takashimizu, Y. & Iiyoshi, M. (2016) New parameter of roundness *R*: circularity corrected by aspect ratio. *Prog. Earth Plan. Sci.*, 3, 2. DOI:10.1186/s40645-015-0078-x.

Tellechea, J.S., Martinez, C., Fine, M.L. & Norbis, W. (2010) Sound production in whitemouth croaker and relationship between fish size and disturbance call characteristics. *Environ. Biol. Fish.*, 89, 163-172. DOI:10.1007/s10641-010-9709-7.

Tellechea, J.S., Bouvier, D. & Norbis, W. (2011) Spawning sounds in whitemouth croaker (Sciaenidae): seasonal and daily cycles. *Bioacoustics*, 20, 159-168. DOI:10.1080/09524622.2011.9753641.

Tuset, V.M., Lozano, I.J., González, J.A., Pertusa, J.F. & García-Díaz, M.M. (2003) Shape indices to identify regional differences in otolith morphology of comber, *Serranus cabrilla* (L.,1758). *J. Appl. Ichthyol.*, 19, 88-93. DOI:10.1046/j.1439-0426.2003.00344.x.

Tuset, V.M., Lombarte, A. & Assis, C.A. (2008) Otolith atlas for the western Mediterranean, north and central eastern Atlantic. *Sci. Mar.*, 72S1, 7-198. DOI:10.3989/scimar.2008.72s17.

Tuset, V.M., Otero-Ferrer, J.L., Siliprandi, C., Manjabacas, A., Marti-Puig, P. & Lombarte, A. (2021) Paradox of otolith shape indices: routine but overestimated use. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 78, 681-692. DOI:10.1139/cjfas-2020-0369.

Vignon, M. (2012) Ontogenetic trajectories of otolith shape during shift in habitat use: interaction between otolith growth and environment. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 420, 26-32. DOI:10.1016/j.jembe.2012.03.021.

Vignon, M. (2015) Disentangling and quantifying sources of otolith shape variation across multiple scales using a new hierarchical partitioning approach. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 534, 163-177. DOI:10.3354/meps11376.

Vignon, M. & Morat, F. (2010) Environmental and genetic determinant of otolith shape revealed by a non-indigenous tropical fish. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 411, 231-241. DOI:10.3354/meps08651.

Vizziano, D. (2002) Reproductive cycle of the white croaker *Micropogonias furnieri* in the frontal zone of the Río de la Plata. In: D. Vizziano, P. Puig, C. Mesones & G.J. Nagy (Eds) *The Río de la Plata research to manage the environment, fish resources and fishery in the saline front*, pp. 103-111. EcoPlata Program, Montevideo, Uruguay.

Vizziano, D., Saona, G., Franco, J. & Nagy, G.J. (2002) Environmental characterization of the spawning area of the white croaker, *Micropogonias furnieri*, in the frontal zone of the Río de la Plata. In: D. Vizziano, P. Puig, C. Mesones & G.J. Nagy (Eds) *The Río de la Plata: research to manage the environment, fish resources and the fishery in the saline front*, pp. 113-124. EcoPlata Program, Montevideo, Uruguay.

Volpedo, A. & Echeverría, D.D. (2003) Ecomorphological patterns of the sagitta in fish on the continental shelf off Argentine. *Fish. Res.*, 60, 551-560. DOI:10.1016/S0165-7836(02)00170-4.

Volpedo, A.V. & Echeverría, D.D. (1999) Diferencias morfológicas en las sagittae de adultos de *Micropogonias furnieri* (Sciaenidae) de la costa bonaerense. *Thalassas*, 15, 19-24.

Waessle, J.A., Lasta, C.A. & Favero, M. (2003) Otolith morphology and body size relationships for juvenile Sciaenidae in the Río de la Plata estuary (35-36°S). *Sci. Mar.*, 67, 233-240. DOI:10.3989/scimar.2003.67n2233.

Wells, P.G. & Daborn, G.R. (1998) *Rio de la Plata. An environmental overview; an EcoPlata Project background report*. Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia, Canada.

Wilson, R.R. (1985) Depth-related changes in sagitta morphology in six macrourid fishes of the Pacific and Atlantic Oceans. *Copeia*, 1985, 1011-1017. DOI:10.2307/1445256.

CAPITULO II. Análisis biométrico de los otolitos *sagitta* de siete especies de la familia Sciaenidae en la costa Uruguaya.

Introducción

El tamaño y la forma de los otolitos es considerado especie-específico, y sus patrones filogenéticos pueden reflejarse en su morfología (Gaemers, 1984; Nolf, 1985; Nolf y Sterbaut, 1989). Factores ambientales tales como la profundidad, tipo de sustrato (Aguirre y Lombarte, 1999; Lombarte y Fortuño, 1992; Gauldie y Crampton, 2002; Paxton, 2000; Torres et al., 2000; Volpedo y Echeverria, 2003), la temperatura del agua y la dieta (Simkiss, 1974; Wilson, 1985; Morales-Nin, 1987; Mosegaard et al., 1988; Secor y Dean, 1989; Lombarte et al., 2003; Cardinale et al., 2004) podrían influenciar el tamaño y la forma. Muchos autores han sugerido que la forma del otolito está genéticamente restringida, pero también que los aspectos ambientales podrían generar pequeñas diferencias morfológicas (Lombarte y Lleonart, 1993; Lombarte et al., 2003; Cardinale et al., 2004; Vignon y Morat, 2010; Vignon, 2015).

Una de las principales características morfológicas de los Sciaenidae es que tienen otolitos *sagitta* muy grandes en relación al tamaño del pez (Cruz y Lombarte, 2004). Este tamaño está asociado a la importancia en la comunicación acústica de este grupo, tal como indican las diferencias interespecíficas en la emisión de sonido (Luczkovich et al., 1999; Parenti, 2020). Sin embargo, a pesar de su importancia económica y ecológica, estas especies están poco estudiadas y apenas existe información comparativa acerca del significado ecológico de la forma – función de sus otolitos *sagitta*, y cómo los parámetros ambientales condicionan su morfología. En la región existen algunos estudios realizados en la corvina blanca (*M. furnieri*) y en la burriqueta (*M. martinicensis*) (Volpedo y Etcheverria, 2003; Carvalho et al., 2020; Avigliano et al., 2021) pero de las siete especies seleccionadas, no existen antecedentes de estudios comparativos publicados para las costas Uruguayas del Río de la Plata y Océano Atlántico.

Objetivo general

Estudiar comparativamente los otolitos de siete especies de Sciaenidae que habitan las aguas oceánicas y estuarinas de Uruguay en relación a las características de su forma.

Objetivos específicos

Caracterizar morfológicamente los *sagitta* de las siete especies de Sciaenidae seleccionadas.

Analizar cuáles son los índices de forma que más contribuyen a caracterizar las diferencias encontradas (o no) entre los otolitos de las especies analizadas e inferir cuales son los posibles factores endógenos y exógenos podrían influir en su morfología

Materiales y métodos

En el marco del convenio entre la Facultad de Ciencias y la DINARA se utilizaron muestras de peces que fueron colectadas en las campañas de investigación realizadas por el B/I Aldebarán (DINARA), así como las muestras provenientes de la flota artesanal y de los muestreos mensuales de desembarque realizados por DINARA. Con el objetivo de completar el número de ejemplares y abarcar un amplio rango de tallas, se realizaron también colectas de las capturas de la pesca artesanal en los Balnearios Pajas Blancas, Piriápolis, José Ignacio y La Paloma. La flota artesanal operó con redes de enmalle y con palangres en cada uno de los sitios de pesca mencionados (ver figura 2 en Capítulo I) (Norbis, 1995; Santana y Fabiano, 1999; Norbis y Verocai, 2002; Saona et al., 2003). De cada individuo se registró la longitud total y se extrajeron los otolitos *sagitta*. La tabla 1 indica el número de individuos colectados y efectivamente procesados, discriminados por especie.

Tabla 1. Especie, origen de la muestra, número de individuos colectados (NC) y otolitos efectivamente procesados (OP).

Especie	Origen de la muestra	NC	OP
M. furnieri	Aldebarán (DINARA), Solymar, Arroyo Solis Grande, Desembarques comerciales	167	162
P. courbina	Aldebarán (DINARA), Shangrila, Río de la Plata, Arroyo Solís Grande, Montevideo, Canelones,	77	76
P. brasiliensis	Aldebarán (DINARA), Desembarques comerciales, Arroyo Solís Grande, Punta carretas,	58	57
M. atricauda	Aldebarán (DINARA), Solymar, Desembarques comerciales,	262	262
M. martinicensis	Aldebarán (DINARA), Montevideo, Punta Carretas, Puerto de Piriápolis	217	216
C. guatucupa	Aldebarán (DINARA), Cursos Oceanografía, Desembarques comerciales	242	240
U. canosai	Aldebarán (DINARA), Cursos oceanografía, Puerto de Piriápolis,	202	202

La superficie medial del otolito derecho fue fotografiada con una cámara digital adosada a una lupa (OLYMPUS SZ61, Lumenera Infinity 1 camera) utilizando el software Infinity Capture. Todas las imágenes fueron analizadas usando el programa Image J v.1.50.

Los otolitos fueron descritos morfológicamente de acuerdo a la terminología propuesta por Tuset et al. (2008) y Rossi et al. (2014). Se registraron la longitud, el ancho máximo del otolito en centímetros (OL) y (OH) respectivamente (Fig. 1). Se determinó el peso del otolito (en gramos) y se calculó el Indice de masa (Peso otolito/Largo otolito^2).

Fueron utilizados seis índices de forma: (Tuset et al., 2003, 2008; Volpedo y Echeverría, 2003; Volpedo y Vaz-dos-Santos, 2015).

1) Rectangularidad (REC): describe las variaciones de largo y ancho con respecto al área, siendo 1 cuadrado perfecto (OA/[OL × OH]) (OA = área otolito)

2) Circularidad (CIR): brinda información de la similitud con un circulo, siendo 1 un circulo perfecto (4¶xOA/OP2) (OA = área otolito) (Takashimizu y Liyoshi, 2016).

3) Relación de aspecto (OH/OL): indica en qué medida el otolito es circular o alargado (Francus, 1999).

4) Relación de aspecto (OL/LT): relación entre la longitud total del otolito (OL) versus la longitud total del pez (LT).

5) Relación de aspecto (AS/AO): (área *sulcus*/ área otolito) superficie relativa del *sulcus*.

6) Elipcidad (ELI): describe la similitud a una elipse (OL-OH/OL+OH)

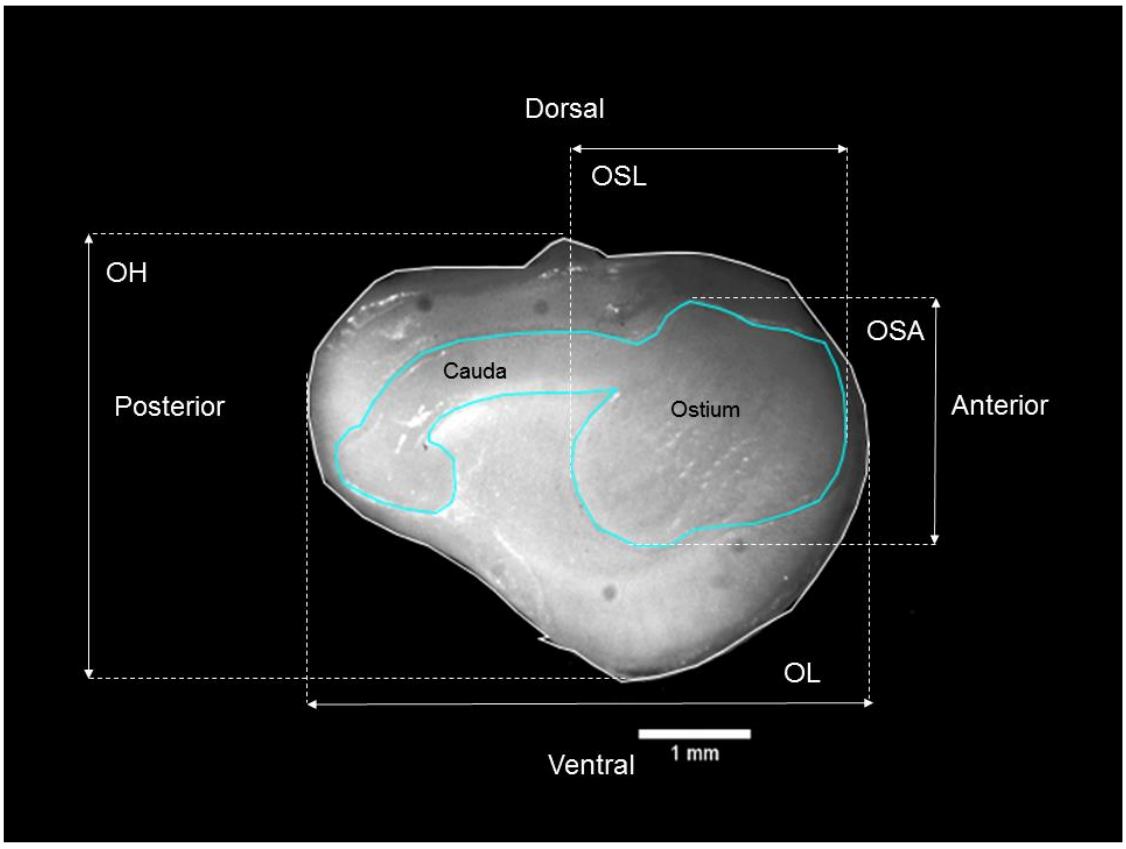


Figura 1. Cara interna de un otolito *sagitta* tipo, indicando las zonas en las que se realizaron las medidas para calcular los índices de forma (OL = Longitud otolito; OH = Ancho otolito; OSL = longitud *sulcus*; OSA = ancho *sulcus*).

Se usaron ecuaciones potenciales, previamente logaritmizadas, para analizar las relaciones entre la longitud total del otolito (OL) y la longitud total del pez (LT), y el ancho total del otolito (OH) y LT, mediante el ajuste de modelos de regresión funcional (Warton et al., 2006) y se verificó la hipótesis de isometría (b = 1; b = coeficiente angular o pendiente de la recta) para estas relaciones, mediante el test de Student (Sokal y Rohlf, 1995).

Para eliminar el componente de la longitud y su efecto alometrico, las medidas morfométricas fueron estandarizadas a un tamaño del cuerpo estándar de acuerdo a la metodología propuesta por Lleonart et al., (2000). La ecuación usada fue:

$$Y = a X^{b}$$

ajustada utilizando la transformación logarítmica para homogeneizar los residuos. Cada medida Yij, fue transformada donde i es la variable, y j es el individuo a Zij de acuerdo a

$$Zij = Yij (Xo/Xj)^{bi}$$

donde Xj es la longitud del cuerpo del pez j por especie

Xo es la longitud de referencia del pez por especie (en este caso es el promedio de longitud por especie)

Y bi es el parámetro alometrico que relaciona la variable dependiente Yi con la variable independiente X

Zij es el valor que debería medir Yij si la longitud del pez fuera Xo, considerando su crecimiento alometrico.

El crecimiento del otolito *sagitta* y del *sulcus* fue analizado en relación al crecimiento de los peces en longitud utilizando ecuaciones de regresión (Zar, 2010). También fueron evaluadas

las relaciones entre el área del *sulcus* (AS) y la longitud total del pez (LT), área del otolito (AO) y longitud total del pez (LT), y la tasa (AS/AO) versus LT. Los coeficientes alométricos para dichas relaciones se basaron en la función alometrica (Huxley, 1950) $y = a\, x^{b}$,

donde:

x= variable independiente

y= variable dependiente o a predecir.

a= constante.

b= constante de crecimiento alometrico.

Para utilizar esta ecuación, se transformó logarítmicamente:

$\text{Log}_{10}\, y = \text{Log}_{10}\, a + b\, \text{Log}_{10}\, x$

Para las relaciones longitud vs longitud o área vs área, b > 1 indica crecimiento alometrico positivo, b= 1 crecimiento isométrico y b<1 crecimiento alometrico negativo (da Silva-Castiglioni y Negreiros-Fransozo, 2004) y b = 2 para comparaciones del área vs la longitud total del pez). Mediante el uso del test de Student (Sokal y Rohlf, 1995) se comprobó si una pendiente igual a "2" representa isometría, y pendientes significativamente diferentes de "2", representan o alometría positiva (>2) o negativa (<2). Para determinar si la tasa (AS/AO) cambia para las siete especies, con respecto al incremento en LT del pez, los valores de las pendientes fueron testeados con el test de Student (Sokal y Rohlf, 1995). Si el valor de la pendiente es significativamente diferente de 0 (> 0) la tasa AS/AO cambia a medida que el pez crece.

Análisis estadísticos

Para comparar si cada uno de los índices de forma del *sagitta* no presenta diferencias entre las siete especies seleccionadas, se utilizó el análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis (KW) (Sokal y Rohlf, 1995). En caso de encontrarse diferencias significativas, se usó el

test de Mann-Whitney (MW) corregido por el criterio de Bonferroni para determinar entre cuales índices existieron esas diferencias (Sokal y Rohlf, 1995).

Se utilizó el Análisis Canónico Discriminante (ACD) para comparar los otolitos de las siete especies en función de los seis índices y conocer cuales aportan más a discriminar los grupos. El ACD evalúa la separación entre los otolitos por especie a través de los ejes canónicos y discriminantes, evaluando la presencia de los otolitos en un espacio multivariado, y maximizando la variación entre ellos (Manly y Alberto, 2016).

Mediante los estadísticos lambda de Wilk's, y Pllai´s trace se analizó si no existen diferencias significativas entre los índices de los otolitos *sagitta* de las especies (Manly y Alberto, 2016). La lambda de Wilks' es una medida de bondad de cómo cada función separa los grupos. Este estadístico varía entre 0 y 1; pequeños valores de lambda de Wilk´s indican mayor potencia para discriminar los grupos. Este estadístico sigue una función asintótica F de Snedecor, con el número de los grupos y las variables en el nominador y los grados de libertad de las matrices de dispersión en el denominador (Rao, 1952). Pillai´s trace varía entre 0 y 1, valores altos de Pillai´s trace indican mayor discriminación o separación entre los grupos, reforzando la evidencia de que la variable explicativa presenta un efecto significativo en los valores de las variables de respuesta.

También se utilizó PERMANOVA (Anderson, 2001) con el objetivo de comparar los grupos de otolitos (*sagitta*) en función de los índices y probar entre cuales no existen diferencias significativas. En todos los casos se trabajó con la distancia de Mahalanobis y en todos los casos se fijó un $p = 0,05$.

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa Past (Version 4.07; 2021) (Hammer y Harper, 2001) y en todos los casos se utilizó un $p = 0.05$.

Resultados

Fueron analizados un total de 1215 individuos, cubriendo un rango de longitudes entre 5,5 y 94,0 cm (Tabla 2).

Tabla 2. Especies utilizadas, Rango long = rango de longitudes totales (cm), Prom. = promedio de longitudes (cm), Error = error estándar, CV = coeficiente de variación, Madurez = longitud de primera madurez estimada (cm) y N = número de individuos analizados.

Especie	Rango long	Prom.	Error	CV	Madurez	N
Micropogonias furnieri	5,5 – 46,0	17,69	0,802	58,21	31,9 – 35,9	162
Pogonias courbina	12,6 – 94,0	37,77	2,418	55,80	45,0 – 70,0	76
Paralonchurus brasiliensis	6,0 – 25,0	17,37	0,584	25,56	14,5 – 17,5	58
Macrodon atricauda	4,0 – 47,0	31,50	0,521	25,89	23,0	262
Menticirrhus martinicensis	10,3 – 45,0	31,92	0,440	20,32	16,3 – 18,0	217
Cynoscion guatucupa	8,2 – 58,0	32,46	0,797	38,04	29,88	242
Umbrina canosai	17,0 – 40,5	27,59	0,380	19,59	18,4 – 21,4	202

Caracterización morfológica del otolito *sagitta* para cada especie

Los Sciaenidae se caracterizan por tener otolitos *sagitta* de gran tamaño relativo, con un crecimiento en grosor altamente desarrollado de forma globular, lobular o con crestas y estrías. En su cara interna el otolito presenta un *sulcus acusticus* heterosulcoide y supramedial dividido en dos partes claramente separadas; el *ostium* en la parte anterior y la *cauda* en la posterior. El *ostium* tiene un área amplia marcadamente asimétrica en relación a la *cauda* y presenta una apertura *pseudo-ostial* (sin excisura *ostii*). La *cauda* es tubular y presenta mayor o menor grado de curvatura en función de la especie.

Micropogonias furnieri

Perfil del otolito, grueso – subrectangular. La cara externa es cóncava, muy irregular con concreciones que presentan varios patrones de distribución, la cara interna es convexa y su superficie es básicamente lisa. Forma del *sagitta* circular/piriforme, sin rostro, ni antirrostro. Región anterior redondeada, generalmente lisa y región posterior oblicua-redondeada. Borde

dorsal liso; borde ventral sinuoso. La cara medial o interna posee el *sulcus* de tipo heterosulcoide, (dividido en *ostium* y *cauda*) en posición posterior. El *ostium* tipo oval en posición lateral, se extiende en la primera mitad de la longitud del otolito, es rugoso, posee una mayor altura que la *cauda* y está separado de la *cauda* por un *collum* bien diferenciado. La *cauda* es curva y con forma de gancho (Fig. 2).

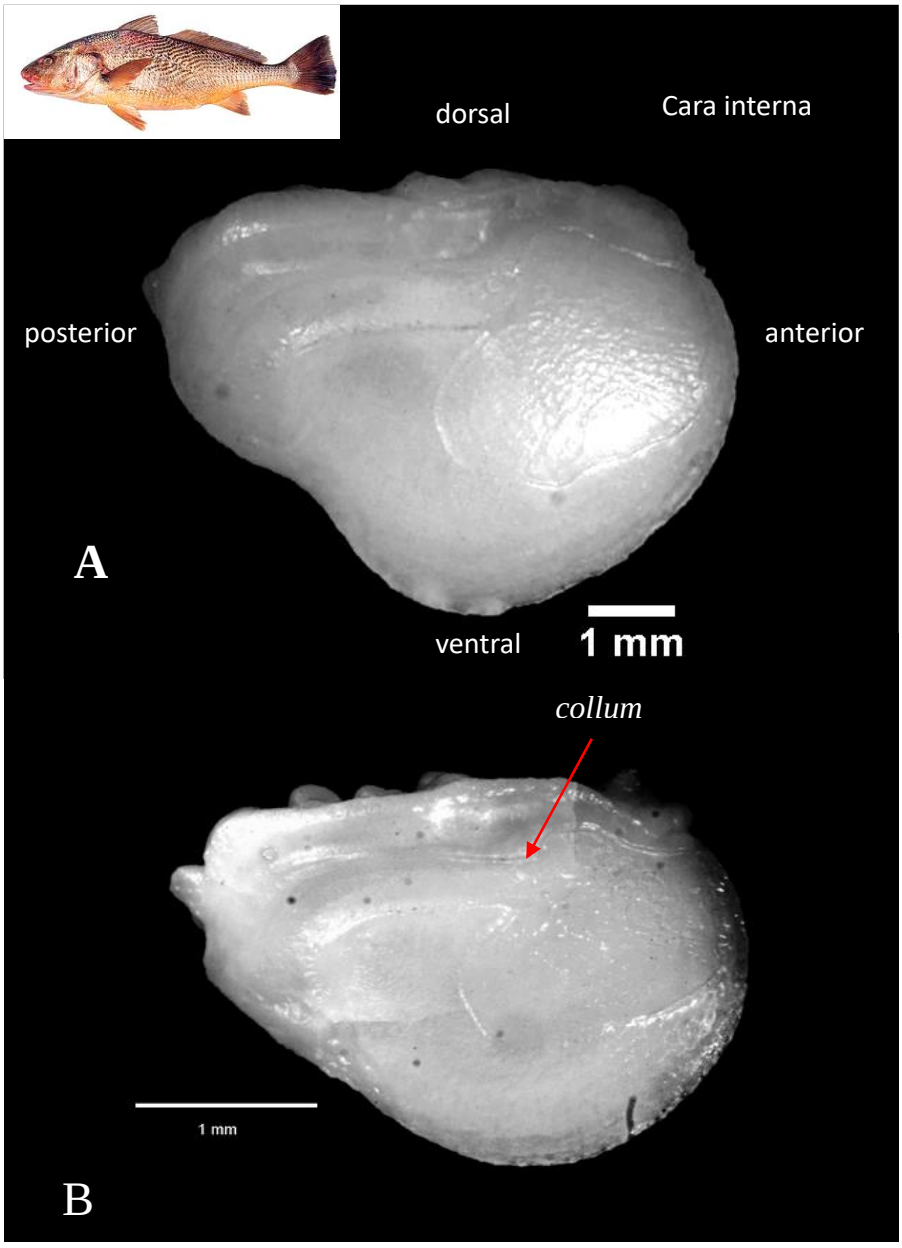
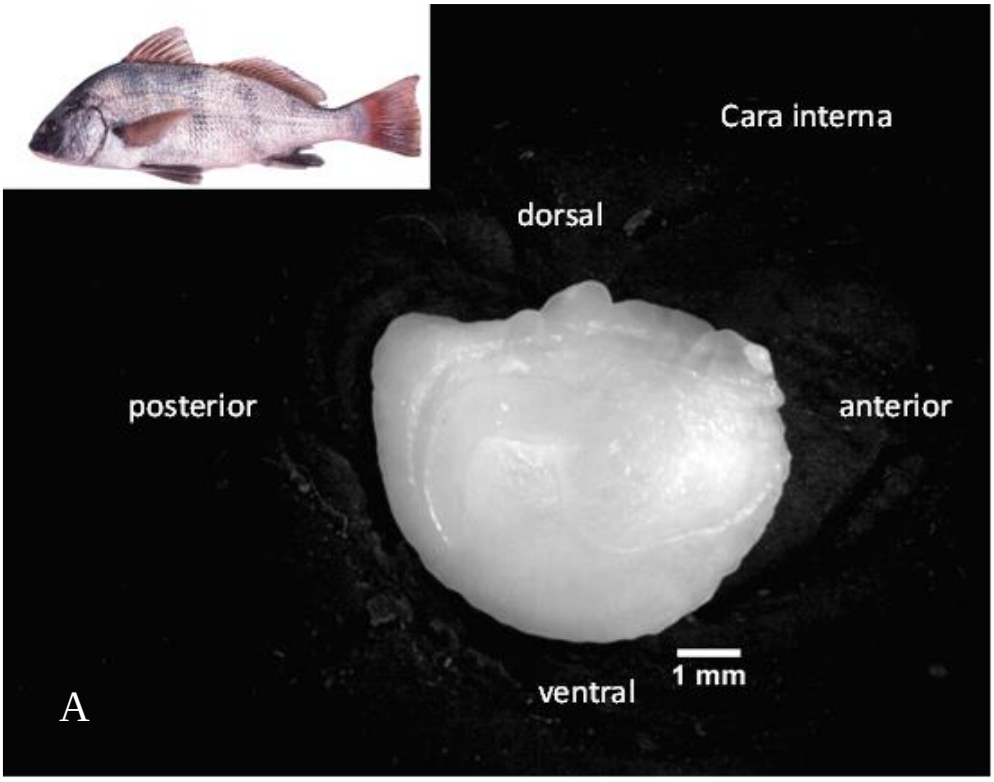


Figura 2. Otolito de *Micropogonias furnieri* A) retirado de un ejemplar inmaduro (20 cm.); B) retirado de un ejemplar juvenil (10 cm.) (se indica el *collum* con flecha roja).

Pogonias courbina

Perfil del otolito, plano – convexo. La cara externa es plana y la interna es convexa. Forma del *sagitta* circular, sin rostro, antirrostro, con bordes lisos. Región anterior redondeada, región posterior oblicua-redondeada, con un ángulo marcado en el extremo dorso-caudal. Borde dorsal liso; borde ventral liso-sinuoso. La cara medial o interna posee el *sulcus* (dividido en *ostium* y *cauda*) en posición medial, orientación horizontal; con apertura pseudo-ostial. El *ostium* en posición lateral, se extiende en la primera mitad de la longitud del otolito, es rugoso, posee una mayor altura que la *cauda* y está separado de la *cauda* por un *collum* bien diferenciado. La *cauda* es curva y doblada en ángulo recto (hacia el borde ventral) (Fig. 3).



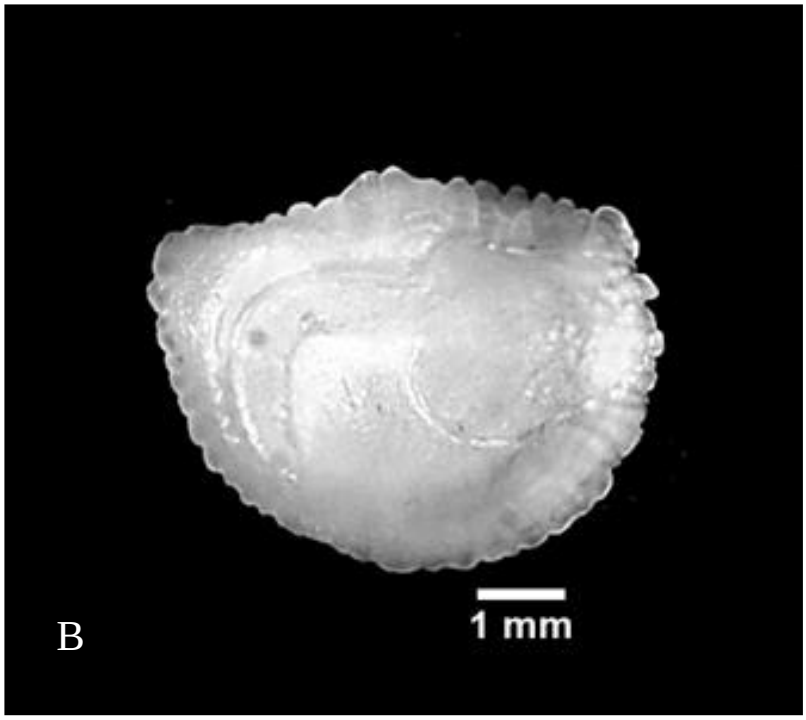


Figura 3. Otolito de *Pogonias courbina* A) retirado de un ejemplar inmaduro (25 cm.); B) retirado de un ejemplar juvenil (18 cm.)

Paralonchurus brasiliensis

Otolito con forma rectangular-oblonga y perfil biconvexo. Región anterior oblicua-francamente redondeada con un fuerte desarrollo del ángulo antero-dorsal, región posterior redondeada con un ángulo en el extremo dorso-caudal. Borde dorsal sinuoso/lobado en juveniles a entero en adultos. Borde ventral completo sinuoso., rostrum y antirrostrum ausentes *Sulcus acústicus* heterosulcoide y pseudo-ostial de posición supramedial; *ostium*: lateral y asimétrico, posee una mayor altura que la *cauda* y está separado de la *cauda* por el *collum* bien diferenciado en su inserción ventral con la *cauda*, pero poco en su inserción dorsal; *cauda*: tubular curvada en un ánulo cerrado que termina cerca del borde ventral (Fig. 4).

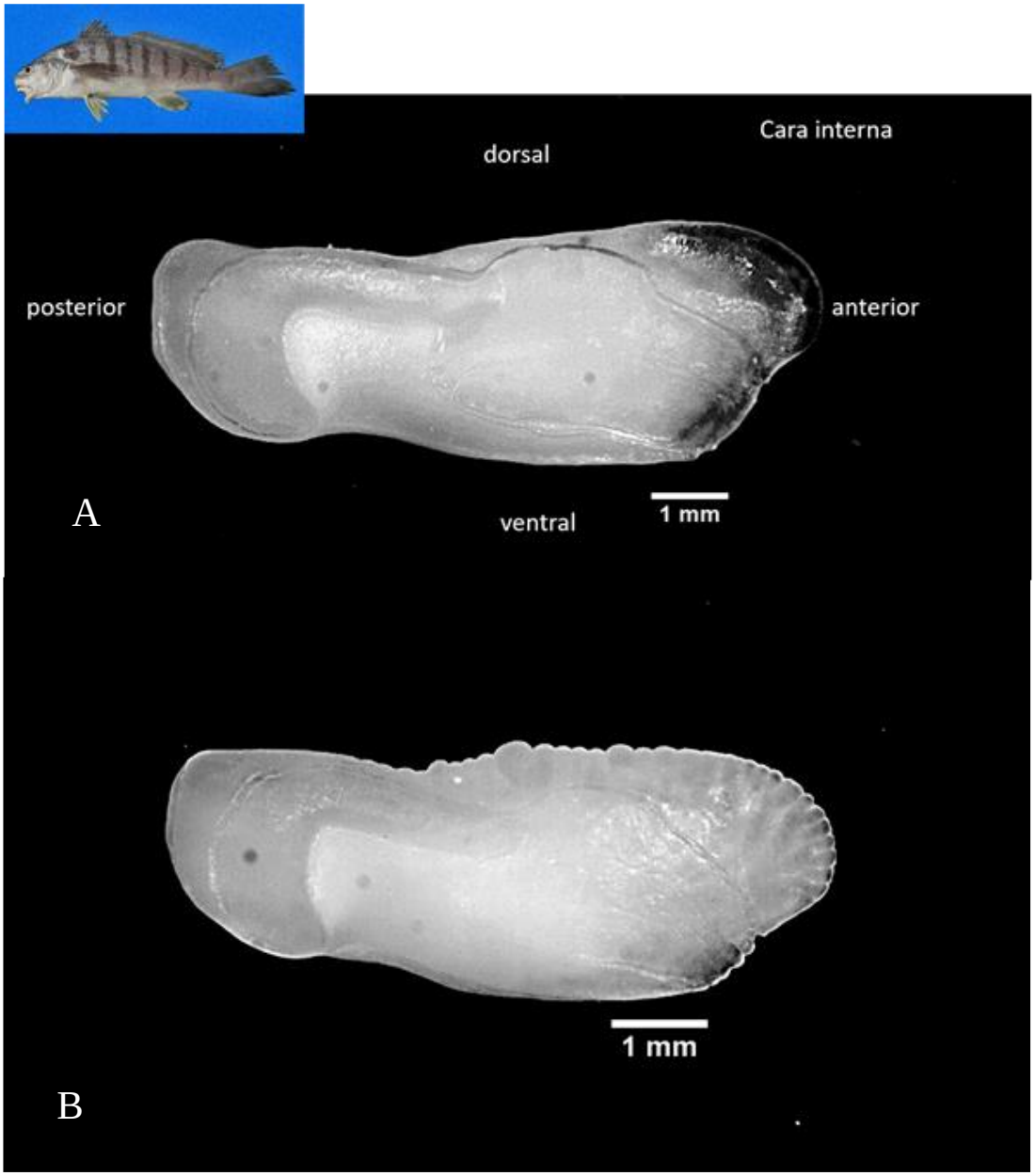


Figura 4. Otolito de *Paralonchurus brasiliensis* retirado de ejemplares adultos (A = 20 cm. y B = 24 cm.).

Macrodon atricauda

Forma elíptica - oblonga. La cara interna es levemente convexa y la cara externa es levemente cóncava y no presenta particularidades sobresalientes. Los bordes de la *sagitta* son lisos en adultos y profundamente lobulados en juveniles, bordes anterior y posterior redondeados con una entrante marcado en la zona dorso-posterior dándole un aspecto lobulado al extremo posterior. No se aprecia ni rostro, ni antirrostro. *Ostium*: superficie rugosa, rugoso lateral,

asimétrico y ligeramente inclinado antero-ventralmente, posee una mayor altura que la *cauda* y está separado de la *cauda* por el *collum* bien diferenciado en su inserción ventral con la *cauda*, pero muy poco en un inserción dorsal. La *cauda* es lisa y corta, se extiende a lo largo de la porción mediana de la *sagitta*, alejada del borde posterior del otolito, se curva en ángulo recto hacia el borde ventral. Posee una depresión dorsal angosta por encima del *sulcus acusticus*. (Fig. 5).

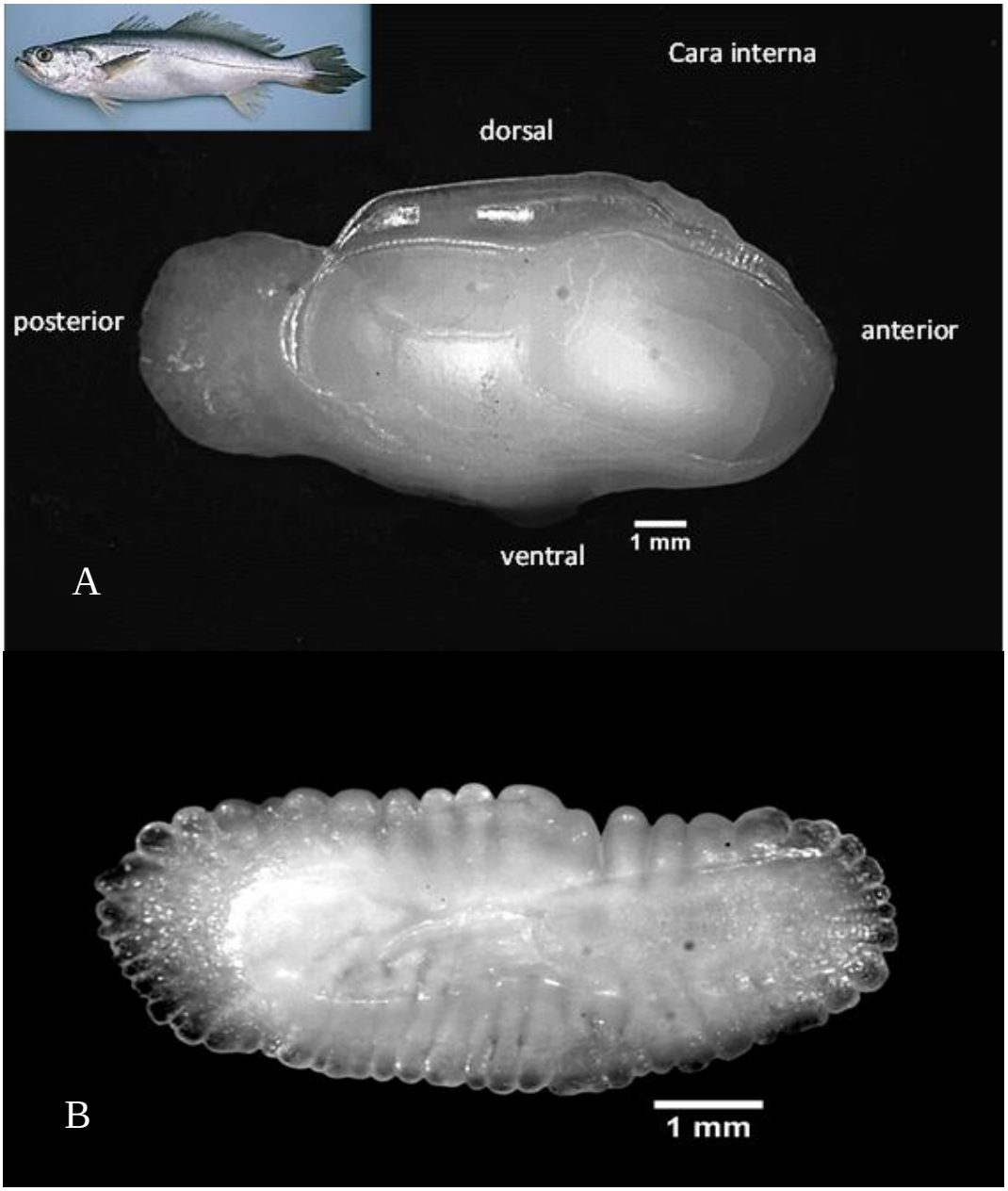
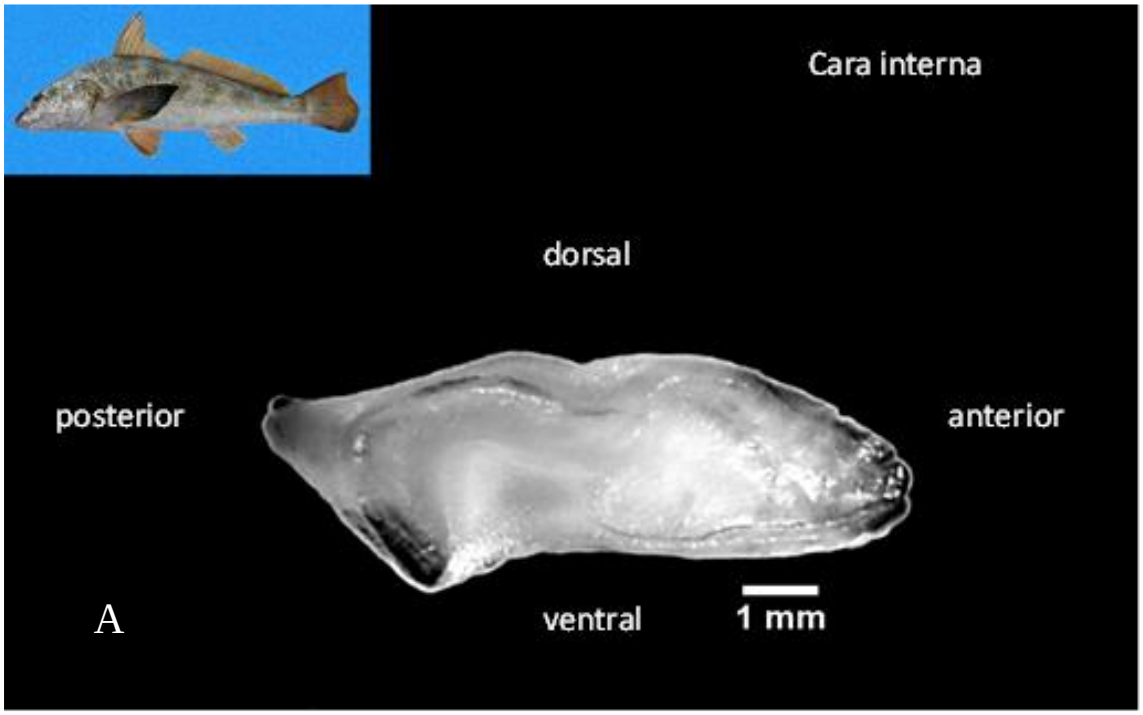


Figura 5. Otolito de *Macrodon atricauda* A) retirado de un ejemplar adulto (41 cm.); B) retirado de un ejemplar juvenil (9 cm.)

Menticirrhus martinicensis

Forma de bala. El perfil del otolito es plano – convexo, la cara externa del otolito presenta concreciones calcáreas desplazadas hacia el borde dorsal. El borde dorsal y el ventral son lisos, las regiones anteriores y posteriores presentan forma aguda y oblicua respectivamente, con un ángulo ventro-posterior muy prominente y una prolongación dorso-posterior muy prominente. Sin rostro, ni antirrostro, La cara interna del otolito presenta el *sulcus* en posición media (cauda más alta que el *ostium*), el cual está dividido en *ostium* y *cauda. Sulcus* heterosulcoide, pseudo-ostial y supramedial. *Ostium*: lateral, de superficie rugosa y cerrado cerca del margen anterior del otolito y está separado de la *cauda* por un *collum* bien diferenciado. *Cauda*: tubular, lisa, cerrada, claramente lejos del margen posterior y curvada en el extremo distal alcanzando el borde ventral del otolito. Posee una depresión areal dorsal de dimensiones variables. (Fig. 6).



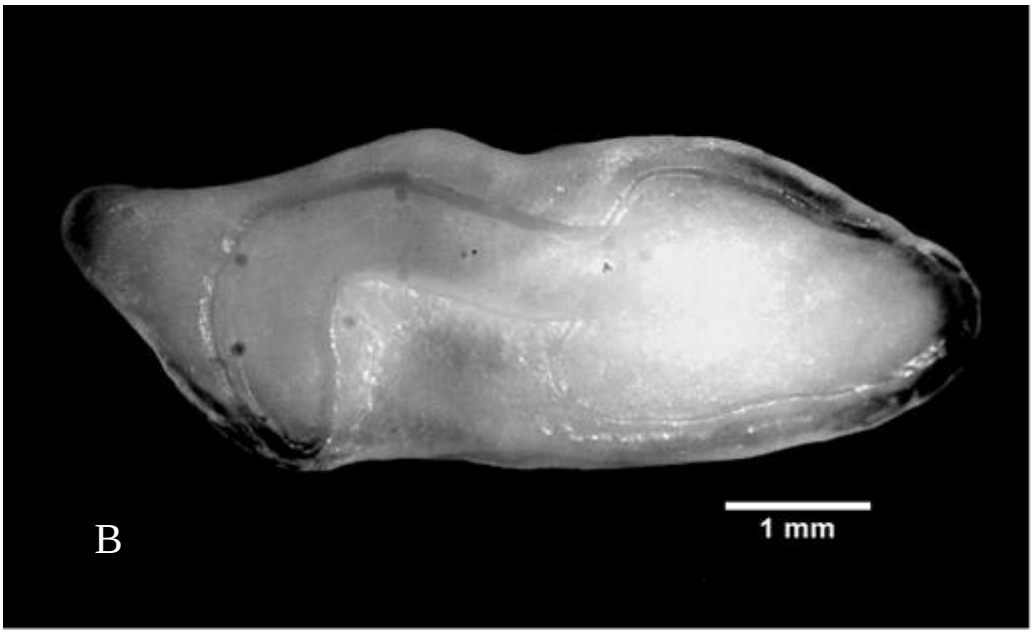


Figura 6. Otolito de *Menticirrhus martinicensis* A) ejemplar adulto (31 cm.); B) ejemplar juvenil (17,5 cm)

Cynoscion guatucupa

Forma elíptica. Perfil biconvexo. La cara externa del otolito es ondulada. Regiones anterior y posterior redondeadas, sin rostro, ni antirrostro. El borde dorsal y el ventral son lisos, mientras que el borde anterior es sinusoso a dentado. *Sulcus*, heterosulcoide, pseudo-ostial y su posición es medial. *Ostium*: lateral, poco profundo, ancho y rugoso y está separado de la *cauda* por un *collum* bien diferenciado. La *cauda* es tubular, alargada (el doble que el *ostium*) hasta el borde posterior y ligeramente curvada hacia el borde ventral. Posee una depresión en la zona ventral por debajo del *sulcus acusticus*. (Fig. 7).

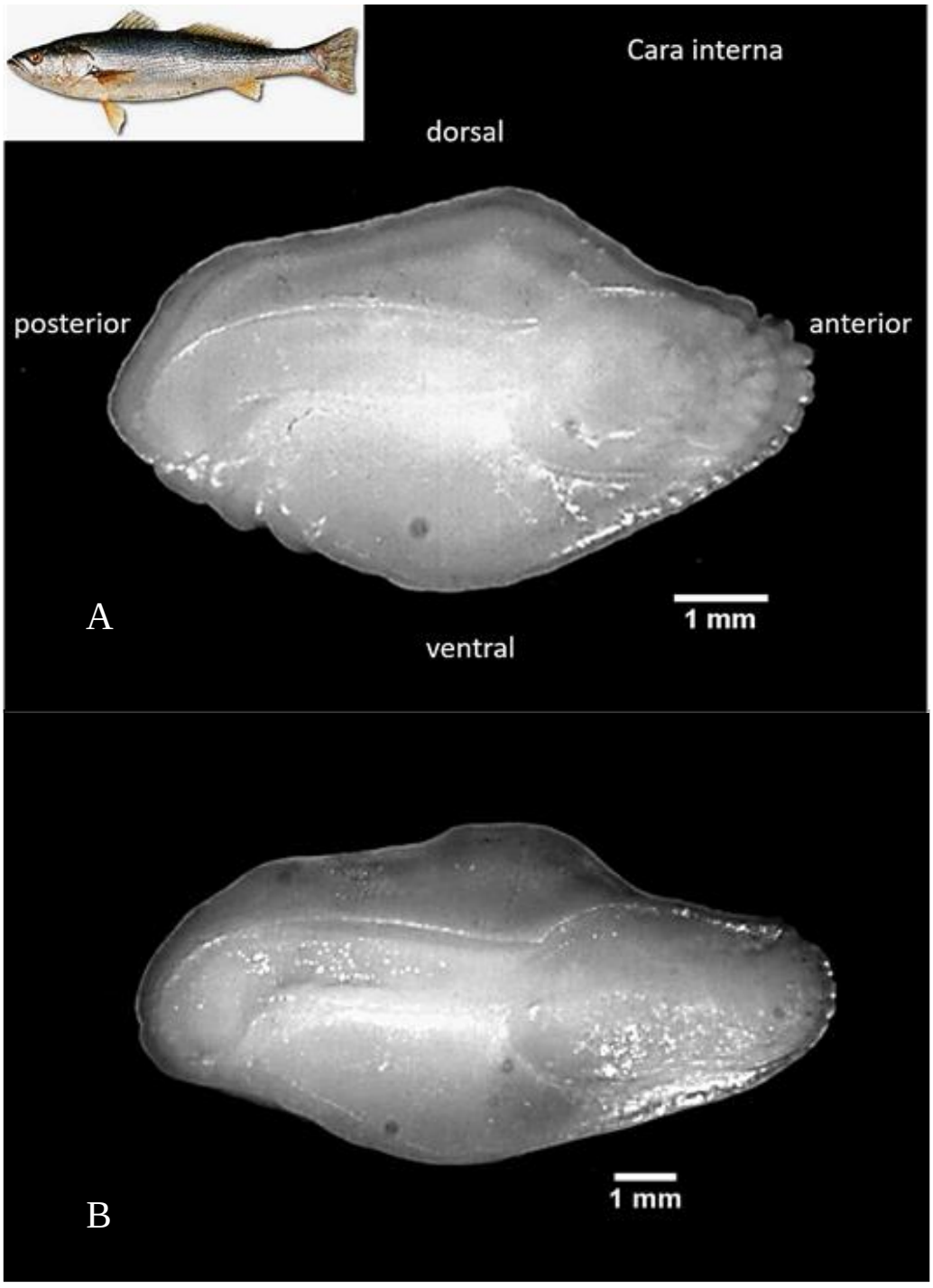


Figura 7. Otolito de *Cynoscion guatucupa* A) retirado de ejemplar inmaduro (19.6 cm); B ejemplar maduro (31 cm.)

Umbrina canosai

Forma del sagitta discoidal a rectangular. Perfil biconvexo, la cara externa posee concreciones calcáreas conspicuas, reunidas principalmente en el centro del otolito. Región anterior redondeada, región posterior oblicua-redondeada más desarrollada en su extremo dorso-posterior, sin rostro, antirrostro, bordes dorsal y ventral liso-sinuoso. *Sulcus* heterosulcoide con apertura pseudo-ostial/paraostial y posición suparmedial. *Ostium* en posición lateral, se extiende en la primera mitad de la longitud del otolito, es rugoso y posee una mayor altura que la *cauda* y está separado de la *cauda* por un *collum* muy bien diferenciado. *Cauda*: lisa, tubular y se extiende en el resto del otolito con una fuerte curvatura en su extremo distal cerca del borde ventral, (Fig. 8).

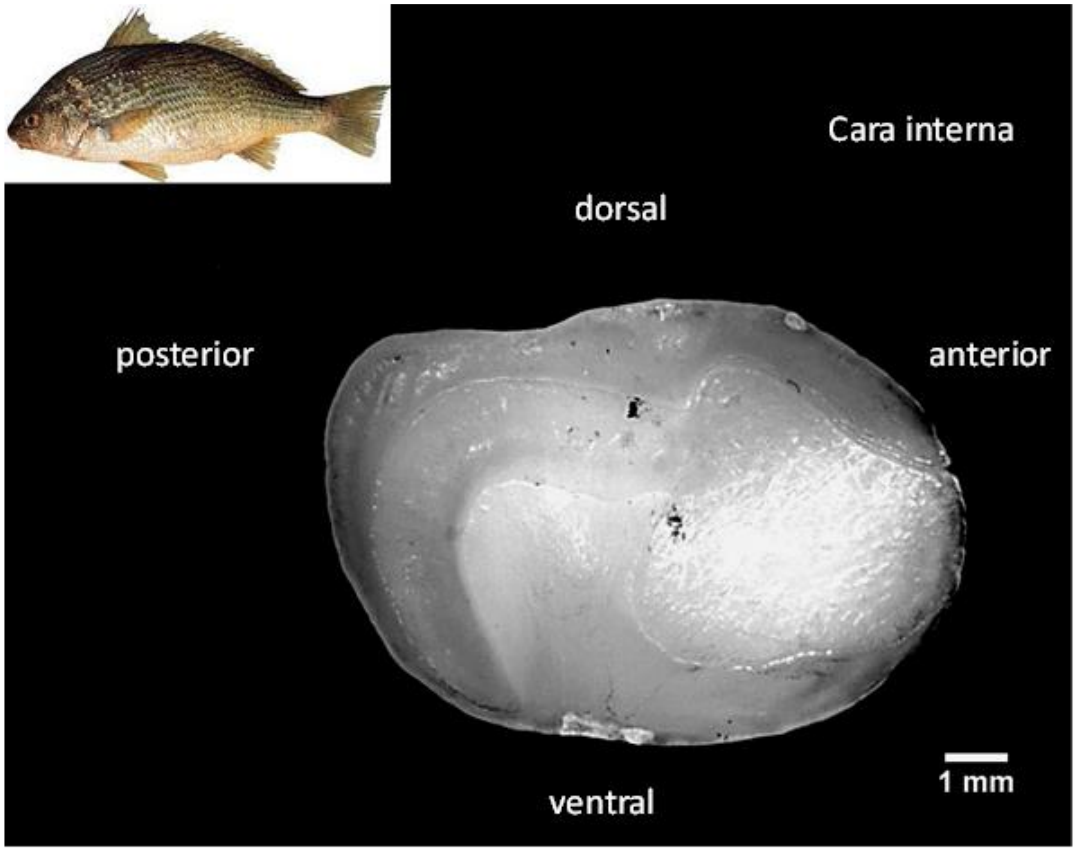


Figura 8. Otolito de *Umbrina canosai* mostrando la cara interna retirado de un ejemplar adulto (32 cm.)

Relación entre Longitud Otolito y Longitud total del Pez

Para las siete especies analizadas, la función que mejor se ajustó a la relación entre el largo total del otolito *sagitta* y el largo del pez fue potencial. (Tabla 3, Fig. 9).

Tabla 3. Relaciones entre longitud otolito – longitud total del pez (OL - LT) para las siete especies analizadas (Rel = relación; P = potencial; + = positiva; N = número de individuos; a = intercepto; b = pendiente; S_b = desvío de b, r = coeficiente de correlación; prob = probabilidad; Sig = significancia estadística: * p < 0,05; ISO = Isometría; ALO = alometría).

Especie	Rel.	N	a	b	S_b	r	prob	Sig.	ISO-ALO
M. furnieri	P. +	162	1,980	1,086	0,015	0,985	0,001	*	ALO
P. courbina	P. +	76	1,212	1,538	0,025	0,989	0,001	*	ALO
P. brasiliensis	P. +	58	1,207	1,346	0,058	0,952	0,001	*	ALO
M. atricauda	P. +	262	2,701	1,026	0,016	0,967	0,001	*	ISO
M. martinicensis	P. +	217	1,348	1,470	0,035	0,947	0,001	*	ALO
C. guatucupa	P. +	242	1,064	1,397	0,015	0,986	0,001	*	ALO
U. canosai	P. +	202	1,978	1,205	0,029	0,941	0,001	*	ALO

La relación entre la longitud del otolito y la longitud total del pez fue alometrica positiva para seis de las siete especies estudiadas. Para estas seis especies existió un crecimiento diferencial entre el largo total del pez y el largo del otolito, siendo que el pez creció más rápido en longitud total que el otolito en su eje anteroposterior. En el caso de *M atricauda*, el crecimiento del largo del otolito en relación a la longitud total del pez fue isométrico y en todos los casos la longitud del otolito explicó más del 90% de la longitud total del pez (Tabla 3).

Si bien las relaciones entre el ancho del otolito y la longitud total del pez fueron todas potenciales (Tabla 4) se encontraron alometrías positivas para *C. guatucupa* y *U. canosai*, alometrias negativas para *P. brasiliensis*, *M. atricauda* y *M. martinicensis*, mientras que para *M. furnieri* se encontró un crecimiento isométrico del ancho del otolito con respecto a la talla del pez. En todos los casos el ancho del otolito explico más del 90% de la longitud total del pez (Tabla 4).

Tabla 4. Relaciones entre la longitud total del pez – ancho otolito (LT – OH) para las siete especies analizadas (Rel = relación; N = número de individuos; Pot = potencial; (+ o -) = positiva o negativa; a = intercepto; b = pendiente; S_b = desvío de b; r = correlación; prob = probabilidad; Sig. = significancia: * p< 0,05).

Especie	Rel.	N	a	b	S_b	r	prob	Sig.
M. furnieri	Pot	162	2,899	1,028	0,011	0,955	0,0001	*
P. courbina	Pot (-)	76	0,945	0,562	0,010	0,987	0,0001	*
P. brasiliensis	Pot (-)	58	0,764	0,445	0,023	0,927	0,0001	*
M. atricauda	Pot (-)	262	0,693	0,960	0,011	0,981	0.0001	*
M. martinicensis	Pot (-)	217	0,508	0,527	0,017	0,902	0,0001	*
C. guatucupa	Pot (+)	242	0,942	1,939	0,025	0,979	0,0001	*
U. canosai	Pot (+)	202	2,679	1,299	0,039	0,916	0,0001	*

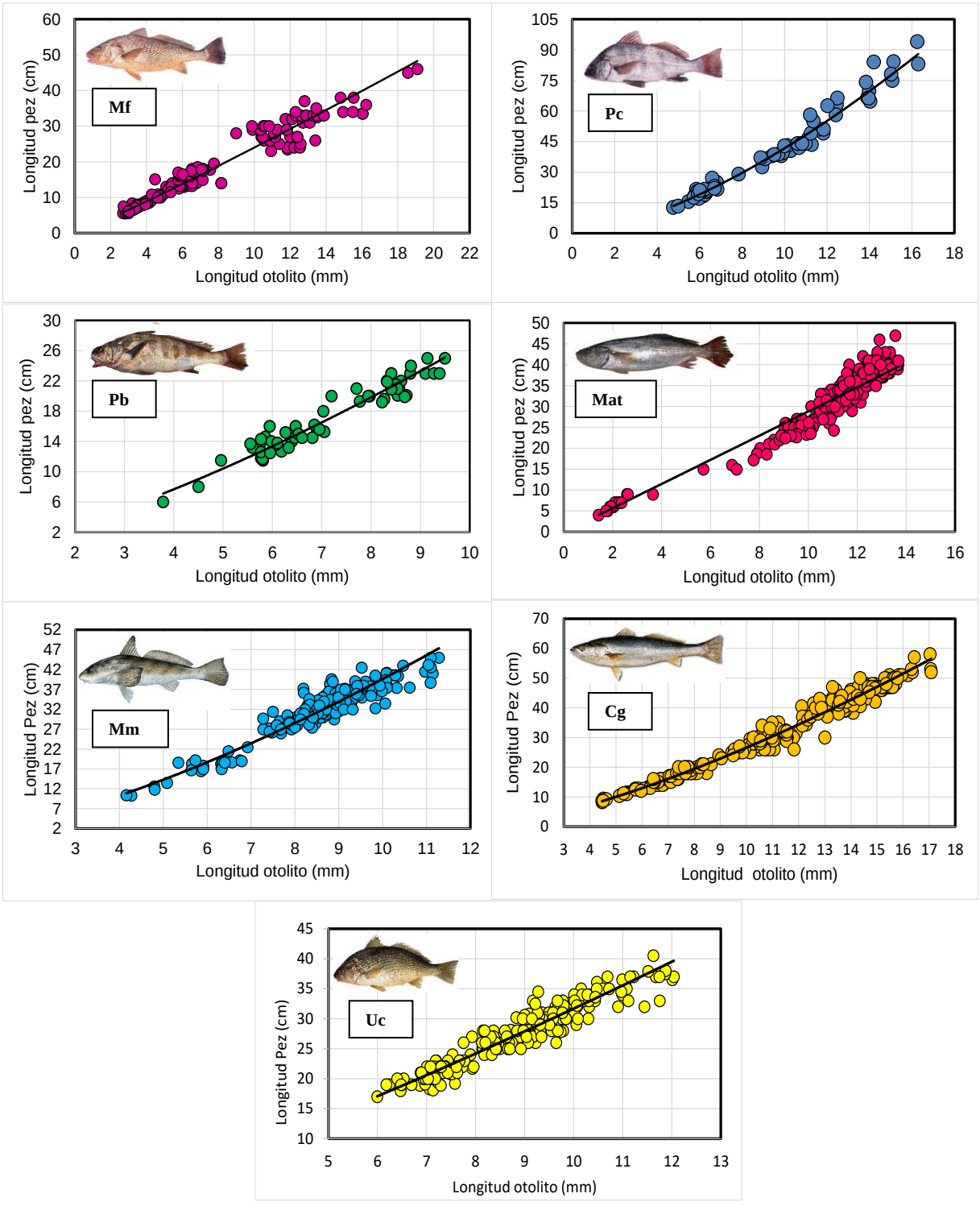


Figura 9. Dispersión de los datos y ajustes de las relaciones entre la longitud total del pez – longitud total del otolito (LT – OL) para las siete especies analizadas (Mf = *M. furnieri*; Pc = *P. courbina*; Pb = *P. brasiliensis*; Mat = *M. atricauda*; Mm = *M. martinicensis*; Cg = *C. guatucupa*; Uc = *U. canosai*).

Índices de Forma
CIRCULARIDAD

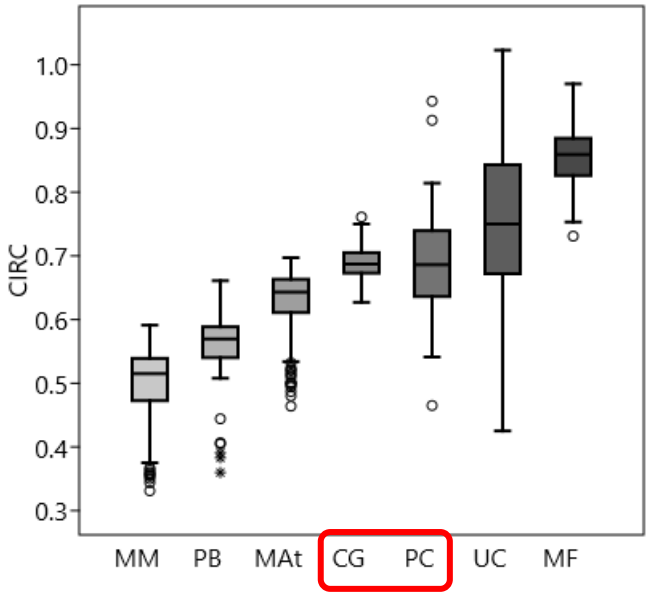


Figura 10. Box-plot con los valores de los índices de circularidad calculados para los otolitos (*sagitta*) de las siete especies analizadas, en rectángulo rojo se indican las especies que no presentaron diferencias significativas (MF = *M. furnieri*; PC = *P. courbina*; PB = *P. brasiliensis*; Mat = *M. atricauda*; MM = *M. martinicensis*; CG = *C. guatucupa*; UC = *U. canosai*).

El test de Kruskal-Wallis mostró diferencias significativas (KW = 916,1; p = 0,000< 0,05) entre las muestras para las siete especies analizadas. Mediante la prueba de MW, aplicando la corrección de Bonferroni, (Tabla 5) se encontró que existieron diferencias significativas (p < 0,05) entre cinco de las siete especies analizadas, no existiendo diferencias entre *Cynoscion guatucupa* y *Pogonias courbina*. La especie que presentó otolitos más circulares fue *Micropogonias furnieri*, y la que presentó los otolitos menos circulares fue *Menticirrhus martinicensis* (Fig. 10).

Tabla 5. Resultados de la prueba de Mann-Whitney corregida por el criterio de Bonferroni, para el índice de Circularidad. Los valores en negrita indican entre que especies se encontraron diferencias significativas (Mf = *M. furnieri*; Pc = *P. courbina*; Pb = *P. brasiliensis*; Mat = *M. atricauda*; Mm = *M. martinicensis*; Cg = *C. guatucupa*; Uc = *U. canosai*).

ESPECIE	Pb	Mat	Cg	Pc	Uc	Mf
Mm	**6,48E-14**	**2,59E-67**	**1,83E-76**	**2,68E-36**	**7,76E-63**	**5,99E-63**
Pb		**1,15E-18**	**5,43E-32**	**7,25E-18**	**7,31E-23**	**1,04E-29**
Mat			**1,64E-56**	**5,11E-10**	**8,97E-35**	**7,26E-68**
Cg				0,3725	**9,53E-13**	**1,06E-65**
Pc					**1,51E-06**	**3,06E-31**
Uc						**1,41E-16**

RECTANGULARIDAD

El test de Kruskal-Wallis mostró diferencias significativas (KW = 785,5; p = 0,000< 0,05) entre las muestras para las siete especies seleccionadas. Mediante la prueba de MW, aplicando la corrección de Bonferroni, (Fig. 11 Tabla 6) se encontró que no existieron diferencias significativas (p < 0,05) entre *Paralonchurus brasiliensis* y *Umbrina canosai*. La especie que presentó los otolitos menos rectangulares fue *Micropogonias furnieri* con una alta variabilidad (Fig. 11).

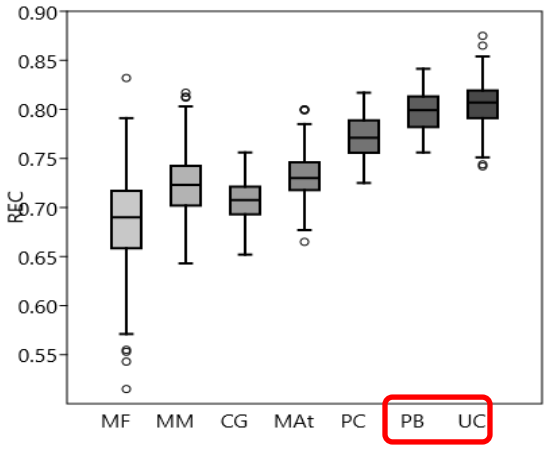


Figura 11. Valores de los índices de rectangularidad calculados para los otolitos (*sagitta*) de las siete especies analizadas (en rectángulo rojo se indican las especies que no presentaron diferencias significativas).

Tabla 6. Resultados de la prueba de Mann-Whitney corregida por el criterio de Bonferroni, para el índice de Rectangularidad. Los valores en negrita indican entre que especies se encontraron diferencias significativas (Mf = *M. furnieri*; Pc = *P. courbina*; Pb = *P. brasiliensis*; Mat = *M. atricauda*; Mm = *M. martinicensis*; Cg = *C. guatucupa*; Uc = *U. canosai*).

ESPECIE	Mm	Cg	Mat	Pc	Pb	Uc
Mf	**1,59E-17**	**1,44E-08**	**4,32E-30**	**9,42E-31**	**3,45E-28**	**1,90E-58**
Mm		**7,97E-10**	**0,001668**	**1,07E-24**	**9,15E-28**	**2,08E-63**
Cg			**2,29E-29**	**7,88E-38**	**2,82E-32**	**1,58E-73**
Mat				**1,52E-26**	**1,62E-30**	**2,65E-72**
Pc					**2,17E-09**	**3,55E-20**
Pb						0,03759

ELIPCIDAD

El test de Kruskal-Wallis mostró diferencias significativas (KW = 1138; p = 0,000 < 0,05) entre las muestras para las siete especies seleccionadas. Mediante la prueba de MW, aplicando la corrección de Bonferroni, (Fig. 12 Tabla 7) se encontró que existieron diferencias significativas (p < 0,05) entre todas las especies.

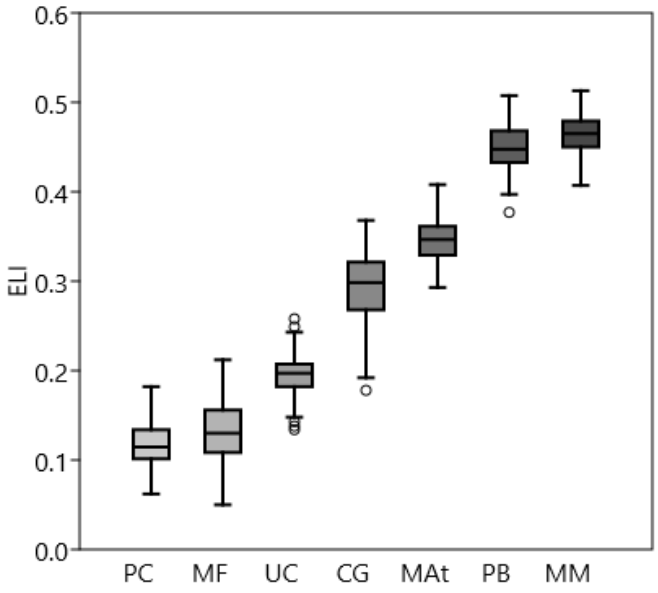


Figura 12. Valores de los índices de elipcidad calculados para los otolitos (*sagitta*) de las 7 especies analizadas.

La especie *Menticirrhus martinicensis*, fue la que presentó los otolitos más elípticos, mientras que *Pogonias courbina* fue la que presentó los otolitos menos elípticos.

Tabla 7. Resultados de la prueba de Mann-Whitney corregida por el criterio de Bonferroni, para el índice de Elipcidad. Los valores en negrita indican entre que especies se encontraron diferencias significativas (Mf = *M. furnieri*; Pc = *P. courbina*; Pb = *P. brasiliensis*; Mat = *M. atricauda*; Mm = *M. martinicensis*; Cg = *C. guatucupa*; Uc = *U. canosai*).

ESPECIE	Mf	Uc	Cg	Mat	Pb	Mm
Pc	**0,001222**	**4,50E-35**	**1,74E-39**	**3,24E-40**	**4,35E-23**	**1,75E-38**
Mf		**7,59E-48**	**1,42E-65**	**7,21E-68**	**1,03E-29**	**5,94E-63**
Uc			**4,42E-68**	**3,06E-76**	**3,90E-31**	**4,58E-70**
Cg				**3,37E-55**	**2,82E-32**	**1,83E-76**
Mat					**1,57E-32**	**2,93E-79**
Pb						**8,71E-05**

RELACION DE ASPECTO (OH/OL, ancho otolito/largo otolito)

El test de Kruskal-Wallis mostró diferencias significativas (KW = 1145; p = 0,000 < 0,05) entre las muestras para las siete especies seleccionadas. Mediante la prueba de MW, aplicando la corrección de Bonferroni, (Fig. 13 Tabla 8) se encontró que no existieron diferencias significativas (p < 0,05) entre *Menticirrhus martinicensis* y *Paralonchurus brasiliensis*, y tampoco existieron diferencias entre *Pogonias courbina* y *Micropogonias furnieri* (Fig. 13).

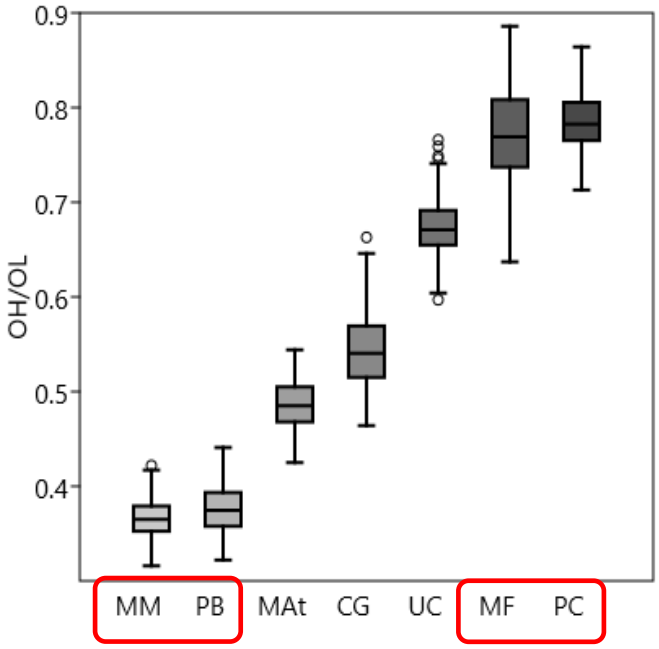


Figura 13. Valores de los índices de forma (OH/OL) calculados para los otolitos (*sagitta*) de las siete especies analizadas, en rectángulo rojo se indican las especies que no presentaron diferencias significativas.

Tabla 8. Resultados de la prueba de Mann-Whitney corregida por el criterio de Bonferroni, para la relación de aspecto (OH/OL). Los valores en negrita indican entre que especies se encontraron diferencias significativas (Mf = *M. furnieri*; Pc = *P. courbina*; Pb = *P. brasiliensis*; Mat = *M. atricauda*; Mm = *M. martinicensis*; Cg = *C. guatucupa*; Uc = *U. canosai*).

ESPECIE	Pb	Mat	Cg	Uc	Mf	Pc
Mm	0,14	**6,08E-78**	**3,84E-75**	**9,63E-69**	**1,25E-61**	**3,67E-37**
Pb		**2,54E-31**	**5,93E-31**	**8,22E-30**	**2,18E-28**	**9,15E-22**
Mat			**1,59E-57**	**6,46E-75**	**1,52E-66**	**6,83E-39**
Cg				**4,41E-71**	**1,82E-64**	**3,51E-38**
Uc					**3,17E-49**	**2,26E-35**
Mf						0,7954

RELACION DE ASPECTO (OL/TL, largo otolito/largo pez)

El test de Kruskal-Wallis mostró diferencias significativas (KW = 870; p = 0,000 < 0,05) entre las muestras para las siete especies seleccionadas. Mediante la prueba de MW, aplicando la corrección de Bonferroni, (Fig. 14 Tabla 9) se encontró que no existieron diferencias significativas (p < 0,05) entre *Pogonias courbina* y *Menticirrhus martinicensis*, entre *Macrodon atricauda* y *Cynoscion guatucupa*, y entre *Paralonchurus brasiliensis* y *Micropogonias furnieri*. La especie que presentó otolitos con valores promedios mas elevados de esta relación de aspecto (OL/TL) fue *Micropogonias furnieri*, y la que presentó valores promedio menores para esta relación (OL/TL) fue *Pogonias courbina* (Fig. 14).

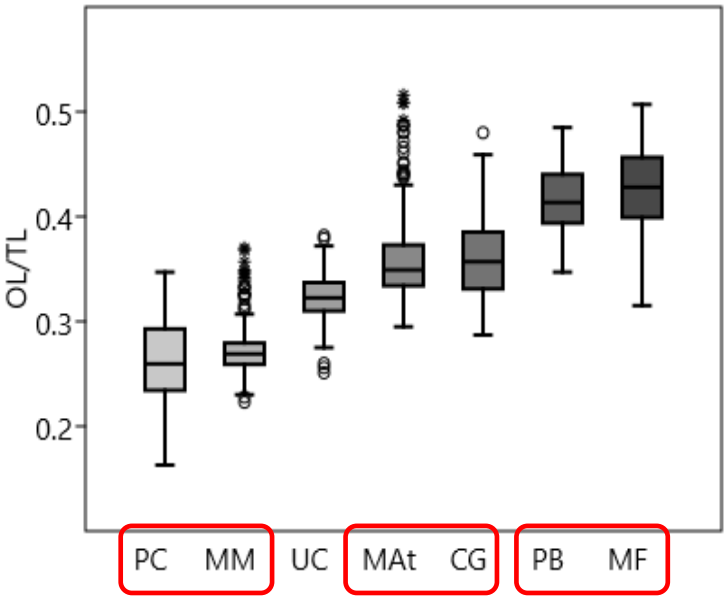


Figura 14. Valores de los índices de forma (OL/TL) calculados para los otolitos (*sagitta*) de las siete especies analizadas.

Tabla 9. Resultados de la prueba de Mann-Whitney corregida por el criterio de Bonferroni, para la relación de aspecto (OL/TL). Los valores en negrita indican entre que especies se encontraron diferencias significativas (Mf = *M. furnieri*; Pc = *P. courbina*; Pb = *P. brasiliensis*; Mat = *M. atricauda*; Mm = *M. martinicensis*; Cg = *C. guatucupa*; Uc = *U. canosai*).

ESPECIE	Mm	Uc	Mat	Cg	Pb	Mf
Pc	0,8554	**3,62E-26**	**6,44E-36**	**6,72E-35**	**9,36E-22**	**3,14E-34**
Mm		**5,12E-50**	**3,32E-70**	**1,80E-67**	**3,31E-30**	**3,88E-61**
Uc			**4,53E-31**	**3,83E-28**	**2,16E-29**	**7,47E-57**
Mat				1	**3,31E-17**	**2,46E-34**
Cg					**1,37E-15**	**2,05E-35**
Pb						0,6156

RELACION ÁREA DEL *SULCUS* – ÁREA DEL OTOLITO (AS/AO)

El test de Kruskal-Wallis mostró diferencias significativas (KW = 849,2; p = 0,000< 0,05) entre las muestras. Mediante la prueba de MW, aplicando la corrección de Bonferroni, (Fig. 15 Tabla 10) se encontró que no existieron diferencias significativas (p < 0,05) entre *Pogonias courbina* y *Macrodon atricauda*. La especie que presentó otolitos con AS/AO más elevada fue *Menticirrhus martinicensis*, y la que presentó la menor relación (AS/AO) fue *Micropogonias furnieri* (Fig. 15).

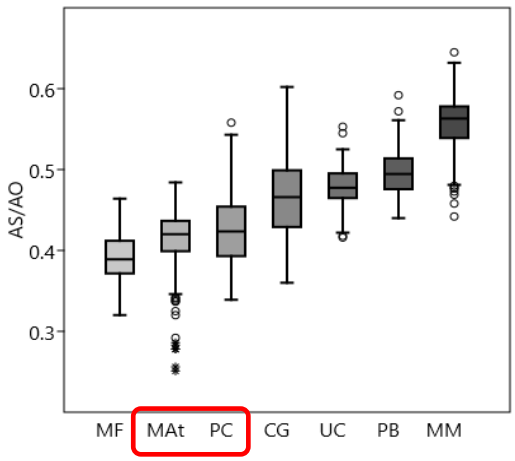


Figura 15. Índices de forma (AS/AO) de los otolitos (*sagitta*) de las siete especies, en rectángulo rojo se indican las especies que no presentaron diferencias significativas analizadas.

Tabla 10. Resultados de la prueba de Mann-Whitney corregida por el criterio de Bonferroni, para la relación de aspecto (AS/AO). Los valores en negrita indican entre que especies se encontraron diferencias significativas (Mf = *M. furnieri*; Pc = *P. courbina*; Pb = *P. brasiliensis*; Mat = *M. atricauda*; Mm = *M. martinicensis*; Cg = *C. guatucupa*; Uc = *U. canosai*).

ESPECIE	Mat	Pc	Cg	Uc	Pb	Mm
Mf	**3,95E-15**	**2,14E-08**	**5,98E-44**	**7,62E-58**	**4,63E-28**	**1,37E-61**
Mat		1,00	**8,35E-31**	**7,29E-63**	**8,19E-29**	**1,66E-77**
Pc			**7,05E-08**	**2,57E-17**	**1,32E-12**	**1,47E-33**
Cg				**0,01813**	**7,20E-05**	**8,50E-58**
Uc					**0,004254**	**4,05E-58**
Pb						**6,97E-19**

Las relaciones entre AO-LT y AS-LT para las siete especies estudiadas mostraron un buen ajuste de predicción y alometría negativa y significativa (Tabla 11a). Esto es que el pez crece más rápido en longitud que las áreas analizadas del sagitta (AS y AO). En tres especies (*M. furnieri*, *P. courbina* y *M. martinicensis*), se encontró alometría positiva de la tasa AS/AO con respecto a la longitud total del pez (TL): esto se traduce en un crecimiento mayor del sulcus a medida que el pez aumenta en longitud. En *P. brasiliensis*, *M. atricauda*, *C. guatucupa* y *U. canosai*, se encontró isometría, esto se interpreta como un crecimiento del sulcus que acompaña el crecimiento en longitud del pez.

Tabla 11a. Relaciones potenciales entre el área del otolito y la longitud total del pez (AO = área del otolito; AS = área del *sulcus*, TL = longitud total del pez, SIG = significancia del test t).

ESPECIE/RELACION	(AO-TL)	(AS-TL)	(AS/AO-TL)	(SIG)
M. furnieri	b = 1,738; r = 0,982	b = 1,854; r = 0,982	b = 0,002; r = 0,580	pos**
P. courbina	b = 1,250; r = 0,992	b = 1,477; r = 0,991	b = 0,002; r = 0,865	pos**
P. brasiliensis	b = 1,141; r = 0,958	b = 1,296; r = 0,949	b = 0,004; r = 0,554	ns
M. atricauda	b = 1,564; r = 0,979	b = 1,721; r = 0,980	b = 0,002; r = 0,645	ns
M. martinicensis	b = 1,016; r = 0,918	b = 1,264; r = 0,920	b = 0,004; r = 0,697	pos**
C. guatucupa	b = 1,171; r = 0,983	b = 1,451; r = 0,981	b = 0,004; r = 0,899	ns
U. canosai	b = 1,348; r = 0,903	b = 1,423; r = 0,892	b = 0,001; r = 0,276	ns

Tabla 11b. Relación AS/AO para las siete especies analizadas (Med. = mediana; Per. = percentil; Num. = número; valores máximos y mínimos por especie, coeficiente alometrico (b) de la relación entre área del *sulcus* (AS), área de la cara interna del otolito (AO); y resultados del test t).

ESPECIE	(Med.)	(Per 25-75)	Num.	(Min-Max)	b	t test ($b \neq 1$)
M. furnieri	0,389	(0,371 - 0,412)	165	(0,32-0,46)	1,063	9,340 > 2,66
P. courbina	0,423	(0,393 – 0,454)	76	(0,34-0,56)	1,178	14,33 > 2,66
P. brasiliensis	0,494	(0,475 – 0,513)	58	(0,44-0,59)	1,130	6,799 > 2,66
M. atricauda	0,420	(0,399 – 0,436)	262	(0,25-0,48)	1,093	25,35 > 2,66
M. martinicensis	0,563	(0,539 – 0,578)	217	(0,44-0,64)	1,224	12,98 > 2,66
C. guatucupa	0,466	(0,429 – 0,499)	242	(0,36-0,60)	1,237	35,18 > 2,66
U. canosai	0,477	(0,464 – 0,495)	202	(0,41-0,55)	1,054	4,360 > 2,66

Para las siete especies analizadas, la relación AS/AO (Tabla 11b) se ajustó a una relación potencial, con elevados coeficientes de correlación (mínimo r = 0,971 para *P. brasiliensis* y máximo r = 0,993 para *M. furnieri*). Las pendientes de esa relación fueron mayores que 1 para todas las especies (Tabla 11b). El crecimiento del área del *sulcus* presentó alometría positiva en relación al área total del otolito (test t para b = 1, $p < 0,05$). Los coeficientes alométricos se situaron desde 1,054 en *U. canosai* hasta 1,237 en *C. guatucupa*, con un promedio de 1,139. Las relaciones encontradas implican mayor crecimiento del *sulcus* en relación al crecimiento del *sagitta*, de modo que, para todas las especies, la relación AS/AO aumentó con el tamaño del otolito.

Análisis canonico discriminante (ACD)

El ACD mostro diferencias significativas entre las especies, y mostró cuáles fueron los índices que aportaron más a su discriminación. Los coeficientes estandarizados indicaron que la relación de aspecto (OH/OL) tuvo mayor influencia en el cálculo de la función discriminante aportando positivamente al factor 1 (Fig. 16). Los siguientes índices que aportaron a la función discriminante fueron elipcidad (ELI) y Rectangularidad (REC) (ELI contribuyendo negativamente y REC contribuyendo positivamente al factor 1).

Se encontraron diferencias entre los grupos analizados (Wilks = 0,001; F = 563,1; p = 0 < 0,00; Pillai trace p = 1,00; F = 251,4; p = 0 < 0,00). El porcentaje de clasificación correcta fue de 96,89% y aplicando crosvalidacion 96,64%. El primer factor (acumuló 75,69% de la varianza explicada) separó los grupos a lo largo del eje 1 y mostró una ordenación de valores negativos a positivos. El segundo factor explicó el 11,85% (ambos más del 87%).

El análisis discriminante utilizando el aporte de los diferentes índices, mostro un claro gradiente de ordenación de valores negativos a positivos entre las especies que no producen sonido (*M. martinicensis y P. brasiliensis*), las que producen sonido a mayores frecuencias (*M. atricauda* y *C. guatucupa*) y poseen otolitos mas elípticos y aquellas especies que producen sonido a bajas frecuencias (*M. furnieri, U. canosai* y *P. courbina*) y poseen otolitos mas circulares. Las especies con otolitos mas elípticos presentaron valores de menor duración del pulso que aquellas que poseen otolitos mas circulares (Tellechea, 2019; Tellechea y Norbis, 2012; Tellechea, et al., 2010, 2011a, 2011b, 2017).

El índice OH/OL contribuyo a separar a los otolitos de *M. furnieri, P. courbina* y *U. canosai*, (que fueron más circulares), de los otolitos de *M. martinicensis, P. brasiliensis* y *M. atricauda* (que fueron más elípticos). El Índice ELI separó las especies *M. martinicensis, P. brasiliensis* y *M. atricauda* de las demás, presentando individuos con otolitos más elípticos (Fig. 16).

El análisis PERMANOVA dio como resultado que existieron diferencias significativas entre los otolitos *sagitta* de las siete especies analizadas (Permutacion N: 9999; F = 251,4; P = 0,0001) coincidiendo con el análisis discriminante.

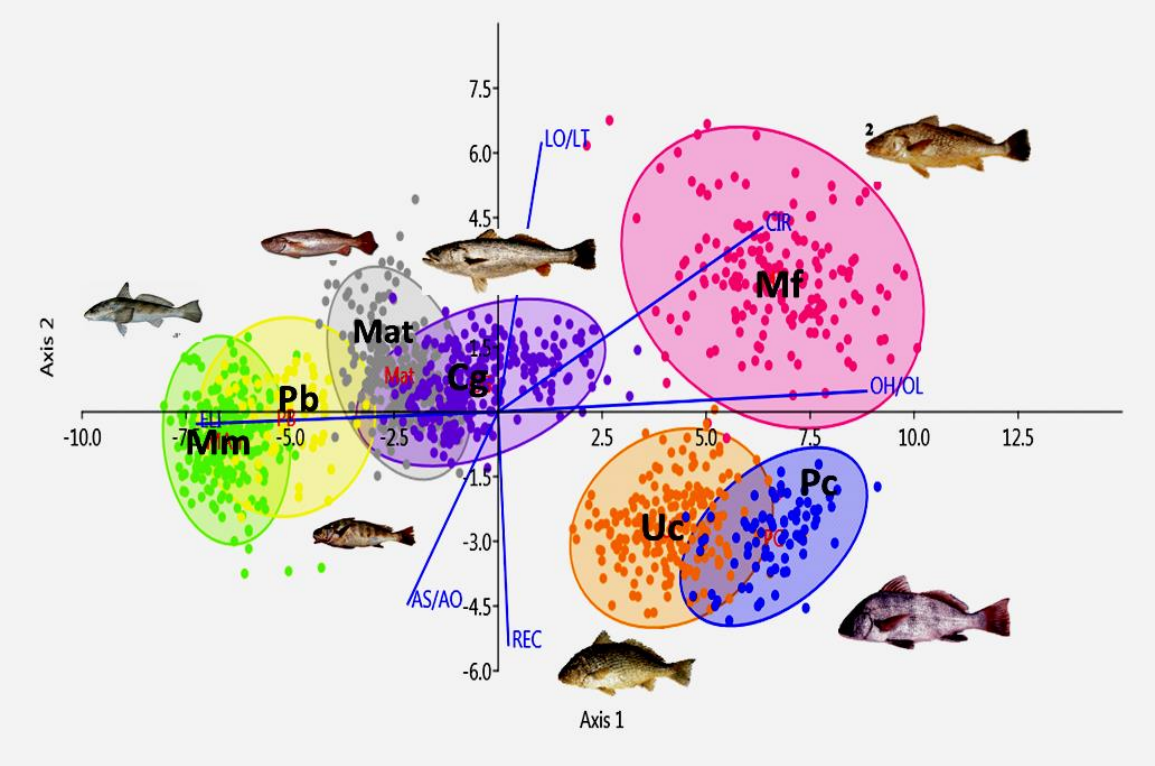


Figura 16. Análisis Canónico Discriminante realizado utilizando los seis índices de forma para los otolitos sagitta de las siete especies seleccionadas. LO/LT = Longitud otolito/Lontitud Total pez; OH/OL = Ancho otolito/Longitud otolito; REC = Rectangularidad; CIR = Circularidad; ELI = Elipcidad; AS/AO = Area *sulcus*/Area otolito. (Pc = *Pogonias courbina*; Mf = *Micropogonias furnieri*; Cg = *Cynoscion guatucupa*; Mm = *Menticirrhus martinicensis*; Uc = *Umbrina canosai*; Mat = *Macrodon atricauda*; Pb = *Paralonchurus brasiliensis*).

Los otolitos de *C. guatucupa* se ubicaron entre circulares y elípticos ocupando una zona de transición entre ELI y CIR. Estos resultados llevaron a separar, los otolitos de esta especie en cinco grupos de longitud (G1 = 10 a 20 cm; G2 = 21 a 30 cm; G3 = 31 a 40 cm; G4 = 41 a 50 cm; G5 = 51 y mayores) encontrandose que los peces de menor tamaño presentaron otolitos más circulares y los individuos más grandes, presentaron otolitos más elípticos (Fig. 17), lo que podría estar indicando un crecimiento diferencial del otolito entre individuos juveniles y adultos.

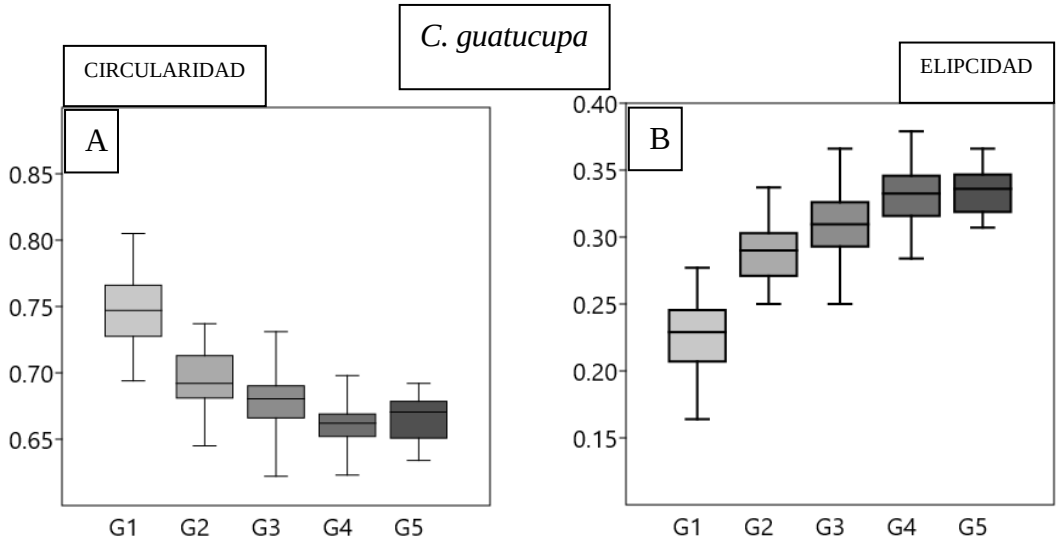


Figura 17. Variabilidad ontogenética de los otolitos de *C. guatucupa*. Circularidad (A) y elipcidad (B) separados por grupos de tallas (G1 = 10 a 20 cm.; G2 = 21 a 30 cm.; G3 = 31 a 40 cm.; G4 = 41 a 50 cm.; G5 = 51 y mayores).

Considerando que la talla de primera madurez reportada para esta especie es de 28-34 cm. (Militelli y Macchi, 2006; Norbis y Galli, 2013) los primeros dos grupos de tallas (G1 y G2) corresponderían a individuos juveniles (Fig. 17). Mediante el test de Man-Whitney se encontró que no existieron diferencias significativas ($p > 0,05$) para el índice de circularidad (CIR) entre los otolitos de los peces que comprendieron los grupos de tallas 31 a 40, 41 a 50, y mayores de 51 cm. Y no existieron diferencias significativas ($p > 0,05$) para el índice de elipcidad (ELI) entre los otolitos de los peces que comprendieron los grupos de tallas 41 a 50, y mayores de 51 cm.

Los resultados obtenidos por los índices calculados en los otolitos de las siete especies (Tabla 12) mostraron que los otolitos de algunas de ellas, presentaron cierta similaridad, que permitieron identificar aquellas especies que compartieron características biométricas muy parecidas en sus otolitos.

Tabla 12. Sintesis de los resultados de las especies que no presentaron diferencias significativas (Mann-Whitney test) entre sus medianas (color amarillo), para cada índice entre especies y aquellas especies que presentaron los 3 mayores valores de cada índice de forma (color gris) y de los grupos de especies que aparecieron juntas en el análisis canonico discriminante (ACD) (color verde) (Pc = *Pogonias courbina*; Mf = *Micropogonias furnieri*; Cg = *Cynoscion guatucupa*; Mm = *Menticirrhus martinicensis*; Uc = *Umbrina canosai*; Mat = *Macrodon atricauda*; Pb = *Paralonchurus brasiliensis*).

INDICE/DISCRMINANTE	AGRUPACION
Circularidad (CIR)	(Mf, Uc, Pc)(Pc, Cg)
Rectangularidad (REC)	(Uc, Pb, Pc)(Uc, Pb)
Elipcidad (ELI)	(Mm, Pb, Mat)
Relación de aspecto (OH/OL)	(Pc, Mf, Uc)(Mm, Pb; Pc, Mf)
Relación de aspecto (LO/LT)	(Mf, Pb, Cg)(Mm, Pc; Cg, Mat; Pb. Mf)
Relación de aspecto (AS/AO)	(Mm, Pb, Uc)(Pc, Mat)
Análisis Canónico Discriminante (ACD)	(Mm, Pb, Mat) (Pc, Mf, Uc)

Del análisis del peso y área de los *sagitta* de las siete especies estudiadas se observo que las que presentaron otolitos más pesados (*M. furnieri, P. courbina, C. guatucupa, U, canosai y M. atricauda*) fueron las que se conoce que emiten sonido siendo que *M. martinicensis y P. brasiliensis* presentaron los menores valores de peso y área del *sagitta* (Tabla 13). Para estas dos últimas especies no se conoce que emitan sonido.

Tabla 13. Valores biométricos del otolito tomados de los peces adultos para las siete especies analizadas (TPM = talla de primera madurez: N = número de individuos; TL = longitud pez: LTO = longitud otolito; PO = peso otolito; AO = área otolito; $\overline{X}$ = promedio; ds = desvío estándar) identificándose en negrita los otolitos más pesados y con mayor área)

ESPECIE	TPM (cm)	N	$\overline{X}$ TL (cm)	$\overline{X}$ LTO (mm)	$\overline{X}$ PO (gr)	$\overline{X}$ AO (mm^2)
M. furnieri	30 – 32	30	34,0 (ds ± 3,6)	13,8 (ds ± 2,2)	**0,886** (ds ± 0,59)	**97,3** (ds ± 26,3)
P. courvina	45 – 65	25	63,2 (ds ± 14,3)	12,8 (ds ± 1,6)	**0,802** (ds ± 0,34)	**100,3** (ds ± 24,8)
P. brasiliensis	14 – 17	44	19,0 (ds ± 3,4)	7,7 (ds ± 1,1)	0,048 (ds ± 0,01)	14,6 (ds ± 4,18)
M. atricauda	22 – 23	235	33,9 (ds ± 5,8)	11,6 (ds ± 1,2)	0,173 (ds ± 0,06)	48,9 (ds ± 10,8)
M. martinicensis	16 – 22	212	32,4 (ds ± 5,7)	8,7 (ds ± 1,1)	0,062 (ds ± 0,02)	20,2 (ds ± 4,44)
C. guatucupa	28 – 32	159	39,9 (ds ± 7,7)	13,2 (ds ± 1,8)	**0,399** (ds ± 0,15)	66,4 (ds ± 15,8)
U. canosai	18 – 21	201	27,5 (ds ± 5,3)	8,8 (ds ± 1,3)	**0,251** (ds ± 0,09)	43,7 (ds ± 0,)

Discusión

El análisis morfométrico en estructuras de peces teleósteos, como es el caso de los otolitos, es fuente primaria de información para estudios taxonómicos y evolutivos (Strauss y Bond, 1990). Idealmente, cualquier aspecto que determine la formación y el cambio de una estructura morfológica debería ser considerado, incluyendo la ecología y los parámetros ambientales y en este sentido, la morfología debe "cooperar" con varias áreas de investigación de la biología. Los resultados obtenidos se pueden relacionar con la biología, hábitos de vida de las especies estudiadas, así como la adaptación de la forma y la función de los otolitos a determinado ambiente (Aguirre y Lombarte, 1999; Gauldie y Crampton, 2002; Campana, 2005; Popper et al., 2005; Taylor et al., 2020). Si bien las siete especies estudiadas difieren en sus tamaños máximos (Fig. 18) a pesar de pertenecer a la misma familia (Sciaenidae), difieren también en la forma de sus otolitos.

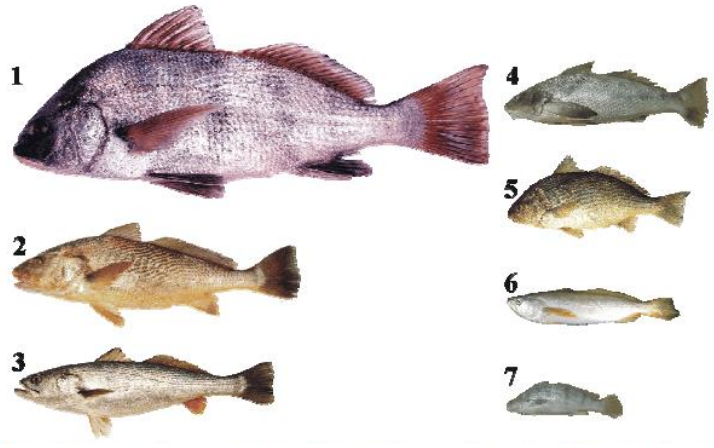


Figura 18. Fotografía de las 7 especies analizadas en este trabajo, los ejemplares son adultos y se encuentran en la misma relación de escala (1 = *Pogonias courbina*; 2 = *Micropogonias furnieri*; 3 = *Cynoscion guatucupa*; 4 = *Menticirrhus martinicensis*; 5 = *Umbrina canosai*; 6 = *Macrodon atricauda*; 7 = *Paralonchurus brasiliensis*) (Modificado de Giberto, 2008).

De la comparación de los seis índices entre especies y del análisis discriminante surgieron dos grupos de otolitos pertenecientes a diferentes especies. Un grupo formado por *P. courbina, M. furnieri* y *U. canosai* que presentaron otolitos más circulares, y otro grupo formado por *M. martinicensis, P. brasiliensis* y *M. atricauda* que presentaron otolitos más elípticos. En ese sentido, por los aportes a la función discriminante y por los resultados proporcionados por el test de comparaciones, los índices que más contribuyeron a discriminar estos grupos de otolitos fueron OH/OL, ELI, y CIR.

La relación entre la longitud del otolito *sagitta* y la longitud del pez presentó alometria negativa, creciendo más rápido el pez en longitud que el otolito en su eje anteroposterior. Estos resultados coinciden con otros autores que estudiaron esta relación en otras especies de Sciaenidae (Baldas et al., 1997; Aguirre, 2003)

El rango de valores encontrados en la relación AS/AO para las siete especies de Sciaenidae (0,25 - 0,64) es comparable a las relaciones reportadas para otros Sciaenidae, en particular del género *Cynoscion* (Aguirre, 2003). Este autor analizó ocho especies distribuidas en el Pacifico Este, Ecuador, Atlántico Oeste y Golfo de Mexico, (*C. albus* (Gűnther), *C. analis* (Jenyns), *C. arenarius* (Ginsburg), *C. nebulosus* (Cuvier), *C. nothus* (Holbrook), *C. phoxocephalus* (Jordan and Gilbert), *C. regalis* (Bloch and Schneider) y *C. squamipinnis* (Gűnther), y encontró que los rangos de la relación AS/AO variaron entre 0,430 y 0,511 (Aguirre 2003; Taylor et al.,2020).

En este trabajo la media de la relación AS/AO para *C. guatucupa* fue de 0,466, encontrándose dentro del rango descrito para el género. El *sulcus* de *C. guatucupa* presentó un crecimiento alométrico positivo y significativo (b = 1,237), coincidiendo con los resultados encontrados por Aguirre (2003) (b min = 1,12; b max = 1,259; b promedio para las ocho especies = 1,207) del mismo género. También se ha observado relaciones alométricas positivas significativas entre el área del *sulcus* y el área medial del otolito en otros grupos de peces como son las familias Merluccidae (Gadiformes), Gobiidae (gobiiformes) y Mullidae (Perciformes) (Lombarte 1992; Arellano et al., 1995; Aguirre y Lombarte, 1999).

Las siete especies analizadas presentaron altos valores de la relación AS/AO, cinco de ellas (*M. martinicensis, P. brasiliensis, U. canosai, M. furnieri,* y *P. courbina*) son especies que presentan hábitos de alimentación bentónicos asociados al sustrato, incluyendo animales que viven arriba del sedimento, o dentro del sedimento. En un ambiente como el Río de la Plata donde la penetración de la luz depende de varios factores (viento, marea y descarga de los tributarios) y presenta un gradiente desde la boca del estuario hacia su desembocadura (Framiñán y Brown, 1996; Nagy et al., 2002; Calliari et al., 2009), el aumento de la relación AS/AO podría ser una consecuencia de la disminución del campo visual favoreciendo el desarrollo de otros sentidos incluyendo (en los Sciaenidae) la presencia de poros y barbillones en la parte inferior de la mandíbula de los peces (Chao, 1978).

La mayoría de los estudios realizados, han encontrado valores de la relación AS/AO más altos, en especies que son bentónicas (como fue encontrado en este estudio), o en especies que pasan parte de su vida habitando aguas profundas (independientemente de los estadios de vida), que en las especies que habitan aguas poco profundas, presumiblemente relacionadas a la disminución del campo visual e incremento de la dependencia de otros sistemas sensoriales en aguas más profundas o turbias (Gauldie 1988; Lombarte, 1992; Lombarte y Fortuño, 1992; Arellano et al. 1995; Lombarte y Popper, 2004).

El hecho de encontrar especies presentando otolitos con similares índices morfométricos, ha llevado a tratar de encontrar características ecológicas y funcionales que expliquen esas similaridades. A continuación se analizaran varios aspectos que traten de explicar los resultados encontrados.

Morfologia de los otolitos y hábitat de las especies

Mediante el análisis de los otolitos se pueden inferir diferentes aspectos de la biología de los peces y del ambiente donde viven (Morales-Nin, 1987; Radtke y Shafer, 1992), pues la morfología y microestructura de los mismos, puede ser afectada por factores ambientales

(Lombarte y Lleonart, 1993; Arellano et al., 1995; Laidig y Ralston, 1995). Los *sagitta* de *M. martinicensis, P. brasiliensis* y *M. atricauda* fueron caracterizados por el índice ELI. De acuerdo a Avigliano et al., (2012), los otolitos con forma elíptica estarían relacionados con las especies que habitan ambientes más salinos como es el caso de *M. martinicensis*, migrante marino y *P. brasiliensis* con preferencias ambientales por desembocaduras de estuarios y aguas someras de la plataforma interna (Bacigalupo, 1984; Rico, 2000; Robert et al., 2007; Gilberto, 2008; Barletta et al., 2008; Haluch et al., 2009). Estas dos especies presentaron los otolitos más elípticos de las siete especies analizadas.

El ACD mostro a *C. guatucupa* como un grupo de transición, en relación a las otras especies, con un cambio en la forma del otolito que llevó al análisis de la variabilidad ontogenética dando como resultado otolitos con mayor circularidad para tallas menores a 31 cm y mayor elipcidad para individuos mayores a 30 cm, talla a la cual alcanzan la primera madurez (Norbis y Galli, 2013). Esta variación encontrada en los índices CIR y ELI entre los juveniles y adultos de *C. guatucupa* también podría estar asociada al cambio de los parámetros físico-químicos encontrados en los diferentes hábitats utilizados por los juveniles y adultos. En el área de estudio, *C. guatucupa* presenta una distribución espacial relacionada con la edad; los juveniles (< 2 años y menores de 30 cm) habitan aguas costeras (profundidad menor a 30 m) con menor salinidad y mayor temperatura (Ruarte et al., 2005; Jaureguizar et al., 2006) y los adultos (mayores a 31 cm) son más abundantes en aguas con mayores profundidades, mayor salinidad de fondo y menor temperatura (Jaureguizar et al., 2006; Norbis y Galli, 2013) y con otolitos que presentan formas mas elípticas (Avigliano et al., 2012).

Los índices CIR y OH/OL que aportaron de forma positiva al factor 1 y caracterizaron los otolitos de *M. furnieri, U. canosai* y *P. courbina,* como los mas circulares de las siete especies en estudio, asi como el subgupo con otolitos más circulares que corresponden a los juveniles de *C. guatucupa*. Las especies que presentaron una alta relación (OH/OL) se encuentran asociadas a fondos blandos y de hábitos bentónicos (Volpedo y Etcheverria 2003), como es el caso de *M.*

furnieri, *U. canosai* y *P. courbina*. Cousseau y Perrotta, (2000) reportaron para *M. furnieri* una relación OH/OL de 0,82 y para *U. canosai* una relación OH/OL de 0,66, coincidiendo en parte con las relaciones encontradas por este trabajo (0,77 para *M. furnieri* y 0,67 para *U. canosai*).

Las *sagittas* presentan patrones morfológicos diferentes en diferentes grupos ecológicos, los otolitos de los peces que viven asociados al fondo presentan una tendencia a ser redondeados (definidos por CIR y OH/OL). *M. furnieri* y *U. canosai* fueron caracterizadas como pertenecientes a la comunidad de peces que se encuentra en la zona de la costa Atlántica Uruguaya (Lorenzo, et al., 2011) y *M. furnieri* en conjunto con *P. courbina*, integran la comunidad de peces que se clasifican como residentes estuarinos (capaces de completar su ciclo de vida entero dentro del estuario), prefiriendo bajas salinidades y aguas más turbias, mientras que *U. canosai* si bien está caracterizado como visitante marino (desova en el mar, entrando al estuario solamente en bajos números y apareciendo en salinidades prácticamente oceánicas) también se encuentra asociado a fondos blandos como las dos especies anteriormente mencionadas (Rico, 2000; Jaureguizar et al., 2004; Giberto, 2008; Lorenzo et al., 2011).

La temperatura del Río de la Plata y la costa atlántica uruguaya presenta variaciones estacionales producto de la latitud en que se encuentra, pero no presenta variaciones importantes entre superficie y fondo, dada la escasa profundidad que posee (Nagy et al., 1997). Teniendo en cuenta estas características y de acuerdo a la bibliografía, las mayores abundancias encontradas indican que seis de las siete especies analizadas en este trabajo, no superan los 30 metros de profundidad (Fig. 1), a excepción de *U. canosai* que llega hasta los 60 metros. Para las dos especies que se encuentran a mayor profundidad y que se mueven cerca de la plataforma, *C. guatucupa* y *U. canosai*, la temperatura que pueden encontrar también presenta oscilaciones estacionales, producto de las variaciones de la convergencia subtropical (Ortega y Martinez, 2007).

Para algunas especies, la forma de los otolitos (*sagitta*) se encuentra influenciada por la temperatura del agua en la cual habitan (Lombarte y Lleonart, 1993). Existe una variablidad

estacional de la temperatura del agua (con minimos en invierno y máximos en verano) (Guerrero et al., 1997; Nagy et al., 1997; Freplata, 2004) donde habitan las especies estudiadas. Estas conforman grupos persistentes con determinadas preferencias térmicas y salinas (Lorenzo et al., 2011) y han sido caracterizadas como euritermicas y eurihalinas (*M. furnieri, P. courbina*) o estenotermicas y estenohalinas (*U. canosai, C. guatucupa*) (Cusseau y Perrota, 2000). Se ha registrado que en el área de estudio, la variabilidad estacional de la temperatura condiciona el crecimiento de los otolitos *sagitta* para los Scienidae (Haimovici, 1982, 1988; Lopez-Cazorla, 2000; Borthagaray et al., 2011) sin embargo deberían realizarse otros estudios para comprobar si existe una relación entre la forma del otolito *sagitta* y la temperatura.

Morfologia de los otolitos y parámetros biológicos (reproducción, alimentación y crecimiento) de las especies.

Diversos autores han documentado la importancia que presenta el período reproductivo en la deposición de material en el otolito (*sagitta*) de los peces, alterando su forma desde que el crecimiento del otolito se ve afectado por la energía no destinada al crecimiento somático y destinada a la reproducción. En condiciones normales, la deposición del material en el otolito se realiza en ambos ejes (anteroposterior y transversal). Para algunas especies se ha reportado que, durante la época reproductiva, la deposición de material en el *sagitta* se ve alterada de dos maneras (cantidad y calidad), modificando su forma (Morales-Nin, 1987; Karlou-Riga, 2000).

A partir de los índices de forma del *sagitta* no se pudo inferir que exista una relación entre el modo de reproducción y el hábitat de las especies, ya que los desovantes asociados al frente salino de fondo en el estuario (*P. courbina* y *M. furnieri*) (Machii et al., 2002, 2003; Militelli, 2007) presentaron otolitos más circulares como también *U. canosai* que es un desovante marino (Haimovici, 1982). Especies como *M. atricauda* y *M martinicensis* son desovantes estuarinos

(Vizziano y Berois, 1990; Acuña y Viana, 2002; Militelli, 2007) que presentaron otolitos mas elípticos.

De las siete especies analizadas, cinco son bentòfagas (*M. martinicensis, P. brasiliensis, M. furnieri; U. canosai* y *P. courbina*) (Miles, 1949; Haimovici, 1982; Harding y Chittenden, 1987; Isaac, 1988; Mauricio et al., 2007; Urteaga y Perrota, 2001) y dos nectopelagicas (*M. atricauda* y *C. guatucupa*) (Leta, 1987b; Cordo, 1986a). La alimentación de estas dos últimas especies incluye crustáceos, peces, plancton gelatinoso (medusas, ctenóforos, etc.), moluscos (calamar y calamarete) (Cousseau y Perrotta, 2000) observándose canibalismo en los adultos y sus otolitos fueron caracterizados por el índice LO/LT, (que aportó positivamente al eje 2 del análisis discriminante) lo que indicaría que poseen otolitos más largos que los de las demás especies, en relación a la talla del pez.

De acuerdo a Volpedo y Etcheverria (2003) los otolitos de las especies que presentan un comportamiento pelágico, presentan formas alargadas con un índice OH/OL cercano a 0,44; el promedio del índice para estas dos especies (*M. atricauda* y *C. guatucupa*) fue de 0,51; y las especies que se encuentran asociadas al fondo (*M. furnieri, P. courbina* y *U. canosai*) presentan otolitos que tienden a ser más redondeados (lo que se reflejó en elevados índices OH/OL (0,74 de promedio). Esto se reflejó en el análisis discriminante, que junto con la circularidad separaron estas últimas tres especies, de las demás. Su dieta consiste en: crustáceos decápodos, moluscos, camarones, anélidos, anfípodos, poliquetos y bivalvos (bentónica) (Cousseau y Perrotta, 2000), lo que reafirma lo expresado por Volpedo y Etcheverria (2003).

Numerosos autores han afirmado que el crecimiento es un factor que también puede afectar la forma de los otolitos (Wilson, 1985; Sadighzadeh et al., 2014).

Tabla 14. Especie, K = constante de crecimiento de V. Bertalanffy, E Max = edad máxima registrada para las siete especies de Sciaenidae analizadas. En fondo amarillo se identificaron las especies que presentan crecimiento lento y son más longevas

ESPECIE	(K)	(E Max)	Autor
M. furnieri	0,12-0,25	42 años	Isaac, 1988; Schwingel y Castello, 1990; Verocai, 2004; Norbis y Verocai, 2005
P. courbina	0,10-0,185	58 años	Murphy et al., 1998; Jones y Wells, 1998; Urteaga y Perrota, 2001
P. brasiliensis	0,564	5 años	Lewis y Fontoura, 2005
M. atricauda	0,61-0,68	12 años	Haimovici, 1988; Cardozo y Haimovici, 2011
M. martinicensis	1,12-0,95	6 años	Clardy, et.al. 2014, Carvalho, et al. 2021
C. guatucupa	0,22	23 años	Lopez-Cazorla, 2000
U. canosai	0,27-0,31	22 años	Yamagutti, et al 1973; Haimovici, 1982

El crecimiento de los otolitos no necesariamente se encuentra acoplado al crecimiento somático del pez, a pesar de que éstos crecen mucho más lentamente que el resto del pez. La deposición periódica de CaCO3 dentro de la matriz orgánica del otolito está fuertemente regulada por ritmos endógenos (Mugiya et al., 1981; Campana y Neilson, 1985). Por lo tanto, es posible que ocurran cambios en el tamaño del otolito que no estén sincronizados con cambios en la talla del pez. En un caso extremo, podría ocurrir que el crecimiento del pez pueda disminuir o cesar y el crecimiento incremental del otolito continúe, resultando en un desacoplamiento entre el crecimiento del otolito y el crecimiento somático del pez (Secor y Dean, 1989).

Normalmente, la lectura de las marcas de crecimiento en los otolitos, se realiza en su eje transversal, esto es debido a que el nuevo material se deposita también en dicho eje (Morales-Nin, 1987). En este trabajo se encontró que las especies que presentaron otolitos más circulares (caracterizados por los índices CIR y OH/OL) son las que aparecen como más longevas, (edades mayores a 20 años), y también fueron las que presentaron un ritmo de crecimiento más lento (K menor a 0,4) (identificadas con fondo amarillo en la tabla 14). Se ha reportado que para *M.*

furnieri y *C. guatucupa*, existe una tendencia a la acumulación de calcio en el eje transversal del sagitta que genera que los otolitos sean más circulares (Baldas et al., 1997). Gauldie y Nelson (1990), encontraron que en los otolitos también se deposita una mayor cantidad de material en la parte dorsal del núcleo (borde anterior), que en la parte ventral (borde posterior) generando que los otolitos sean más circulares.

Lo observado en el tamaño y la forma de los otolitos de *M. furnieri* y *P. courbina*, y en menor medida *U. canosai* y *C. guatucupa*, estaría en concordancia con la teoría de que las *sagitta* tienden a ser más grandes (largo y ancho) en aquellas especies que son más longevas y poseen un crecimiento más lento (Templaman y Squires, 1956; Wilson, 1985; Secor y Dean, 1989; Lychanov y Rebane, 2000). Sin embargo esta teoría no es generalizable ya que en cuatro especies de labridos que habitan en el Mediterraneo, con otolitos de tamaños relativos similares, tienen velocidades de crecimiento muy diversas (Gordoa et al., 2000).

Analisis discriminante y funcionalidad del otolito.

Las propiedades cronológicas, químicas y funcionales del otolito *sagitta* los hace adecuados y únicos como registro permanente del ambiente, las características del hábitat y biología experimentadas por los peces durante su historia de vida (Campana y Casselman, 1993). En general se sabe que la forma del otolito tiene un componente genético, otro componente ambiental, y otro biológico-funcional (Campana, 2004). La audición es un sistema sensorial crítico en los peces, y como muchos organismos, la audición está involucrada en un rango de comportamientos que incluyen navegación, orientación larval, escape de predadores, forrajeo y comunicación con individuos de su misma especie (Myrberg 1981; Fay y Popper, 2000; Popper et al., 2005; Carroll et al., 2016).

La forma y la masa de los otolitos pueden afectar la función del oído principalmente de dos maneras: (i) los otolitos pueden moverse de una manera bastante simple hacia adelante y hacia atrás cuando el cuerpo del pez se inclina o cuando el pez nada (acelera) a lo largo de los ejes

rostro-caudal o dorso-ventral, o durante los movimientos de izquierda a derecha (Flock, 1964). Por lo tanto, el movimiento de los otolitos sería inducido por la aceleración lineal debida a los cambios de posición de los peces (Hawkins y Popper, 2018). En este escenario, el movimiento del otolito dependería de la masa del otolito y, en menor medida, de la forma del otolito. De cualquier manera, las diferentes formas en el otolito podrían causar diferentes dinámicas de flujo en el fluido endolinfático cuando el otolito se mueve en relación al epitelio sensorial (Platt y Popper, 1981; Schellart y Popper, 1992) significando que el patrón de movimiento podría ser dependiente de la forma (Schulz-Mirbach et al., 2018)

Si el otolito se mueve como resultado del movimiento de partículas que emanan de una fuente de sonido, el patrón de oscilación del otolito podría ser, o bien un movimiento bastante simple si el otolito es aproximadamente esférico o elipsoidal (de Vries, 1950), o puede desviarse de ese simple movimiento en otolitos que presentan formas más complejas (Krysl et al., 2012), ej. donde tiene protuberancias (como los otolitos *sagitta* en algunas especies de Sciaenidae (Aguilera et al., 2016). La forma peculiar del otolito *sagitta* podría interpretarse aún más a la luz de una compensación entre la masa del otolito y una forma aerodinámica optimizada que permite una mejor detección de frecuencias más altas en hábitats de aguas poco profundas, transmitido a través de la vejiga natatoria, el aparato weberiano, y el canal transverso a los sáculos (Lychanov y Rebane, 2000).

Por lo tanto, el tamaño y la forma de los otolitos estarían influenciados por la frecuencia que puedan detectar y la sensibilidad (umbral auditivo) de esas frecuencias (Gauldie, 1988). Los otolitos relativamente grandes de la familia Sciaenidae son bien conocidos y se relacionan con la producción de sonido en este grupo que se conoce generalmente como corvinas o roncadores. Los Sciaenidae presentan diferencias interespecíficas en la producción de sonido (Fish y Mowbray, 1970; Fine et al., 1977b; Myrberg, 1981; Luczkovich et al., 1999; Fine y Schrinel, 2004). Este sonido lo producen por estimulación de músculos sónicos bien desarrollados que están asociados a la vejiga natatoria (Tavolga, 1964; Ladich y Fine, 2006; Tellechea et al., 2010, 2011, 2017, 2022).

Lychanov y Rebane (1993, 2000) y Kéver et al., (2014) propusieron que los otolitos *sagitta* que poseen mayor tamaño/masa repercuten en mejorar la sensibilidad de la audición a señales de baja frecuencia como lo haría cualquier masa de inercia utilizada en un sistema similar a un acelerómetro. En este trabajo, de las cinco especies que emiten sonido (*M. furnieri*, *P. courbina*, *C. guatucupa*, *U. canosai* y *M. atricauda*), las especies que presentaron otolitos más grandes fueron *M. furnieri* y *P. courbina* y las menores frecuencias dominantes de emisión de sonido (Fig. 19), confirmando la teoría de que otolitos con masas más grandes presentan una mayor sensibilidad a los sonidos de baja frecuencia (De Vries, 1950; Grant y Best, 1987; Lychakov y Rebane, 2000).

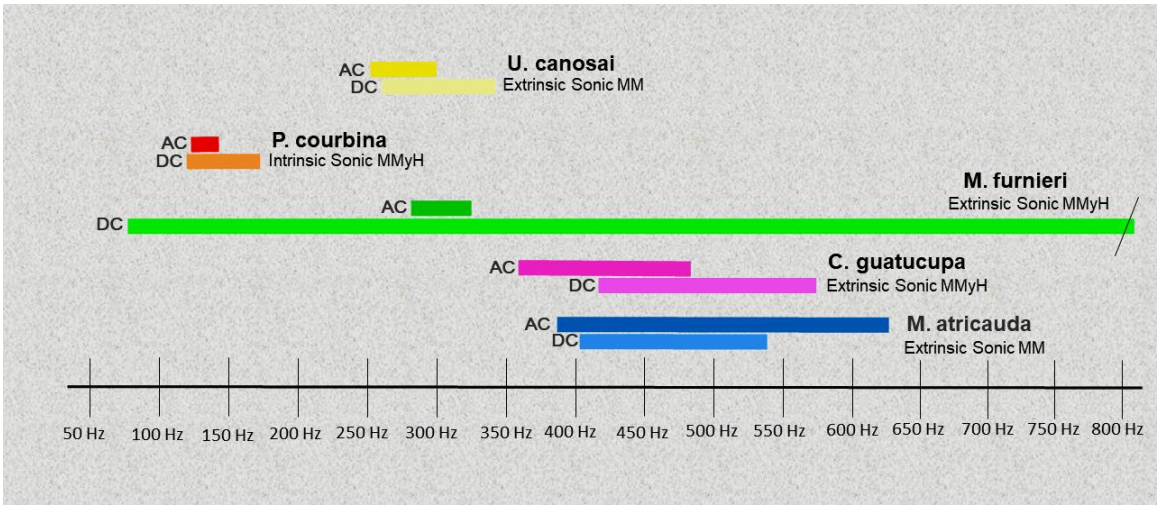


Figura 19. Frecuencias registradas por sonogramas (Hz = Hertz) emitidas por las 5 especies que emiten sonido, de las siete especies de Sciaenidae, seleccionadas para este estudio (AC = sonido de advertencia; DC = sonido de perturbación; MM = machos; H = hembras) identificando si el musculo sónico es intrínseco o extrínseco (Tellechea, 2019; Tellechea y Norbis, 2012; Tellechea et al., 2010, 2011a, 2011b, 2017, 2019).

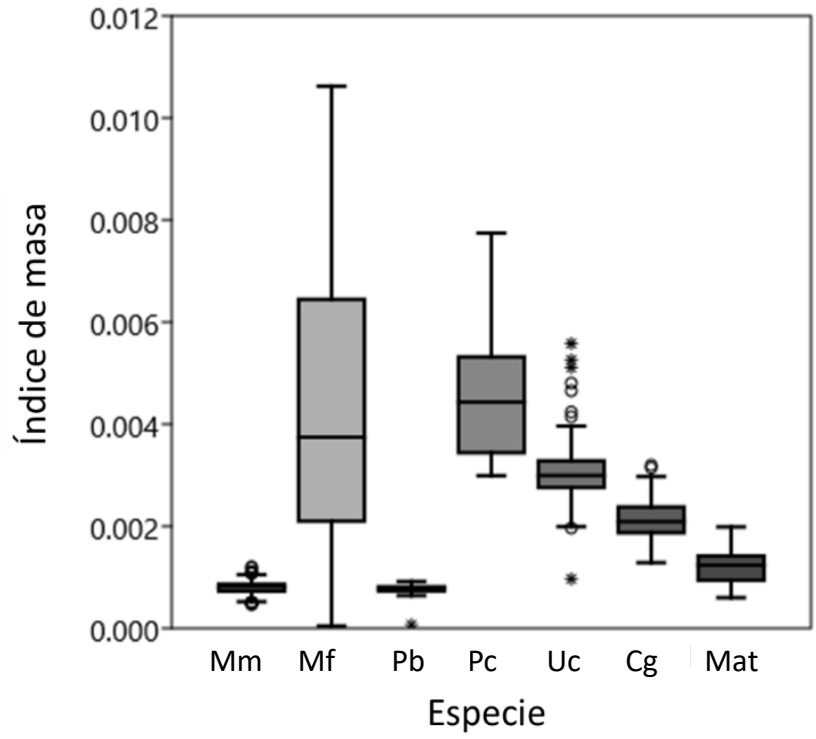


Figura 20. Valores de los índices de masa de los otolitos (Peso otolito/Largo otolito^2) *sagitta* de tomados de los peces adultos para las siete especies analizadas. (Pc = *Pogonias courbina*; Mf = *Micropogonias furnieri*; Cg = *Cynoscion guatucupa*; Mm = *Menticirrhus martinicensis*; Uc = *Umbrina canosai*; Mat = *Macrodon atricauda*; Pb = *Paralonchurus brasiliensis*).

De las siete especies analizadas en este estudio, cinco tuvieron los mayores índices de masa del otolito y producen sonido (*M. furnieri, P. courbina, M. atricauda, C. guatucupa* y *U. canosai*) (Tellechea et al., 2010, 2011a, 2011b, 2017, 2019; Tellechea y Norbis, 2012) y las tres especies que emiten en frecuencias mas bajas relacionadas al cortejo reproductivo (*M. furnieri, P. courbina y U. canosai*), fueron las que mostraron mayores índices de masa (Fig. 20).

En este estudio se utilizaron especies cuyas frecuencias dominantes fueron grabadas por lo que se tomó como dato válido, que las frecuencias que emiten esos peces son las frecuencias en que esos peces escucharían más eficientemente.

A modo comparativo se seleccionaron algunas especies con límite inferior de frecuencia dominante menor a 250 Hz colocándose la forma general del *sagitta* y la relación OH/OL que denota mayor o menor circularidad, coincidiendo con lo encontrado en este estudio, de que los peces con otolitos de formas más circulares tienden a emitir sonido en frecuencias dominantes más bajas.

Pogonias courbina	otolitos más circulares (OH/OL = 0,784) (Tellechea, et al.2011b)
Micropogonias furnieri	otolitos más circulares (OH/OL = 0,772) (Tellechea, et al.2011a)
Umbrina canosai	otolitos más circulares (OH/OL = 0,673) (Tellechea, et al.2017)
Pogonias cromis	otolitos semi-circulares (OH/OL = 0,815) (150 - 400 Hz)*; Locascio y Mann 2011

Y especies con límite inferior de frecuencia dominante mayor a 240 Hz

Cynoscion guatucupa	otolitos más elípticos (OH/OL = 0,545) (Tellechea, et al.2012)
Macrodon atricauda	otolitos más elípticos (OH/OL = 0,486) (Tellechea, et al.2019)
Cynoscion jamaicensis	otolitos más elípticos (OH/OL = 0,503) (300 – 600 Hz)
Cynoscion nebulosus	otolitos relativamente elípticos (OH/OL = 0,4) (240 – 405 Hz)* y **
Larimus breviceps	otolitos relativamente elípticos (500 – 1000 Hz)* y ***
Bairdiella ronchus	otolitos más elípticos (OH/OL = 0,268) (300 – 500 Hz)

(* Ramcharitar, et al., 2006)
(** https://www.gsmfc.org/pubs/ijf/otolith/S_Section%2005.02%20-%20Seatrout.pdf)
(**https://www.gsmfc.org/pubs/ijf/otolith/S_Section%2005.03%20-%20Black%20Drum.pdf)
(*** 2014_Rossi_Correa_Atlas otolitos)

La relación entre el musculo sónico, la vejiga natatoria, la capsula ótica, así como la morfología del otolito contribuyen de manera importante a la emisión y recepción de sonido en los peces (Ramcharitar et al., 2004). Las ideas sobre la física que gobierna la producción de sonido a través del aparato muscular sónico y de la vejiga natatoria, han evolucionado a medida que ha crecido la comprensión de los principios acústicos generales y su relación con la forma del otolito (Ramcharitar et al, 2006). De las cinco especies analizadas que producen sonido, solamente *P. courbina* posee musculo sónico intrínseco en ambos sexos y en los machos se registraron cambios

durante la temporada de desove, época en que produce sonidos relacionados con la reproducción (Tellechea et al., 2022). *M. furnieri*, presenta musculo sónico extrínseco en ambo sexos y también solo los machos generan sonido durante el cortejo reproductivo (Tellechea et al., 2010, 2011). Por otra parte, solo los machos de tres especies (*U. canosai*, *C. guatucupa*, y *M. atricauda*) presentan musculo sónico para generar sonido durante la época de reproducción (Tellechea y Norbis, 2012; Tellechea et al., 2017 y 2022). Las especies que presentaron otolitos más circulares (*P. courbina*, *M. furnieri* y *U. canosai*), fueron las más longevas, con un crecimiento más lento, son bentofagas (Puig, 1986: Olsson et al., 2013), presentan mayor masa de sus otolitos (este trabajo), emiten sonidos de baja frecuencia y con mayor cantidad de pulsos que las especies *C. guatucupa* y *M. atricauda*, con otolitos elípticos, nectopelagicas y que emiten sonidos en frecuencias mayores y con menor cantidad de pulsos. En este sentido la morfología del otolito *sagitta*, podría estar relacionada con la recepción del sonido, y a los hábitos de vida de estas especies.

Conclusiones

- Se encontró un patrón de forma, del *sagitta*, común compartido por todas las especies: Largo mayor que el ancho, la cara interna presenta un *sulcus* nítido y claramente dividido en *ostium* y *cauda* heterosulcoide y pseudo-ostial (abertura del *ostium* secundaria). *Ostium* y *cauda* con profundidades diferentes, la *cauda* más profunda que el *ostium*, angulosa y curvada ventralmente o en forma de gancho. Sin rostro y antirostro.

- En *M. furnieri*, *P. courbina* y *M. martinicensis* se encontró que existiría un crecimiento mayor del *sulcus* a medida que el pez aumenta en longitud. En *P. brasiliensis*, *M. atricauda*, *C. guatucupa* y *U. canosai*, se encontró un crecimiento del *sulcus* que acompaña el crecimiento en longitud del pez.

-- De las siete especies analizadas, las que presentaron otolitos más circulares (CIR) (*M. furnieri*, *P. courbina* y *U. canosai*), son bentónicas, fueron las más longevas y con un crecimiento

más lento, lo que llevó a inferir que existe una correlación entre la forma del otolito y el crecimiento de las especies.

- **Las especies que emiten sonido a frecuencias mas bajas (mayor penetración y alcance en el medio acuático), presentaron otolitos mas circulares y con mayor masa (*M. furnieri, P. courbina* y *U. canosai*), frecuentan habitats con mayor turbiedad del agua, compensando asi el menor campo visual, contribuyendo a una explicación funcional del *sagitta*.**
- Es muy complicado establecer el nivel de adaptación de los sistemas sensoriales para funcionar en las condiciones específicas del hábitat de cada una de las siete especies analizadas en este trabajo, y determinar su mecanismo exacto. La comprensión de la forma-función de una estructura como el otolito (*sagitta*) debería tomarse como una pieza más dentro de la maquinaria metabólica-funcional adaptativa que conforma la totalidad para cada una de las especies. Inclusive deberían considerarse las variaciones que ocurren durante el desarrollo ontogenético y el crecimiento de los individuos. Por ejemplo, deberia conocerse la función de los otros dos pares de otolitos dentro del aparato vestibular y también debería relacionarse con la estructura anatómica del pez, forma y tamaño de las aletas.

CAPITULO III. Forma-función del *sulcus acusticus* del otolito *sagitta* en siete especies de la familia Sciaenidae (Acanthuriformes) utilizando morfometría geométrica (Atlántico suroeste).

Manuscrito publicado en la revista: **Journal of Fish Biology**: "Form-function of the *sulcus acusticus* of the *sagittae* otolith in seven Sciaenidae (Acanthuriformes) species using geometric morphometrics (Southwestern Atlantic)". Journal of Fish Biology, (2023) 103: 1199 - 1213 https://doi.org/10.1111/jfb.15521.

Resumen

La morfología de los otolitos determina la función que desempeñan, y está influida por factores genéticos y ambientales. Conocer esas relaciones es necesario para comprender el papel de la audición en los peces. Los objetivos de este trabajo fueron: explorar la forma del *sulcus* del otolito *sagitta* en siete especies de Sciaenidae, en relación con la producción de sonido, y analizar si la forma y el tamaño del *sulcus* podrían utilizarse como carácter filogenético. Para ello, se realizó un análisis de morfometría geométrica utilizando los datos de los puntos de referencia (landmarks). Se comprobó que existe una influencia del tamaño en la forma del sulcus, y se hallaron diferencias significativas entre las formas del sulcus. Se identificaron tres formas generales del *sulcus*: (1) en especies que producen sonidos a frecuencias dominantes <350 Hz, la deformación del *sulcus* mostró una tendencia hacia la circularidad del *ostium*; (2) en especies que producen sonidos a frecuencias >350 Hz, el *ostium* mostró una forma ovoide aplanada, y la *cauda* aumentó su longitud; (3) las especies que no producen sonidos, no mostraron modificaciones relativas a la forma de consenso. A pesar de encontrar especies que presentaron formas de *sulcus* similares en la filogenia, los resultados no confirmaron que este se pueda utilizar como un carácter filogenético. Se discute si los efectos combinados del legado filogenético y la selección funcional natural han conducido a una evolución convergente para la forma del *sulcus*. Las diferencias que presenta el *sulcus* de especies que ocupan el mismo clado, podría indicar que existe un desplazamiento de caracteres. El *sagitta* y la mácula sensorial son estructuras altamente plásticas que están sometidas a una fuerte presión evolutiva en relación con factores ambientales y de comportamiento, dando lugar a una gran variabilidad en las formas que pueden asociarse a un carácter específico. La variación en la forma del *sulcus* permitiría a las especies analizadas

coexistir en los mismos escenarios sonoros costeros, sin perder sus necesidades auditivas particulares, incluso en caso de solapamiento de sus áreas de distribución espacial y temporal.

Received: 28 May 2023 | Revised: 1 August 2023 | Accepted: 2 August 2023
DOI: 10.1111/jfb.15521

REGULAR ARTICLE

JOURNAL OF FISH BIOLOGY fsbi

Form function of *sulcus acusticus* of the *sagittal* otolith in seven Sciaenidae (Acanthuriformes) species using geometric morphometrics (southwestern Atlantic)

José E. Verocai[1] | Fernanda Cabrera[2] | Antoni Lombarte[3] | Walter Norbis[4,5]

[1]Department of Oceanography and Marine Ecology, Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay
[2]Instituto de Ciencias Geológicas, Departamento de Paleontología, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay
[3]Institut de Ciències del Mar—CSIC—Barcelona, Barcelona, Spain
[4]Department of Animal Biology, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay
[5]Departamento de Biología, Dirección Nacional de Recursos Acuáticos, MGAP, Montevideo, Uruguay

Correspondence
José E. Verocai, Department of Oceanography and Marine Ecology, Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Montevideo 11400, Montevideo, Uruguay.
Email: otolito@fcien.edu.uy

Funding information
Programa de desarrollo de las ciencias basicas (PEDECIBA)

Abstract

The morphology of otoliths determines the function they perform, and it is influenced by genetic and environmental factors. Knowing those relationships is necessary to understand the role of hearing in fish. The objectives of this work were: exploring the shape of the *sulcus* of the *sagittal* otolith in seven species of Sciaenidae, in relation to sound production, and analyzing whether the shape and size of the *sulcus* can be used as a phylogenetic character. For this purpose, geometric morphometry analysis was carried out using landmarks data. It was found that there is an influence of size on the shape of the *sulcus*, and significant differences were found between the shapes of the *sulcus* (permutational multivariate analysis of variance). Three general shapes of the *sulcus* were identified (using principal component analysis, canonical variate analysis, and clustering): (1) in species that produce sounds at dominant frequencies <350 Hz, the deformation of the *sulcus* showed a tendency towards circularity of the *ostium*; (2) in those species that produce sounds at frequencies >350 Hz, the *ostium* showed a flattened ovoid shape, and the *cauda* increased its length; (3) the species that do not produce sounds, did not show any modifications, relative to the form of consensus. Despite finding sister species that presented similar *sulcus* shapes in the phylogeny, the results did not confirm that this can be used as a phylogenetic character. This work discusses whether the combined effects of phylogenetic legacy and natural functional selection have led to convergent evolution for the *sulcus* form. The differences presented by the *sulcus* of species that occupy the same clade, could indicate that there is a displacement of characters. The *sagittal* otolith and the sensory *macula* associated with the *sulcus acusticus* are highly plastic structures that are subject to strong evolutionary pressure in relation to environmental and behavioral factors, resulting in great variability in shapes that can be associated with a specific character. The variation in the shape of the *sulcus* would allow the analysed species to coexist in the same coastal soundscapes, without losing their particular hearing needs, even in case of overlapping their spatial and temporal distribution areas.

KEYWORDS
evolution, geometric morphometrics, *sagittal* otolith, sound production, *sulcus*

 © 2023 Fisheries Society of the British Isles.

1 | INTRODUCTION

The *sagittal* otolith is a calcified structure found in the inner ear of teleost fish (Bagenal, 1974; Gauldie & Nelson, 1990; Morales-Nin, 1987). Its function within the auditory system is to sense acceleration as well as position in the water column. It is a component of the system responsible for hearing in fish and detects the two components of the mechanical wave that produces sound: (1) directly by differential displacement (between otolith and rest of the body) of movement of particles that generates a wave and (2) through the swim bladder due to the change in pressure produced by the same mechanical wave that produces sound, with the shape of the otolith determining particular frequencies for which it acts as a transducer (Gauldie, 1988; Popper & Coombs, 1980). The study of otolith shape associated with its function has been carried out using traditional morphometric measures, shape indices, Fourier coefficients, wavelet decomposition methods, and geometric morphometry analysis (V.M. Tuset et al., 2006; V.M. Tuset et al., 2016; Zischke et al., 2016). The *sulcus acusticus* is an important part of the otolith; it consists of a groove located on the medial surface of the *sagitta* and functions as a connection between the sensory epithelium (*macula*) and the otolith (Popper et al., 2005; Tuset et al., 2008). Because the area of the *macula* and that of the *sulcus acusticus* are similar in size and shape, analysis of the *sulcus* has been used to infer the hearing ability of fish (Gauldie, 1988).

Variations in sulcus shape have been analysed in studies that comprised growth rate (*sulcus* vs. otolith), mechanistic-functional, ecomorphological, phylogenetic, biodiversity, and acoustic studies (Gauldie, 1988; Lombarte, 1992; Lombarte et al., 2010; Lombarte & Fortuño, 1992; Torres et al., 2000). Acoustic studies have acquired special interest within the Sciaenidae, given that many of them are characterized by large otoliths (*sagitta*); they also possess interspecific differences in sound production and have been used as a model to understand the relationship between otolith form and function inside the auditory system (Chao, 1978; Luczkovich et al., 1999; Ramcharitar et al., 2001; Verocai et al., 2023). In this sense, inferring the phylogenetic history of change in the shape of a structure is one of the main goals of comparative biology (Klingenberg & Gidaszewski, 2010). Geometric morphometrics, in combination with multivariate analysis techniques such as principal component analysis (PCA) or canonical variable analysis (CVA), can be used to investigate the evolution of shape, as it has been done for traditional characters (Brooks & McLennan, 1991). A phylogenetic signal can be defined as the degree to which the relationship among taxa is associated with their phenotypic similarity (Blomberg et al., 2003; Cardini & Elton, 2008), and phylogenetic trees can be projected into morphometric space, so as to visualize the phylogenetic history of morphometric characters (Klingenberg & Ekau, 1996; Sidlauskas, 2008; Stayton, 2005).

The swim bladder is one of the most important organs for sound production in Sciaenidae (Chao, 1978; Connaughton et al., 2000; Ramcharitar et al., 2006). And it is known that the otoliths of the Sciaenidae work in concert with the swim bladder in the reception of sensory stimuli (Ramcharitar et al., 2001), and the response to an auditory need could be different for each of the species and consequently for each species its form, function, and adaptive functionality, in relation to the characteristics of the environment where they live. Taking into account the particular characteristics of this family, the aim of this work was to comparatively analyse the *sulcus* shape of the *sagittal* otoliths of seven species of Sciaenidae inhabiting the estuary of the Rio de la Plata and the marine front of the Uruguayan coasts (southwestern Atlantic) in relation to sound production as a functional adaptation as well as exploring the possible presence of a phylogenetic signal through its shape. In this sense, the questions to be answered were as follows: how much information does the shape of the *sulcus* provide in relation to the phylogenetic trees published for the species analysed, and will the phylogenetic signal of the *sulcus* shape be in harmony with the phylogeny described in previous works?

2 | MATERIALS AND METHODS

Seven species of Sciaenidae that inhabit the Uruguayan coasts of the Río de la Plata and seafront were chosen (*Cynoscion guatucupa*, *Macrodon atricauda*, *Menticirrhus martinicensis*, *Micropogonias furnieri*, *Paralonchurus brasiliensis*, *Pogonias courbina*, and *Umbrina canosai*). These species frequent different habitats (estuarine or marine), (Lorenzo et al., 2011; Nion et al., 2013; Norbis et al., 2006), and some of them are of considerable commercial interest, reporting more than 30,000 t in 2022 (Comisión Técnico Mixta del Frente Marítimo, 2023) (Table 1).

The Río de la Plata (Figure 1) is located on the east coast of South America between 34°00′–36°10′ S and 55°00′–58°10′ W and constitutes a large estuary, where the second hydrographic basin of the continent converges (Ecoplata Team, 1996; Freplata, 2004); it features an estuarine regime in its middle and outer parts, with a wide free connection with the open sea, high turbidity, and a high biological productivity and dynamics, determined by the contribution of both the Atlantic Ocean and the Paraná and Uruguay Rivers. The Atlantic Ocean is influenced by the Brazilian and Malvinas currents, with average salinities of 32 and greater transparency than the estuarine waters (Ecoplata Team, 1996; Framiñán et al., 1999; Framiñán & Brown, 1996; Guerrero et al., 1997).

Fishes were collected by the *B/I Aldebarán* that belongs to the National Directorate of Aquatic Resources (DINARA), over the course of the coastal resource assessment campaigns. The total length (cm) was obtained from the individuals of each species; the *sagittal* otoliths were extracted, cleaned, dried, and preserved in paper envelopes, with the identification of the geographic position, date, and depth of capture. Otoliths from mature individuals were used to minimize the effect of ontogenetic variations. Geometric morphometry was used to compare the *sulcus* shape differences, given that this technique is highly effective for discrimination, visualization, and quantification of shape variation (Monteiro et al., 2005; Ponton, 2006).

Each right *sagittal* otolith was oriented with the mesial surface upward, under a magnifying glass (OLYMPUS SZ61) equipped with a

TABLE 1 Species analysed, fishery situation, habits, and sound production.

Species	Fisheries	Habits	Sound	Prof. (m)	N
Macrodon atricauda	Commercial importance	Nectopelagic	Yes	10	54
Menticirrhus martinicensis	Commercial importance	Benthic	No	<10	47
Micropogonias furnieri	Fully exploited	Benthic	Yes	20	25
Paralonchurus brasiliensis	By-catch	Benthic	No	23	22
Umbrina canosai	Commercial importance	Benthic	Yes	55	17
Cynoscion guatucupa	Fully exploited	Nectopelagic	Yes	18	27
Pogonias courbina	Commercial importance	Benthic	Yes	14	18

Abbreviations: *N*, number of individuals analysed; Prof., average depth.

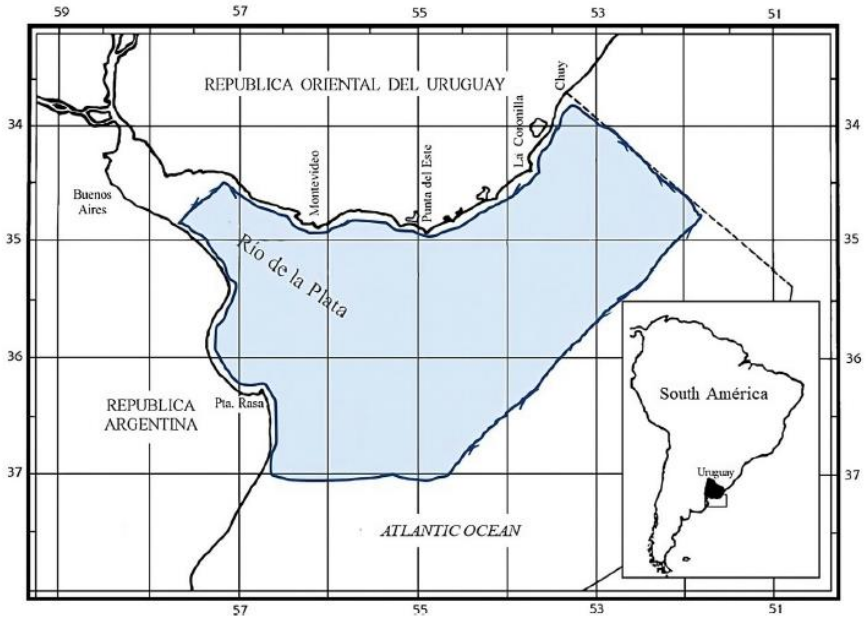


FIGURE 1 Map of the study area off the Uruguayan coast indicating (shaded area) the sampling site.

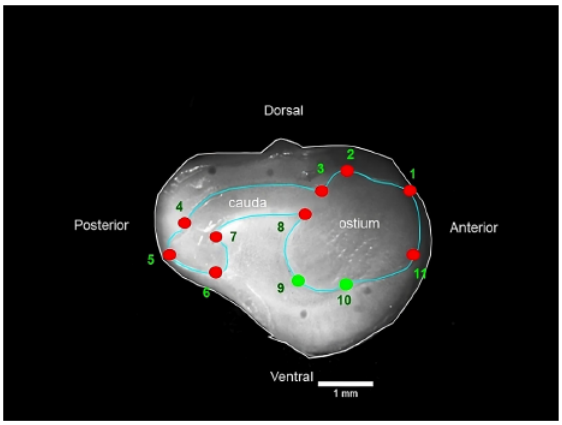


FIGURE 2 Medial side of the left *sagittal* otolith showing landmarks (red dots) and semilandmarks (green dots) designed to capture the shape of *sulcus acusticus* (sky blue).

camera connected to a computer Lumenera Infinity 1 camera using Infinity Capture software. All images ($n = 210$) were calibrated and processed using Image J. (version 1.5.0), and each image was transferred to the TpsDig (version 2.10) programme (from the TPS RohIf package, 2006) to manually digitize the position of 11 landmarks based on some criteria proposed by Monteiro et al. (2005), Lombarte et al. (2010), and Chollet-Villalpando et al. (2019). The landmarks were selected based on the criterion of operational homology (Marcus et al., 2000), and their distribution was as follows: 1 and 11 indicate the anterior parts of the *ostium* border; 2 indicates the location where the upper *crista* of the *ostium* changes its curvature; 3 and 8 indicate the position, size, and symmetry of the constriction between the *ostium* and the *cauda*; 4 and 7 indicate the location where the dorsal and ventral sides of the *cauda* change its curvature; 5 and 6 provide the position and symmetry of the most distal points of the *cauda*; 9 and 10 show the site where the lower *crista* of the *ostium* changes its curvature (semilandarks) (Figure 2).

2.1 | Superimposition and alignment

Landmarks were superimposed using generalized procrustes analysis, using the average of all individuals as a reference (Cardini & Loy, 2013; Zelditch et al., 2004). This procedure eliminates the differences caused by scale, position, and orientation (Rohlf & Slice, 1990). Subsequently, the centroid size of each individual and the consensus shape of the *sulcus* were obtained for all species (by averaging the *x*- and *y*-coordinates of the landmarks). To show the arrangement of points in shape space, a PCA was performed using the covariance matrix, with shape coordinates computed for all individuals of the seven species (Jolliffe, 2002; Marcus, 1990; Neff & Marcus, 1980). In all cases where a PCA was performed, the first two principal components were plotted, on account of containing the maximum amount of variation.

For allometry detection and minimizing size differences among otolith *sulcus*, multivariate regression was performed, using the centroid logarithm. When allometry was detected, the remaining analyses were performed using the regression residuals, instead of the raw aligned data (Cardini & Loy, 2013). Using the regression residuals, a covariance matrix was obtained, from which a PCA was performed; then, the average *sulcus* shape per species was calculated, and a PCA was performed on them to obtain the *sulcus* shape variation for each of the species. To find the differences among species groups, a CVA was performed using a permutation test (Viscosi & Cardini, 2011). For testing of significant differences among species *sulcus*, a permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) ($N = 9999$ permutations) was employed, using Euclidean distances (Anderson, 2001; Legendre & Legendre, 2012).

To explore the similarities among *sulcus* shapes, a cluster analysis was performed using the UPGMA algorithm (Legendre & Legendre, 2012), with the values of the Procrustes distances obtained from the CVA. For regression analysis, PCA and CVA, the software MorphoJ (version 1.07a) (Klingenberg, 2011) was used. For one-way PERMANOVA, PAST (version 4.03) was used (Hammer & Harper, 2001). Information regarding which species produce or do not produce sound, in addition to which were the dominant frequencies, was obtained from the following works: J.S. Tellechea et al. (2010), Tellechea, Bouvier, et al. (2011), Tellechea, Norbis, et al. (2011), Tellechea and Norbis (2012), J.S. Tellechea et al. (2017), Tellechea (2019), and J.S. Tellechea et al. (2022).

The procedure to detect phylogenetic signal was based on mapping morphometric data onto a known phylogeny (Klingenberg & Gidaszewski, 2010) of the Sciaenidae that inhabits our region, based on otolith and fish morphometrics, (Chao, 1978) as well as molecular information (Lo et al., 2015). These phylogenies were modified by removing species that were not analysed in this work, using the Mesquite programme (Maddison & Maddison, 2021). To investigate whether the morphometric data contained a phylogenetic signal, the permutation-based test proposed by Klingenberg and Gidaszewski (2010) was used for simulating the null hypothesis of the complete absence of the phylogenetic structure by randomly reassigning the phenotypic data to the terminal nodes of the phylogeny. Therefore,

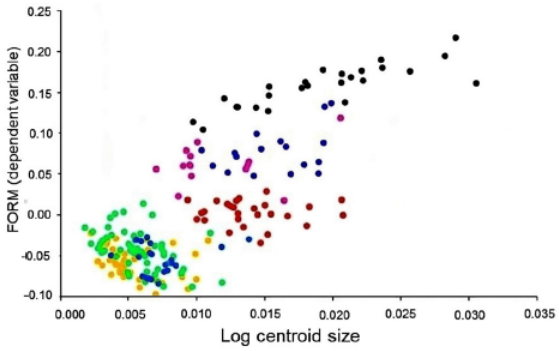


FIGURE 3 Multivariate regression of shape variables (*y*-axis) on log of centroid size (*x*-axis) for 207 *sulcus* of the seven species analysed (blue, *Pogonias courbina*; purple, *Umbrina canosai*; black, *Micropogonias furnieri*; green, *Macrodon atricauda*; sky blue, *Paralonchurus brasiliensis*; yellow, *Menticirrhus martinicensis*; red, *Cynoscion guatucupa*).

10,000 random permutations were used. Otolith *sulcus* from close species should occupy the same portion of the morphometric space, whereas otolith *sulcus* from more distant species should be found in different and possibly distant locations. If the test is significant, it indicates that the data present a phylogenetic structure (Klingenberg & Gidaszewski, 2010). To reconstruct and visualize the phylogenetic history of centroid size change, the phylogenetic tree was projected onto a univariate space, and the centroid logarithms were plotted on it. This approach explains how specific clades diversified and spread across centroid size variable space (Klingenberg & Gidaszewski, 2010).

2.2 | Evolutionary allometry

Evolutionary change in shape associated with evolutionary change in *sulcus* size was explored (Klingenberg & Marugán-Lobon, 2013). To determine the extent to which variation in *sulcus* shape among species is evolutionarily associated with size variation (Klingenberg, 1996), a multivariate regression of *sulcus* shape relative to *sulcus* size was performed. This was accomplished using phylogenetically independent contrasts (Felsenstein, 1985) of Procrustes coordinates as shape variables against independent contrasts of the centroid logarithm as a measure of size (Klingenberg & Marugán-Lobon, 2013).

2.3 | Ethics statement

The present work was approved by the DINARA (National Direction of Aquatic Resources), Ministry of Livestock, Agriculture and Fisheries, Uruguay, in agreement with the Faculty of Sciences and follows the animal care procedures of the Honorary Commission for Animal Experimentation (CHEA in Spanish) of the University of the Republic, Uruguay.

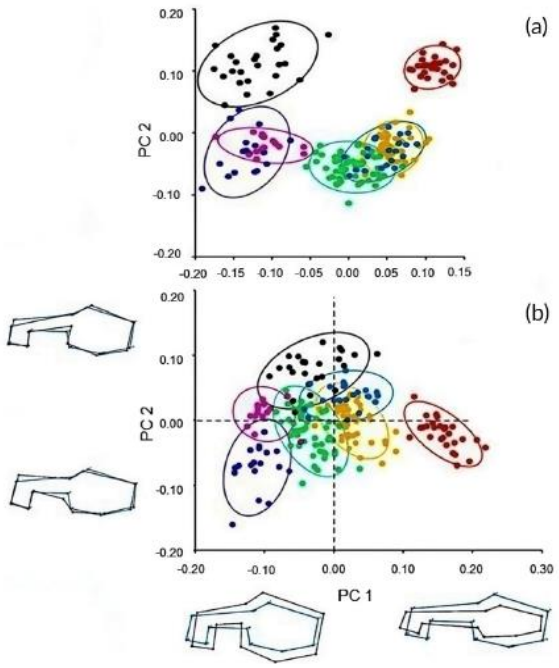


FIGURE 4 Distribution of the *sulcus* forms of the seven species in relation to the first two principal components (blue, *Pogonias courbina*; purple, *Umbrina canosai*; black, *Micropogonias furnieri*; green, *Macrodon atricauda*; sky blue, *Paralonchurus brasiliensis*; yellow, *Menticirrhus martinicensis*; red, *Cynoscion guatucupa*). (a) not allometric corrected; (b) allometric corrected (representation of shape changes associated with positive and negative scores on PC1 and PC2).

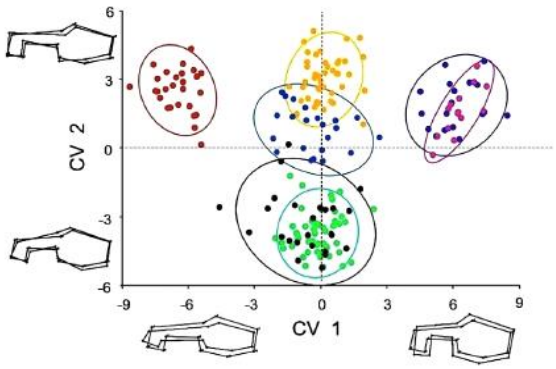


FIGURE 5 CVA (canonical variable analysis) plot showing CV1 and CV2, with representation of shape changes associated with negative and positive values of each of the CVs (blue, *Pogonias courbina*; purple, *Umbrina canosai*; black, *Micropogonias furnieri*; green, *Macrodon atricauda*; sky blue, *Paralonchurus brasiliensis*; yellow, *Menticirrhus martinicensis*; red, *Cynoscion guatucupa*).

3 | RESULTS

Of the 210 *sulcus* images that were processed, 3 individuals that deviated strongly from the average shape were eliminated. *M. furnieri* and *C. guatucupa* presented higher centroid values than the rest of the species (*M. furnieri* = 14.51, *C. guatucupa* = 13.90, *P. courbina* = 12.47, *P. brasiliensis* = 12.24, *M. atricauda* = 10.62, *U. canosai* = 8.88, and *M. martinicensis* = 8.40).

Despite working only with adult individuals, multivariate regression showed the existence of a positive interspecific relationship that associates size with otolith *sulcus* shape (Figure 3), being more apparent for the *sulcus* of *M. furnieri*, *U. canosai*, and *P. courbina*. In some species (e.g., *C. guatucupa*), both smaller and larger *sulcus* share the same shape. Multivariate regression showed that there is a significant allometric effect on *sulcus* shape variation (19.0% predicted, $p < 0.0001$) (Figure 3).

3.1 | Principal component analysis

The first two eigenvalues of the PCA (PC1 and PC2), performed using the uncorrected data for allometry, explained 62.3% of the total variation and showed a separation of the shape of the *sulcus* from *C. guatucupa*, and *M. furnieri*, from the other species, and two other form groups (*U. canosai* and *P. courbina*) and *M. martinicensis*, *M. atricauda*, and *P. brasiliensis* (Figure 4a). Using the data corrected for allometry, the first two eigenvalues explained 55.7% of the total variance (41.3% for PC1 and 14.4% for PC2, respectively) (Figure 4b).

PC1 showed a gradient from a more rounded *ostium* and shorter *cauda* belonging to *P. courbina* and *U. canosai* (negative PC1 values) to a narrower and more elongated *ostium* and longer *cauda* belonging to *C. guatucupa* (positive PC1 values). The greatest variations in PC1 were observed in landmarks 10, 2, and 11 (change in upper and lower *crista* curvature of the *ostium* and the anterior border of the *ostium*). The deformation grid of PC1 (negative to positive values) showed that the direction of change occurred in the size of the *ostium* as well as in the elongation (or its absence) of the *cauda*. PC2 showed fewer obvious changes in *sulcus* shape. The landmarks associated with PC2 were 3, 8 (position, size, and symmetry of the constriction between *ostium* and *cauda*), and 4 (change in curvature of the upper *crista* of the *cauda*).

The permutation test applied to the CVA was highly significant ($p < 0.0001$). The first two canonical factors of the CVA explained 67.15% of the total variation (Figure 5). CV1 separated three form groups of *sulcus*: (*C. guatucupa* integrated a single shape pattern; *P. courbina* and *U. canosai* integrated the second group; and *M. martinicensis*, *M. atricauda*, *P. brasiliensis*, and *M. furnieri* integrated the third group). The landmarks in which the greatest changes were observed were 10, 2, 4, 8, and 1, which corresponded to the superior and inferior *cristae* of the *ostium* (10 and 2), upper *crista* where the *cauda* changes its curvature (4), constriction between the *ostium* and the *cauda* (8), and the border of the anterior part of the *ostium* (1). The CV2 separated two shape groups of the *sulcus*: one comprising *C. guatucupa*, *M. martinicensis*, *P. brasiliensis*, *P. courbina*, and

U. canosai, and the other comprising *M. atricauda* and *M. furnieri*. The greatest changes occurred in landmarks 3, 10, 11, 7, and 4, which corresponded to the lower *crista* of the *ostium* (10 and 11), constriction between the *ostium* and the *cauda* (3), upper *crista* (4), and lower *crista* (7), where the *cauda* changes its curvature (Figure 5).

PCA performed using the *sulcus* shape averages by species (residuals of the regression between shape and size) showed that PC1 separated *C. guatucupa* from the other species and that *P. courbina* and *U. canosai* are both in the same plane, as well as separated from the other species. The first two eigenvalues explained 78.8% of the total variance (Figure 6). Permutation analysis showed that differences among groups (species) using Mahalanobis and Procrustes distances were all significant ($p < 0.0001$). The PERMANOVA performed using the Procrustes distances and applying the Bonferroni correction showed significant differences between all otolith *sulcus* shapes of each species ($F = 58.73$, $p = <0.005$). Reconstruction of *sulcus* shape change in the cladogram based on Procrustes distances showed a divergence between two main clades (UPGMA; Figure 7), which coincides with the results obtained using CV1 (Figure 5).

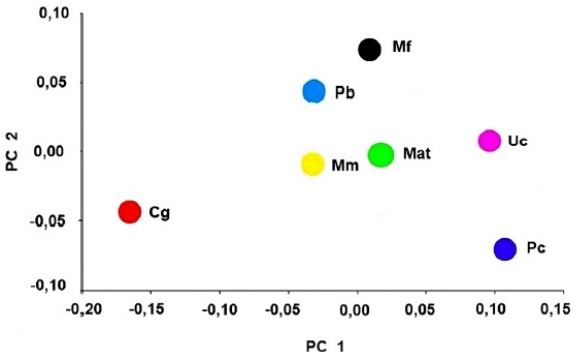


FIGURE 6 Average shape variation in the *sulcus acusticus* by species shows shape changes associated with positive and negative scores in the PC1 and PC2 Cg, *Cynoscion guatucupa*; Mat, *Macrodon atricauda*; Mf, *Micropogonias furnieri*; Mm, *Menticirrhus martinicensis*; Pb, *Paralonchurus brasiliensis*; Pc, *Pogonias courbina*; Uc, *Umbrina canosai*.

3.2 | Testing phylogenetic signals in morphometric data

A simple visual inspection of the phylogenetic tree proposed by Chao (1978, otoliths), superimposed on a graph with the first two principal components, suggests a possible existence of a phylogenetic signal (Figure 8a). However, the permutations test confirmed that there is no significant phylogenetic signal in the data for otoliths ($p = 0.0051 > 0.0001$; Chao, 1978), for fish ($p = 0.6175 > 0.0001$; Chao, 1978), and for molecular genetics ($p = 0.2265 > 0.0001$; Lo et al., 2015) (Figure 8a–c). Reconstruction of evolutionary shape changes in the phylogeny proposed by Chao (1978) (otolith and fish morphology) and the contribution of molecular genetics (Lo et al., 2015) (Figure 9) showed convergence between sister groups *P. courbina* and *U. canosai* (node 3 in Figure 9). On the contrary, it was

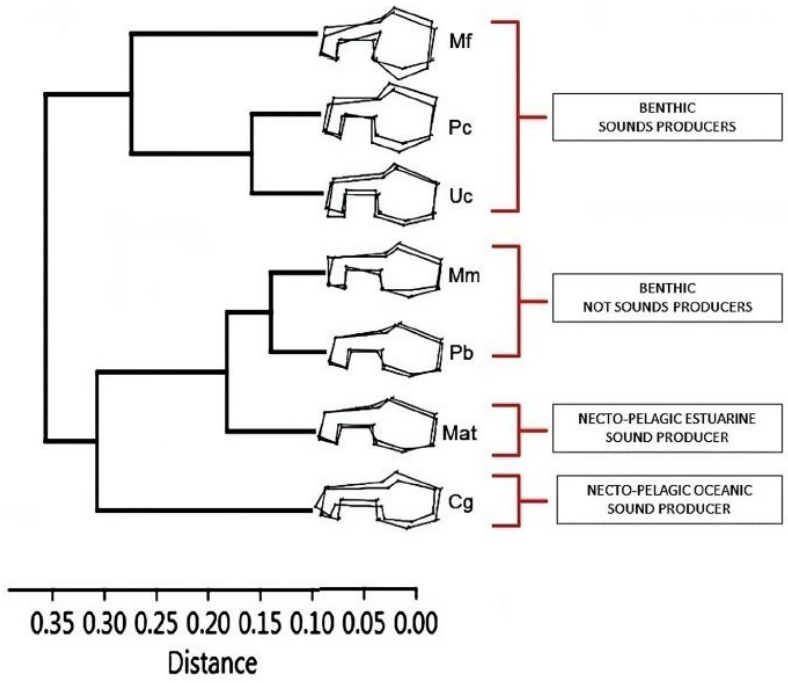


FIGURE 7 Overall multivariate pattern of shape similarity among seven Sciaenidae species based on Procrustes distances (UPGMA phenogram) computed using the CVA (canonical variable analysis) scores (species are identified by their feeding habits, environment, and sound production). Cg, *Cynoscion guatucupa*; Mat, *Macrodon atricauda*; Mf, *Micropogonias furnieri*; Mm, *Menticirrhus martinicensis*; Pb, *Paralonchurus brasiliensis*; Pc, *Pogonias courbina*; Uc, *Umbrina canosai*.

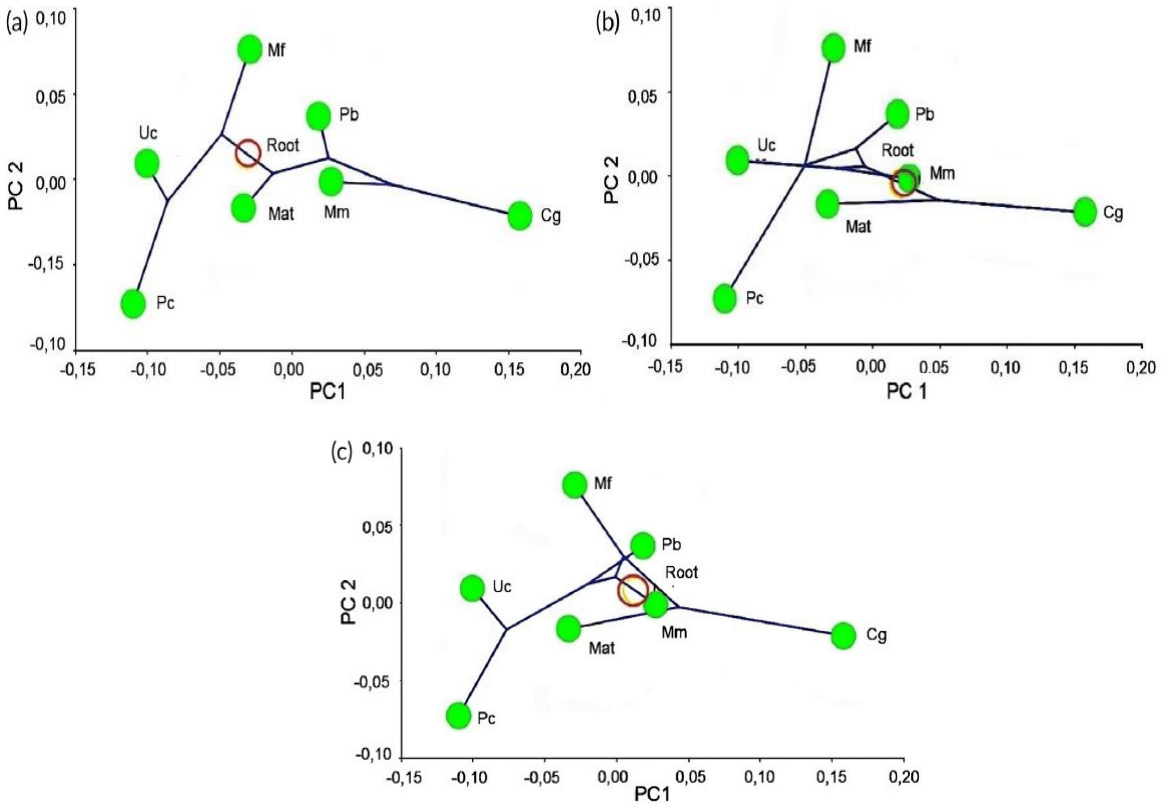


FIGURE 8 Phylogenetic trees superimposed on a plot of the first two principal components of the covariance matrix among species means (a, Chao, 1978, otoliths; b, Chao, 1978, fish morphometric; c, Lo et al., 2015, molecular). The tips of the terminal branches are at the location of species means. Cg, *Cynoscion guatucupa*; Mat, *Macrodon atricauda*; Mf, *Micropogonias furnieri*; Mm, *Menticirrhus martinicensis*; Pb, *Paralonchurus brasiliensis*; Pc, *Pogonias courbina*; Uc, *Umbrina canosai*.

observed that two sister species in the phylogeny, *C. guatucupa* and *M. atricauda*, were found to be distant in shape space (node 5 in Figure 9). Most of the shape divergence is not contained within a larger clade, suggesting a weak phylogenetic structure in *sulcus* shape variation.

Molecular phylogeny (Lo et al., 2015) projected on the size gradient, contrasted with the size (log centroid size) of the *sulcus* (Figure 10), showed that *M. furnieri* presented the largest branches, separating itself from the other species, indicating a larger *sulcus* size. Convergences associated with size were also observed (*M. martinicensis* and *M. atricauda*). Of the five species known to produce sound, four had a significantly larger *sulcus* size than the remaining three species (two of them, *M. martinicensis* and *P. brasiliensis*, do not produce sound, whereas one, *M. atricauda*, does produce sound).

The phylogenetic signal of the centroid logarithm versus *sulcus* shape was not significant ($p = 0.6165 > 0.0001$). Multivariate regression of independent contrasts showed no significant correlation between size and shape contrasts in the *sulcus* of these species ($p = 0.0763 > 0.0001$) (Figure 11). The total amount of shape variation, explained by size differences that do not result from phylogeny, was 31.9%, and the permutation test was not significant. In the

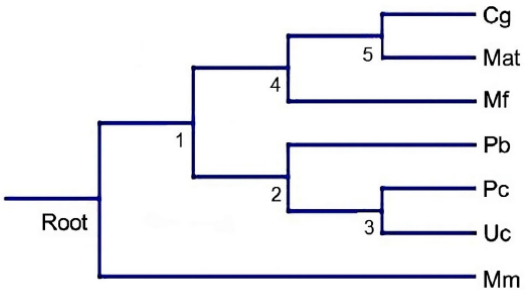


FIGURE 9 Phylogenetic tree of the seven Sciaenidae species analysed in this work, modified from Lo et al. (2015). Numbers of nodes are in branches. Cg, *Cynoscion guatucupa*; Mat, *Macrodon atricauda*; Mf, *Micropogonias furnieri*; Mm, *Menticirrhus martinicensis*; Pb, *Paralonchurus brasiliensis*; Pc, *Pogonias courbina*; Uc, *Umbrina canosai*.

evolutionary history of *sulcus*, no allometric influence of size on shape was found. These results could indicate that evolutionary allometry, along with phylogenetic legacy, might not be important causal factors in shaping *sulcus* design in *sagittal* otoliths of these species.

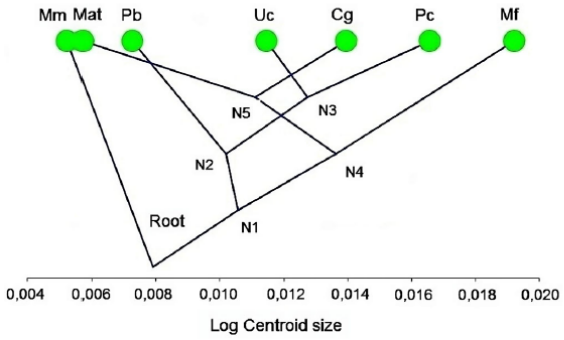


FIGURE 10 Relation of the phylogeny with the logarithm of the centroid size. Cg, *Cynoscion guatucupa*; Mat, *Macrodon atricauda*; Mf, *Micropogonias furnieri*; Mm, *Menticirrhus martinicensis*; Pb, *Paralonchurus brasiliensis*; Pc, *Pogonias courbina*; Uc, *Umbrina canosai*.

3.3 | Relationship between the shape of the sulcus and species that produce sound

The results obtained using sorting (PCA and CVA) and classification (UPGMA) methods have determined different *sulcus* shapes, which were interpreted in relation to the production of sound (or its absence) by the species as well as the fundamental frequency of emission, taking into account that what it emits most likely is what it listens to the most. The otoliths that had a *sulcus* with a deformed *ostium* and an increased area belong to the species that emit sounds at low frequencies (frequency <350 Hz: *P. courbina*, *U. canosai*, and *M. furnieri*) (Figure 12), whereas otoliths of species possessing a *sulcus* that differs from the consensus shape by decreasing its area (*ostium* and *cauda*) belong to species that emit sound at a higher frequency range (frequency >350 Hz: *M. atricauda* and *C. guatucupa*) (Figure 12). The *sulcus* that belongs to the otoliths of the species that do not emit

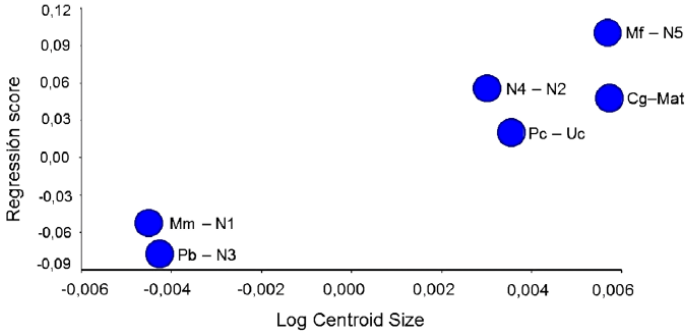


FIGURE 11 Evolutionary allometry of the *sulcus* of the otoliths of the Sciaenidae family (Cg, *Cynoscion guatucupa*; Mat, *Macrodon atricauda*; Mf, *Micropogonias furnieri*; Mm, *Menticirrhus martinicensis*; Pb, *Paralonchurus brasiliensis*; Pc, *Pogonias courbina*; Uc, *Umbrina canosai*, N1–N5 nodes in phylogenetic tree modified based on Lo et al., 2015).

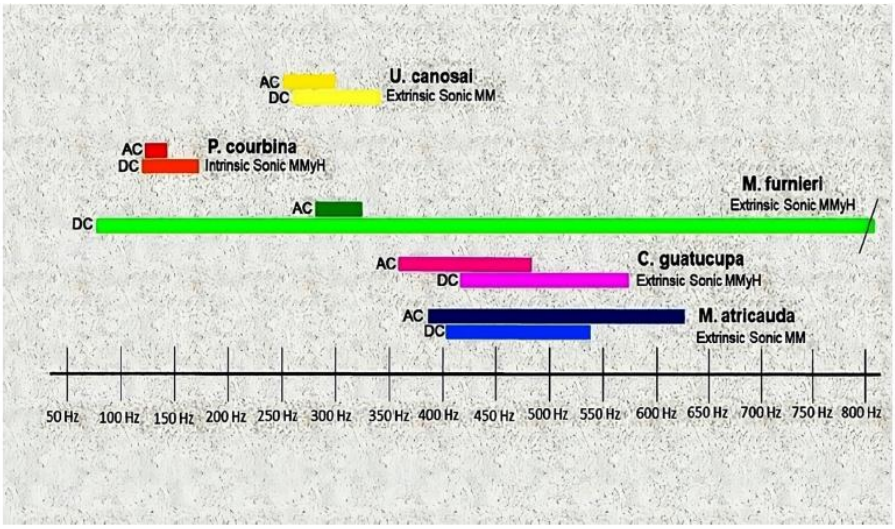


FIGURE 12 Sonogram-recorded frequencies (Hz) emitted by the five sound-emitting Sciaenidae species of the seven species selected for this study (AC, advertisement calls; DC, disturbance calls; H, females; MM, males) (Tellechea, 2019; J.S. Tellechea et al., 2010; J.S. Tellechea et al., 2017; Tellechea, Bouvier, et al., 2011; Tellechea, Norbis, et al., 2011; Tellechea & Norbis, 2012).

sound were the ones that deviated the least from the consensus shape, presenting no major modifications in either the *ostium* or the *cauda* (*P. brasiliensis* and *M. martinicensis*).

4 | DISCUSSION

The mechanism of hearing in fish involves a physical interaction between the *sagittal* otolith and the *macula*. Presuming that the otolith moves as a result of particle motion emanating from a sound source, the pattern of otolith oscillation could either be a fairly simple motion on condition that the otolith is approximately spherical or ellipsoidal (De Vries, 1950) or deviate from that simple motion in otoliths that exhibit more complex shapes (Krysl et al., 2012), where it has protrusions such as the *sagittal* otoliths in some Sciaenidae species (Aguilera et al., 2016). The peculiar shape of the *saccular* otolith could be further interpreted in terms of a trade-off between otolith mass and an optimized aerodynamic shape that allows better detection of higher frequencies in shallow water habitats, transmitted through the swim bladder, the Weberian apparatus, and the transverse canal to the *saccules* (Lychanov & Rebane, 2000).

In contrast with studies that analyse the *sulcus* combined with otolith morphometry, or studies of *sulcus* morphometry to discriminate species, stocks, or populations (Aguirre, 2003; Chollet-Villalpando et al., 2019; Granados-Amores et al., 2020; Lombarte & Fortuño, 1992; Torres et al., 2000), *sulcus* morphology has not been previously used to study its relationship with dominant sound emission frequencies and verify if there is a phylogenetic signal within the Sciaenidae that inhabits the study region. In the present work, morphological variation in *sulcus* shape in seven species of the Sciaenidae has been analysed, in relation to sound production and dominant frequency of emission, using landmark information.

It was found that there was a significant morphological variation in the *sulcus* among the otoliths of the seven species analysed, and the *ostium* area and the posterior extent of the *cauda* contributed to the greatest variation in the hierarchical pattern of shape similarity. Similar descriptions of the aforementioned changes, using classical morphometrics, have been reported for these and other Sciaenidae species in iconographic catalogs using dichotomous keys (Baldás et al., 1997; Corrêa & Vianna, 1992; Monteiro et al., 2005; Volpedo & Echeverría, 2000).

Based on these results, three different shape patterns could be identified. The first pattern, comprising *P. courbina*, *U. canosai*, and *M. furnieri*, presented a *sulcus* with a rounder and larger *ostium* and short *cauda*. *M. furnieri* has the largest geographic distribution (Yucatan Peninsula, Mexico to Bahia Blanca, Argentina) (Isaac, 1988), overlapping with the distribution areas of *P. courbina* and *U. canosai*, whereas the latter two do not overlap in their spatial ranges. Even though *M. furnieri* is a euryhaline species (Isaac, 1988), it has a preference for salinities not exceeding 10, coinciding with *P. courbina* (Garcia et al., 2010; Lorenzo et al., 2011; Rico, 2000). Within the Rio de la Plata estuary, a salinity of 10 is located between the main and the secondary turbidity front (Freplata, 2004; Nagy et al., 2008). This benthic species feeds preferentially in the early morning and late afternoon when visibility is lower (Masello et al., 2002; Olsson et al., 2013; Puig, 1986). *P. courbina* and *U. canosai* are also benthic, opportunistic, generalist predators (Blasina et al., 2010; Giberto, 2008; Haimovici et al., 1989). The reproductive cycle of *M. furnieri* is associated with the bottom salt front (Macchi et al., 2003; Vizziano, Saona, et al., 2002) and coastal lagoons (Vizziano, Forni, et al., 2002), and the reproductive cycle of *P. courbina* occurs in bays (Macchi et al., 2002) as well as at the mouths of coastal lagoons, rivers, and streams (J.S. Tellechea et al., 2022; Tellechea & Norbis, 2012), at depths <10 m. Both species spawn within the estuary between the main and the secondary turbidity front (Nagy et al., 2008). For these species, the development of other sensory systems could be more important, which are more suitable for foraging and reproductive courtship in turbid, estuarine systems where there is a strong reduction in the visual field that would be compensated by a wide auditory field (Deary et al., 2016). Other authors also grouped these species into a single group based on *sagittal* shape characteristics, representing the otolith thickness to be more than 50% of the length (Baldás et al., 1997; Chao, 1978; Volpedo, 2001).

The swim bladders of *M. furnieri*, *P. courbina*, and *U. canosai* are also similar (Chao, 1978). This could explain the similarities in sound emission frequencies <350 Hz (J.S. Tellechea et al., 2010; J.S. Tellechea et al., 2017; J.S. Tellechea et al., 2022; Tellechea, Bouvier, et al., 2011; Tellechea, Norbis, et al., 2011) because they also share the same otolith *sulcus* shape pattern. Some authors (Lombarte & Fortuño, 1992; Sugihara & Furukawa, 1989) postulated that there is a regionalization of the sensory *macula* (which sits on top of the *sulcus*), finding that hair cells with shorter cilia are more sensitive to high-frequency sounds, and these are mostly located in the rostral region (*ostium*). These results are not consistent with those found in this work, because the dominant frequency of sound emission was lower in comparison with the emission of the other species analysed. However, the fact that these three species share similar otolith size characteristics (Verocai, 2023) would reinforce what was proposed by Lychanov and Rebane (2000), Cruz and Lombarte (2004), and Kéver et al. (2014) that *sagittal* otoliths, which have larger size/mass, contribute to improved hearing sensitivity to low-frequency signals. Although all three species show ontogenetic changes in sound production (J.S. Tellechea et al., 2010; J.S. Tellechea et al., 2017; Tellechea, Bouvier, et al., 2011; Tellechea, Norbis, et al., 2011; Verocai et al., 2023), individuals of both sexes of *M. furnieri* emit a higher-frequency range (disturbance calls) (J.S. Tellechea et al., 2010; Tellechea, Bouvier, et al., 2011; Tellechea, Norbis, et al., 2011) than the rest of the studied species (Tellechea, 2019; J.S. Tellechea et al., 2010; J.S. Tellechea et al., 2017; J.S. Tellechea et al., 2022; Tellechea, Bouvier, et al., 2011; Tellechea & Norbis, 2012; Tellechea, Norbis, et al., 2011). This wide frequency range could be a consequence of functional adaptation to feeding and reproductive behaviors associated to the greater spatial distribution pattern that it presents on the Uruguayan coast (Nion et al., 2013; Puig, 1986; Taylor et al., 2020; Vizziano, Forni, et al., 2002; Vizziano, Saona, et al., 2002).

The second shape pattern, which was observed only in the otoliths of *C. guatucupa*, showed a *sulcus* with a more elongated *ostium*, a

smaller area, and a longer *cauda*, giving the *sulcus* a more stylized and fusiform general shape. This species has a dominant frequency of sound emission >350 Hz (Tellechea & Norbis, 2012). Chao (1978) has classified the otoliths of the genus *Cynoscion* as elliptical and thin, whereas Baldás et al. (1997) has described the otolith as elongated with a slight thickness, representing less than 50% of the otolith length. The dominant frequency of sound emission of *C. guatucupa* was similar to that reported for *M. atricauda* (Tellechea, 2019; Tellechea & Norbis, 2012). The latter two species are nectopelagic, with similar feeding type (piscivorous, including cannibalism) (Giberto, 2008; Timi et al., 2005) and a well-developed and similarly shaped swim bladder (Chao, 1978). However, *C. guatucupa* frequents different environments than the rest of the species analysed in this work; it is a coastal demersal pelagic, having a preference for oceanic zones with salinity of at least 32 (clearer water) (Freplata, 2004; Jaureguizar & Guerrero, 2009; Lopez-Cazorla, 2000). The numerous sound sources that are present in the aquatic environment combine to produce an auditory scenario that could help with general orientation and knowledge of the environment in which each species inhabits (Fay & Popper, 2000). On the contrary, *sulcus* shape can vary in response to extrinsic factors (Torres et al., 2000; Tuset et al., 2016); therefore, changes in the acoustic environment or in the acoustic requirements of the fish could produce measurable changes in otolith structure (Taylor et al., 2020). *C. guatucupa* presented a *sulcus* shape quite different from the other species, and it was the one that presented the second-largest average *sulcus* size in the otolith. Many studies have found high S:O (*sulcus* area/otolith area) values (larger *sulcus* size) in species that live at greater depths, presumably related to decreased visual field and greater dependence on sound (Lombarte, 1992; Lombarte & Fortuño, 1992; Lombarte & Popper, 2004). Fish that frequent pelagic environments have longer/higher *sulcus* than demersal fish (Gauldie, 1988; Taylor et al., 2020), coinciding with increased swimming activity and piscivorous feeding. *C. guatucupa* was the only one of the seven species analysed that presented these life habits, so that the shape and size of the *sulcus* would coincide with the ones reported in other species with the same habits.

The third shape pattern was characterized by minimal deformation of the *sulcus*, in relation to the consensus shape. It comprises two species that do not emit sound (*M. martinicensis* and *P. brasiliensis*). These species shared the same shape spaces in the PCA, CVA, and UPGMA analyses, and they also appeared to share the same clade. They both prefer estuarine environments, in spite of the fact that *M. martinicensis* is a marine migrant and *P. brasiliensis* is an estuarine resident. They both have benthic habits (zoobenthivores) and are associated with sandy-muddy bottoms, and the highest abundances do not exceed 30 m, where visibility is low due to high turbidity (Ecoplata Team, 1996; Giberto, 2008; Jaureguizar et al., 2003; Lorenzo et al., 2011). Several authors have studied the relationship among the swim bladder, sonic muscle, and sound production in Sciaenidae (Fine et al., 2001; Ladich & Fine, 2006; Ramcharitar, 2002). The swim bladder of *M. martinicensis* atrophies during the juvenile stage, and only a vestige remains as adults; moreover, they lack sonic muscle, whereas in *P. brasiliensis* adults, the size of the swim bladder is very small (Chao, 1978). The ecological similarities, a reduction in the swim bladder in adults, the slight variation in the consensus shape of the *sulcus*, and the lack of sound production lead to the assumption that in these two species, the *sulcus* would not need to undergo modifications to fulfill its function within the auditory system.

4.1 | Phylogenetic signal

Evolutionary studies of groups of organisms are usually based on the choice of characters for the reconstruction of their phylogenies. One of the requirements that these characters must meet is to be homologous. The otolith of Sciaenidae (and particularly the *sulcus*) is a structure that would meet this requirement (Lychanov & Rebane, 2000; Ramcharitar et al., 2001). A phylogenetic signal is the tendency of related species to resemble one another, rather than resemble species that are at random places on the phylogenetic tree (Blomberg et al., 2003; Blomberg & Garland, 2002). The projection of the phylogeny into shape space, on a two-dimensional plane, showed that species supporting a monophyletic clade such as *P. courbina* and *U. canosai* had the least Procrustes distances in the UPGMA, and they also occupied the same shape spaces in the PCA and CVA analyses. This was the only occasion where a match was found between *sulcus* shape and phylogenetic clade. At the other extreme, *C. guatucupa* and *M. atricauda* were found to be sister species in the phylogeny, and they were shown separated in the comparative shape analyses, whereas a possible convergence was detected between *M. martinicensis* and *P. brasiliensis*, which are found to occupy the same shape space and in different lineages. The comparison of the tree derived from the geometric morphometry, constructed using available information, was not statistically significant enough to find phylogenetic signal in the three used cladograms (otolith shape, fish shape, and molecular phylogeny). The cladogram that matched the greatest was the one made with the otolith shape ($p = 0.0051$) performed by Chao (1978). This similarity confirmed that the shape of the *sulcus* in the analysed species would fit the otolith shape. Otoliths that presented more rounded or oblong shapes (e.g., *P. courbina*) had a *sulcus* with a more circular *ostium*, whereas the more elliptical otoliths (e.g., *C. guatucupa*) had a *sulcus* with a more elongated *cauda* and a more reduced *ostium* area.

Given the advent of molecular biology and its exponentially increasing application to phylogenetic reconstruction, inconsistencies between molecular and morphological phylogenies have raised frequent doubts about the possibility of recovering a phylogenetic signal by analysing the shape of a structure or an organism (Collard & Wood, 2000; Koepfli et al., 2006; Madsen et al., 2001; Milinkovitch & Thewissen, 1997). Examples of the dichotomy between form analysis and molecular analysis in phylogenetic inference are found at all levels of the taxonomic hierarchy (Halanych, 2004; Madsen et al., 2001; Springer et al., 1997). Several authors have suggested that it might not always be necessary to incorporate phylogenetic information in statistical analyses of data comparisons, because for a given set of species and a given phenotypic trait, the amount of phylogenetic signals might not

be very strong (Ashton, 2004; Mazer, 1998; Westoby et al., 1995). Deary and Hilton (2017) analyzing the phylogenetic signal in 10 genera of the family Sciaenidae in Chesapeake Bay, using morphometric measurements of the feeding apparatus (matching five of the seven genera used in this work) and using the molecular phylogeny of Lo et al. (2015), found that the phylogenetic signal was weak for most of the characters analysed in the pelagic Sciaenidae and high for most of the characters analysed in the benthic genera. Although these authors did not work at the species level, their results do not coincide with those reported in this work, because no phylogenetic signal was found for the shape of the *sulcus* in the species analysed, despite the fact that five of the seven species used in this work are benthic.

In this work, independent contrasts were used to find the phylogenetic nature of the comparative *sulcus* data. Other methods that can be used in the context of geometric morphometrics are available (Martins & Hansen, 1997; Revell & Harmon, 2008; Rohlf, 2001). These methods are mathematically equivalent to independent contrasts and are based on the same evolutionary model (Blomberg et al., 2012; Garland Jr. et al., 2005; Rohlf, 2001). Even though we have worked with adult individuals, it was found that there is an associated relationship between size and shape (allometry), and this relationship varied among species. Three situations were found that probably show different evolutionary pathways in the shape of *sulcus*. *P. courbina* and *Umbrina canosai*, which share the same clade, showed similarities in the shape of the *sulcus* that would reflect phylogenetic inertia, that is, limitations in the evolutionary pathways imposed by the characteristics inherited from a common ancestor (Futuyma & Kirkpatrick, 2023). On the contrary, two species from independent lineages, *M. martinicensis* and *P. brasiliensis*, were found to have a similar *sulcus* shape despite not sharing a common history. It is possible that we are facing a case of homoplasy called adaptive convergence, in which natural selection favors similar solutions to the same environmental needs (Futuyma & Kirkpatrick, 2023), in this case the reception of sound in the same environment (auditory scene). That is, the evolutionary processes involved, which generated morphological similarities, would be different in both pairs of species.

On the contrary, two phylogenetically closely related species, *C. guatucupa* and *M. atricauda*, presented an important divergence in the *sulcus* shape. This would reflect the flexibility of the *sulcus* to evolve, in response to different selective pressures from the environment. These last two species do not differ in the dominant frequency of sound emission but may differ in sound reception, although both are nectopelagic. *C. guatucupa* frequents more oceanic environments, where the water is more transparent and less turbid, and *M. atricauda* is more estuarine, where the water is more turbid. It is possible that this modification of the *sulcus* is an adaptation (Futuyma & Kirkpatrick, 2023) of the sound reception mechanisms to different sound scenarios.

These results are consistent with those of numerous authors who postulated that the shape of the otolith and *sulcus* is strongly influenced by environmental and behavioral factors (e.g., sound production/reception) (Gauldie & Crampton, 2002; Lombarte & Lleonart, 1993; Morales-Nin, 1987; Volpedo & Echeverría, 2003). Although otolith (and *sulcus*) shape is genetically constrained (Gauldie, 1988), the combined effects of phylogenetic legacy and natural functional selection have probably led to convergent evolution of this character (Wake, 1991), whereas the differences in *sulcus* of species occupying the same clade may indicate the presence of character displacement (Losos, 1999).

In conclusion, the *sagittal* otolith and the sensory *macula* associated to the acoustic *sulcus* are highly plastic structures that are subject to strong evolutionary pressure in relation to environmental and behavioral factors, resulting in a great variability in forms that can be associated with a specific character. The variation in the shape of the *sulcus* would allow the Sciaenidae to coexist in the same coastal soundscapes, without losing their particular auditory needs, even while overlapping their spatial and temporal distribution areas.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

José E. Verocai: formulation and evolution of overarching research goals and aims; development or design of methodology; application of statistical techniques to analyse study data; conducted a research and investigation process, specifically performed the experiments; and preparation, creation, and presentation of the published work, specifically writing of the initial draft. Fernanda Cabrera: development of morphometric methodology, specifically critical review, commentary, or revision. Walter Norbis: ideas; formulation or evolution of overarching research goals and aims; development of methodology; application of statistical techniques to analyse study data; provision of study materials, instrumentation, and computing resources; preparation and creation of the published work by those from the original research group, specifically critical review, commentary, or revision; and leadership responsibility for research activity planning and execution, including mentorship. Antoni Lombarte: ideas, formulation, or evolution of overarching research goals and aims; preparation, creation, and/or presentation of the published work by those from the original research group, specifically critical review, commentary, or revision—including prepublication stages, including mentorship.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the DINARA (National Directorate of Aquatic Resources) and artisanal fishermen of Pajas Blancas who provided the otolith samples for this investigation. Also, we thank Diego Norbis for improving the English text of the manuscript and Ivanna Tomasco (Department of Ecology and Evolution, Facultad de Ciencias) for the valuable suggestions. Walter Norbis is supported by the ANII-SNI (National Agency for Research and Innovation, National System of Researchers). José E. Verocai and Walter Norbis also thank the PEDECIBA-Biologia (Basic Sciences Development Program-Uruguay) for the funding provided.

FUNDING INFORMATION

Programa de desarrollo de las ciencias basicas (PEDECIBA).

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

ORCID

José E. Verocai https://orcid.org/0000-0001-6240-4797
Fernanda Cabrera https://orcid.org/0000-0002-8192-738X
Antoni Lombarte https://orcid.org/0000-0001-5215-4587
Walter Norbis https://orcid.org/0000-0002-7819-3450

REFERENCES

Aguilera, O., Belem, A. L., Angelica, R., Macario, K., Crapez, M., Nepomuceno, A., Paes, E., Tenório, M. C., Dias, F., Souza, R., Rapagnã, L., Carvalho, C., & Silva, E. (2016). Fish bone diagenesis in southeastern Brazilian shell mounds and its importance for paleoenvironmental studies. *Quaternary International*, *391*, 18–25.

Aguirre, W. E. (2003). Allometric growth of the sulcus in *Cynoscion* spp. (Sciaenidae). *Journal of Fish Biology*, *63*, 1341–1346. https://doi.org/10.1046/j.1095-8649.2003.00238.x

Anderson, M. J. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, *26*, 32–46. https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x

Ashton, K. (2004). Comparing phylogenetic signal in intraspecific and interspecific body size datasets. *Journal of Evolutionary Biology*, *17*, 1157–1161. https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2004.00764.x

Bagenal, T. B. (1974). *Ageing of fish* (p. 226). Unwin brothers.

Baldás, M. I., Pérez Macri, G., Volpedo, A. V., & Echeverria, D. D. (1997). Morfología de la sagitta de peces marinos de la costa bonaerense de la Argentina. 1. Carangidae, Sciaenidae, Mullidae. *Atlantica*, *19*, 99–112.

Blasina, G. E., Barbini, S. A., & Díaz de Astarloa, J. M. (2010). Trophic ecology of the black drum, *Pogonias cromis* (Sciaenidae), in mar Chiquita coastal lagoon (Argentina). *Journal of Applied Ichthyology*, *26*, 528–534.

Blomberg, S. P., & Garland, T. (2002). Tempo and mode in evolution: Phylogenetic inertia, adaptation and comparative methods. *Journal of Evolutionary Biology*, *15*, 899–910.

Blomberg, S. P., Garland, T., & Ives, A. R. (2003). Testing for phylogenetic signal in comparative data: Behavioral traits are more labile. *Evolution*, *57*(4), 717–745. https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00285.x

Blomberg, S. P., Lefevre, J. G., Wells, J. A., & Waterhouse, M. (2012). Independent contrasts and PGLS regression estimators are equivalent. *Systematic Biology*, *61*, 382–391.

Brooks, D. R., & McLennan, D. A. (1991). *Phylogeny, ecology, and behavior: A research program in comparative biology* (p. 441). University of Chicago Press.

Cardini, A., & Elton, S. (2008). Does the skull carry a phylogenetic signal? Evolution and modularity in the guenons. *Biological Journal of the Linnean Society*, *93*, 813–834.

Cardini, A., & Loy, A. (2013). On growth and formin the "computer era": From geometric to biological morphometrics. Virtual morphology and evolutionary morphometrics in the new millennium. *Journal of Mammalogy*, *24*, 1–5.

Chao, L. N. (1978). A basis for classifying western Atlantic Sciaenidae (Teleostei: Perciformes). *NOAA. Technical Report NMFS Circular*, *415*, 1–64.

Chollet-Villalpando, J. G., García-Rodríguez, F. G., De Luna, E., & De La Cruz-Agüero, J. (2019). Geometric morphometrics for the analysis of character variation in size and shape of the sulcus acusticus of sagittae otolith in species of Gerreidae (Teleostei: Perciformes). *Marine Biodiversity*, *49*, 2323–2332. https://doi.org/10.1007/s12526-019-00970-y

Collard, M., & Wood, B. (2000). How reliable are human phylogenetic hypotheses? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *97*, 5003–5006.

Comisión Técnico Mixta del Frente Marítimo. 2023. https://ctmfm.org/estadistica-pesquera (last visit17/05/2023).

Connaughton, M. A., Taylor, M. H., & Fine, M. L. (2000). Effects of fish size and temperature on weakfish disturbance calls: Implications for the mechanism of sound generation. *Journal of Experimental Biology*, *203*, 1503–1512.

Corrêa, M. F. M., & Vianna, M. S. (1992). Catálogo de otólitos de Sciaenidae (Osteichthyes – Perciformes) do litoral do estado do Paraná, Brasil. *Neritica*, *7*, 13–41.

Cruz, A., & Lombarte, A. (2004). Otolith size and their relationship with colour pattern and sound production. *Journal of Fish Biology*, *65*, 1512–1525.

De Vries, H. L. (1950). The mechanics of the labyrinth otoliths. *Acta Oto-Laryngologica*, *38*, 262–273.

Deary, A. L., & Hilton, E. J. (2017). Influence of cladogenesis on feeding structures in drums (Teleostei: Sciaenidae). *Zoology*, *120*, 53–61. https://doi.org/10.1016/j.zool.2016.08.004

Deary, A. L., Metscher, B., Brill, R. W., & Hilton, E. J. (2016). Shifts of sensory modalities in early life history stage estuarine fishes (Sciaenidae) from the Chesapeake Bay using X-ray micro computed tomography. *Environmental Biology of Fishes*, *99*, 361–375. https://doi.org/10.1007/s10641-016-0479-8

Ecoplata Team (Ed.). (1996). *The Río de la Plata. An environmental overview. An EcoPlata project background report. Working draft, November 1996* (p. 242). Dalhousie University.

Fay, R. R., & Popper, A. N. (2000). Evolution of hearing in vertebrates: The inner ears and processing. *Hearing Research*, *149*, 1–10. https://doi.org/10.1016/S0378-5955(00)00168-4

Felsenstein, J. (1985). Phylogenies and the comparative method. *The American Naturalist*, *125*(1), 1–15.

Fine, M. L., Malloy, K. L., King, C. B., Mitchell, S. L., & Cameron, T. M. (2001). Movement and sound generation by the toadfish swimbladder. *Journal of Comparative Physiology A*, *187*(5), 371–379. https://doi.org/10.1007/s003590100209

Framiñán, M. B., & Brown, O. B. (1996). Study of the Río de la Plata turbidity front part I: Spatial and temporal distribution. *Continental Shelf Research.*, *16*, 1259–1282.

Framiñán, M. B., Etala, P., Acha, E. M., Guerrero, R. A., Lasta, C., & Brown, O. B. (1999). Physical characteristics and processes of the Río de la Plata estuary. In G. M. E. Perillo, M. Pino, & C. C. Piccolo (Eds.), *Estuaries of South América: Their geomorphology and dynamics* (Vol. 7, pp. 161–194). Springer-Verlag.

Freplata. (2004). "*Análisis Diagnóstico Transfronterizo del Río de la Plata y su Frente Marítimo*". Documento Técnico. Proyecto Protección Ambiental del Río de la Plata y su Frente Marítimo. Proyecto PNUD/GEF/RLA/99/G31. 313pp.

Futuyma, D., & Kirkpatrick, M. (2023). *Evolution* (5th ed., p. 702). Sinauer Associates is an imprint of Oxford University Press.

Garcia, M. L., Jaureguizar, A. J., & Protogino, L. C. (2010). From fresh water to the slope: Fish community ecology in the Río de la Plata and the sea beyond. *Latin American Journal of Aquatic Research*, *38*(1), 81–94. https://doi.org/10.3856/vol38-issue1-fulltext-8

Garland, T., Jr., Bennett, A. F., & Rezende, E. L. (2005). Phylogenetic approaches in comparative physiology. *The Journal of Experimental Biology*, *208*, 3015–3035. https://doi.org/10.1242/jeb.01745

Gauldie, R. W. (1988). Function, form and time-keeping properties of fish otoliths. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, *91*(2), 395–402.

Gauldie, R. W., & Crampton, J. S. (2002). An eco-morphological explanation of individual variability in the shape of the fish otolith: Comparison of the otolith of *Hoplostethus atlanticus* with other species by depth. *Journal of Fish Biology*, *60*, 1204–1221.

Gauldie, R. W., & Nelson, D. G. A. (1990). Otolith growth in fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, *97*(2), 119–135.

Giberto, D. A. (2008). *Estructura de la comunidad bentónica y ecología trófica de Sciaenidae (Pisces: Osteichthyes) en el estuario del Río de la Plata*. (Doctoral thesis, (p. 227). Universidad Nacional de Comahue.

Granados-Amores, E., Granados-Amores, J., Zavala-Leal, O. I., & Flores-Ortega, J. R. (2020). Geometric morphometrics in the sulcus acusticus of the *sagittae* otolith as tool to discriminate species of the genus *Centropomus* (Centropomidae: Perciformes) from the southeastern gulf of California. *Marine Biodiversity*, *50*, 10. https://doi.org/10.1007/s12526-019-01030-1

Guerrero, R. E., Acha, M., Framiñan, M. F., & Lasta, C. (1997). Physical oceanography of the Río de la Plata estuary-Argentina. *Continental Shelf Research*, *17*, 727–742.

Haimovici, M., Teixeira, R. L., & Arruda, C. (1989). Alimentacao da castanha *Umbrina canosai* (Pisces: Scienidae) no suldo Brasil. *Revista Brasilera de Biologia*, *49*(2), 511–522.

Halanych, K. M. (2004). The new view of animal phylogeny. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, *35*, 229–256.

Hammer, O., & Harper, D. A. T. (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, *4*, 9 Available at: https://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm

Isaac, V. J. (1988). Synopsis on biological data on the whitemouth croaker, *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823). *FAO Fish Synopsis*, *150*, 35.

Jaureguizar, A., & Guerrero, R. (2009). Striped weakfish (*Cynoscion guatucupa*) population structure in waters adjacent to Río de la Plata, environmental influence on it inter-annual variability. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *85*, 89–96.

Jaureguizar, A. J., Menni, R., Bremec, C., Mianzan, H., & Lasta, C. (2003). Fish assemblage and environmental patterns in the Río de la Plata estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *56*, 921–933.

Jolliffe, I. T. (2002). *Principal component analysis* (Second ed.). Springer-Verlag.

Kéver, L., Colleye, O., Herrel, A., Romans, P., & Parmentier, E. (2014). Hearing capacities and otolith size in two ophidiiform species (*Ophidion rochei* and *Carapus acus*). *The Journal of Experimental Biology*, *217*, 2517–2525. https://doi.org/10.1242/jeb.105254

Klingenberg, C. P. (1996). Multivariate allometry. In L. F. Marcus, M. Corti, A. Loy, G. J. P. Naylor, & D. E. Slice (Eds.), *Advances in morphometrics* (pp. 23–49). Plenum Press.

Klingenberg, C. P. (2011). MorphoJ: An integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, *11*, 353–357.

Klingenberg, C. P., & Ekau, W. (1996). A combined morphometric and phylogenetic analysis of an ecomorphological trend: Pelagization in Antartic fishes (Perciformes, Nototheniidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, *59*, 143–177. https://doi.org/10.1111/J.1095-8312.1996.TB01459.X

Klingenberg, C. P., & Gidaszewski, N. A. (2010). Testing and quantifying phylogenetic signals and Homoplasy in morphometric data. *Systematic Biology*, *59*(3), 245–261. https://doi.org/10.1093/sysbio/syp106

Klingenberg, C. P., & Marugán-Lobon, J. (2013). Evolutionary covariation in geometric morphometric data: Analyzing integration, modularity, and Allometry in a phylogenetic context. *Society of Systematic Biologists*, *62*(4), 591–610. https://doi.org/10.1093/sysbio/syt025

Koepfli, K.-P., Jenks, S. M., Eizirik, E., Zahirpour, T., Van Valkenburgh, B., & Wayne, R. K. (2006). Molecular systematics of the Hyaenidae: Relationships of a relictual lineage resolved by a molecular supermatrix. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *38*, 603–620.

Krysl, P., Hawkins, A. D., Schilt, C., & Cranford, T. W. (2012). Angular oscillation of solid Scatterers in response to progressive planar acoustic waves: Do fish otoliths rock? *PLoS One*, *7*(8), e42591. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042591

Ladich, F., & Fine, M. L. (2006). Sound-generating mechanisms in fishes: A unique diversity in vertebrates. In F. Ladich (Ed.), *Sound communication in fishes* (pp. 3–43). Springer Vienna. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1846-7

Legendre, P., & Legendre, L. F. (2012). *Numerical ecology* (Third ed.). Elsevier Science BV.

Lo, P.-C., Liu, S.-H., Chao, N. L., Nunoo, F., Mok, H.-K., & Chen, W.-J. (2015). A multi-gene dataset reveals a tropical New World origin and early Miocene diversification of croakers (Perciformes: Sciaenidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *88*, 132–143. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.03.025

Lombarte, A. (1992). Changes in otolith area: Sensory area ratio with body size and depth. *Environmental Biology of Fishes*, *33*, 405–410.

Lombarte, A., & Fortuño, J. M. (1992). Differences in morphological features of the Sacculus of the inner ear of two hakes (*Merluccius capensis* and *M. paradoxus*, Gadiformes) inhabits from different depth of sea. *Journal of Morphology*, *214*, 97–107.

Lombarte, A., & Lleonart, J. (1993). Otolith size changes with body growth, habitat depth and temperature. *Environmental Biology of Fishes*, *37*, 297–306.

Lombarte, A., Palmer, M., Matallanas, J., Gómez-Zurita, J., & Morales-Nin, B. (2010). Ecomorphological trends and phylogenetic inertia of otolith sagittae in Nototheniidae. *Environmental Biology of Fishes*, *89*, 607–618. https://doi.org/10.1007/s10641-010-9673-2

Lombarte, A., & Popper, A. N. (2004). Quantitative changes in the otolithic organs of the inner ear during the settlement period in European hake (*Merluccius merluccius*). *Marine Ecology Progress Series*, *267*, 233–240.

Lopez-Cazorla, A. (2000). Age structure of the population of weakfish *Cynoscion guatucupa* (Cuvier) in the Bahia Blanca waters, Argentina. *Fisheries Research*, *1025*(1–3), 1–8.

Lorenzo, M. I., Díaz de Astarloa, J. M., Norbis, W., & Cousseau, M. B. (2011). Long term fish assemblages as units of management in a temperate estuary (Rio de la Plata – SW Atlantic Ocean). *Brazilian Journal of Oceanography*, *59*(1), 43–59.

Losos, J. B. (1999). Uncertainty in the reconstruction of ancestral character states and limitations on the use of phylogenetic comparative methods. *Animal Behavior*, *58*, 1319–1324.

Luczkovich, J. J., Sprague, M. W., Johnson, S. E., & Pullinger, R. C. (1999). Delimiting spawning areas of weakfish *Cynoscion regalis* (family Sciaenidae) in Pamlico sound, North Carolina using passive hydroacoustic surveys. *Bioacoustics*, *10*, 143–160.

Lychanov, D. V., & Rebane, Y. T. (2000). Otolith regularities. *Hearing Research*, *143*, 83–102.

Macchi, G. J., Acha, E. M., & Lasta, C. A. (2002). Reproduction of black drum (*Pogonias cromis*) in the Río de la Plata estuary, Argentina. *Fisheries Research*, *59*, 83–92. https://doi.org/10.1016/S0165-7836(01)00410-6

Macchi, G. J., Acha, E. M., & Militelli, M. I. (2003). Seasonal egg production of whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) in the Río de la Plata estuary, Argentina – Uruguay. *Fisheries Bulletin*, *101*, 332–342.

Maddison, W. P., & Maddison, D. R. (2021). Mesquite: A modular system for evolutionary analysis. *Version*, *3*, 70. http://www.mesquiteproject.org

Madsen, O., Scally, M., Douady, C. J., Kao, D. J., De Bry, R. W., Adkins, R., Amrine, H. M., Stanhope, M. J., de Jong Wilfried, W., & Springer, M. S. (2001). Parallel adaptive radiations in two major clades of placental mammals. *Nature*, *409*, 610–614.

Marcus, L. F. (1990). Traditional morphometrics. In F. J. Rohlf & F. L. Bookstein (Eds.), *Proceedings of the Michigan morphometrics workshop* (pp. 77–122). University of Michigan.

Marcus, L. F., Hingst-Zaher, E., & Zaher, H. (2000). Application of landmark morphometrics to skulls representing the orders of living mammals. *Hystrix*, *11*, 27–47.

Martins, E. P., & Hansen, T. F. (1997). Phylogenies and the comparative method: A general approach to incorporating phylogenetic information into the analysis of interspecific data. *The American Naturalist*, *149*(4), 646–667. https://www.jstor.org/stable/2463542

Masello, A., Scarabino, F., Gamarra, M., & Menafra, R. (2002). Study of feeding habits and stomach contents of *Micropogonias furnieri*. In D. Vizziano, P. Puig, C. Mesones, & G. J. Nagy (Eds.), *Río de la Plata research to manage the environment, fish resources and the fishery in the saline front* (pp. 147–161). Ecoplata Program.

Mazer, S. J. (1998). Alternative approaches to the analysis of comparative data: Compare and contrast. *American Journal of Botany*, *85*(8), 1194–1199. https://doi.org/10.2307/2446352

Milinkovitch, M. C., & Thewissen, J. G. M. (1997). Even-toed fingerprints on whale ancestry. *Nature*, *388*, 622–624. https://doi.org/10.1038/41650

Monteiro, L. R., Di Beneditto, A. P. M., Guillermo, L. H., & Rivera, L. A. (2005). Allometric changes and shape differentiation of *sagitta* otoliths in sciaenid fishes. *Fisheries Research*, *74*, 288–299.

Morales-Nin, B. (1987). The influence of environmental factors on microstructure of otoliths of three demersal fish species caught off Namibia. *South African Journal of Marine Science*, *5*(1), 255–262. https://doi.org/10.2989/025776187784522207

Nagy, G. J., Severov, D. N., Pshennikov, V. A., De los Santos, M., Lagomarsino, J. J., Sans, K., & Morozov, E. G. (2008). Rio de la Plata estuarine system: Relationship between river flow and frontal variability. *Advances in Space Research*, *41*, 1876–1881.

Neff, N. A., & Marcus, L. F. (1980). *A survey of multivariate methods for systematics*. Printed at the American Museum of Natural History.

Nion, H., Marín, Y., Meneses, P., & Puig, P. (2013). Distribución batimétrica de la familia Sciaenidae (Perciformes) en el Atlántico Sudoccidental y consideraciones sobre las pesquerías de los peces de esta familia. *Frente Marítimo*, *23*, 105–132.

Norbis, W., Paesh, L., & Galli, O. (2006). Los recursos pesqueros de la costa de Uruguay: ambiente, biología y gestión. In R. Menafra, L. Rodríguez-Gallego, F. Scarabino, & D. Conde (Eds.), *Bases para la conservación y el manejo de la costa uruguaya* (pp. 127–209). VIDA SILVESTRE URUGUAY.

Olsson, D., Forni, F., Saona, G., Verocai, J., & Norbis, W. (2013). Temporal feeding habits of the whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* in a shallow coastal lagoon (southwestern Atlantic Ocean, Uruguay). *Ciencias Marinas*, *39*(3), 265–276. https://doi.org/10.7773/cm.v39i3.2181

Ponton, D. (2006). Is geometric Morphometrics efficient for comparing otolith shape of different fish species? *Journal of Morphology*, *267*, 750–757.

Popper, A. N., & Coombs, S. (1980). Auditory mechanisms in teleost fishes. *American Scientist*, *68*(4), 429–440.

Popper, A. N., Ramcharitar, J., & Campana, S. E. (2005). Why otoliths? Insights from inner ear physiology and fisheries biology. *Marine and Freshwater Research*, *56*, 497–504. https://doi.org/10.1071/MF04267

Puig, P. (1986). Analisis de contenidos estomacales de corvina blanca (*Micropogon opercularis*) (Sciaenidae, Perciformes), VERANO 1984. *Frente Maritimo*, *1*(2), 333–340.

Ramcharitar, J. (2002). Unique ear structure of silver perch *Bairdiella chrysoura*. *Bioacoustics*, *12*(2–3), 122–124. https://doi.org/10.1080/09524622.2002.9753669

Ramcharitar, J., Gannon, D. P., & Popper, A. N. (2006). Bioacoustics of fishes of the family Sciaenidae (croakers and drums). *Transactions of the American Fisheries Society*, *135*(5), 1409–1431. https://doi.org/10.1577/T05-207.1

Ramcharitar, J., Higgs, D. M., & Popper, A. N. (2001). Sciaenid inner ears: A study in diversity. *Brain Behavior and Evolution*, *58*(3), 152–162. https://doi.org/10.1159/000047269

Revell, L. J., & Harmon, L. J. (2008). Testing quantitative genetic hypotheses about the evolutionary rate matrix for continuous characters. *Evolutionary Ecology Research*, *10*, 311–331.

Rico, M. R. (2000). *La salinidad y la distribución espacial de la Ictiofauna en el Estuario del Río de la Plata* (Masters Thesis) Universidad Nacional de Mar del Plata – Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP). 81 pp. http://hdl.handle.net/1834/2603

Rohlf, F. J. (2001). Comparative methods for the analysis of continuous variables: Geometric interpretations. *Evolution*, *55*, 2143–2160.

Rohlf, F. J. (2006). *tpsDig, Digitize landmarks and outlines, version 2.05*. Department of Ecology and Evolution, State University of New York.

Rohlf, F. J., & Slice, D. E. (1990). Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology*, *39*(1), 40–59. https://doi.org/10.2307/2992207

Sidlauskas, B. (2008). Continuous and arrested morphological diversification in sister clades of characiform fishes: A phylomorphospace approach. *Evolution*, *62*, 3135–3156.

Springer, M. S., Cleven, G. C., Madsen, O., de Jong, W. W., Waddell, V. G., Amrine, H. M., & Stanhope, M. J. (1997). Endemic African mammals shake the phylogenetic tree. *Nature*, *388*(6637), 61–64. https://doi.org/10.1038/40386

Stayton, C. T. (2005). Morphological evolution of the lizard skull: A geometric morphometries survey. *Journal of Morphology*, *263*, 47–59. https://doi.org/10.1002/jmor.10288

Sugihara, I., & Furukawa, T. (1989). Morphological and functional aspects of two different types of hair cells in the goldfish Sacculus. *Journal of Neurophysiology*, *62*(6), 1330–1343. https://doi.org/10.1152/jn.1989.62.6.1330

Taylor, M. D., Fowler, A. M., & Suthers, I. M. (2020). Insights into fish auditory structure–function relationships from morphological and behavioral ontogeny in a maturing sciaenid. *Marine Biology*, *167*, 21. https://doi.org/10.1007/s00227-019-3619-9

Tellechea, J. S. (2019). The acoustic behavior of southern King weakfish (*Macrodon atricauda*-Sciaenidae). *Environmental Biology of Fishes*, *102*, 1253–1264. https://doi.org/10.1007/s10641-019-00902-6

Tellechea, J. S., Bouvier, D., & Norbis, W. (2011a). Spawning sounds in whitemouth croaker (Sciaenidae): Seasonal and daily cycles. *Bioacoustics*, *20*, 159–168.

Tellechea, J. S., Fine, M. L., & Norbis, W. (2017). Passive acoustic monitoring, development of disturbance calls and differentiation of disturbance and advertisement calls in the Argentine croaker *Umbrina canosai* (Sciaenidae). *Journal of Fish Biology*, *90*(4), 1631–1643. https://doi.org/10.1111/jfb.13257

Tellechea, J. S., Izquierdo, S., Perez, W., & Norbis, W. (2022). Sound variation by hypertrophy and atrophy sonic muscle in the male southern black drum (Pogonias courbina). *The Journal of the Acoustical Society of America*, *152*(1), 429–436. https://doi.org/10.1121/10.0012690

Tellechea, J. S., Martinez, C., Fine, M. L., & Norbis, W. (2010). Sound production in whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*: Sciaenidae) and relationship between fish size and disturbance call parameters. *Environmental Biology of Fishes*, *89*, 163–172.

Tellechea, J. S., & Norbis, W. (2012). Sexual dimorphism in sound production and call characteristics in the striped weakfish *Cynoscion guatucupa*. *Zoological Studies*, *51*(7), 946–955.

Tellechea, J. S., Norbis, W., Olsson, D., & Fine, M. L. (2011b). Calls of the black drum (*Pogonias cromis*: Sciaenidae): Geographical differences in sound production between northern and southern hemisphere populations. *Journal of Experimental Zoology*, *315*, 48–55.

Timi, J. T., Luque, J. L., & Sardella, N. H. (2005). Parasites of *Cynoscion guatucupa* along south American Atlantic coasts: Evidence for stock discrimination. *Journal of Fish Biology*, *67*, 1603–1618. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2005.00867.x

Torres, G. J., Lombarte, A., & Morales-Nin, B. (2000). Variability of the sulcus acusticus in the sagittal otolith of the genus Merluccius (Merlucciidae). *Fisheries Research*, *46*, 5–13.

Tuset, V. M., Farre, M., Otero-Ferrer, J. L., Vilar, A., Morales-Nin, B., & Lombarte, A. (2016). Testing otolith morphology for measuring marine fish biodiversity. *Marine and Freshwater Research*, *67*, 1037–1048. https://doi.org/10.1071/MF15052

Tuset, V. M., Lombarte, A., & Assis, C. A. (2008). Otolith atlas for the western Mediterranean, north and central eastern Atlantic. *Scientia Marina*, *72*(S1), 7–198. https://doi.org/10.3989/scimar.2008.72s17

Tuset, V. M., Rosin, P. L., & Lombarte, A. (2006). Sagittal otolith shape used in the identification of fishes of the genus *Serranus*. *Fisheries Research*, *81*, 316–325.

Verocai, J. E. (2023). *Ecomorfología de siete especies de la familia Sciaenidae en la costa Uruguaya*. (Doctoral thesis. Universidad de la Republica.

Verocai, J. E., Lombarte, A., & Norbis, W. (2023). Ontogenetic changes in *sagitta* otoliths of whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* (Acanthuriformes: Sciaenidae) and its implication in acoustic communication. *Animal Biology*, *73*(2), 195–211. https://doi.org/10.1163/15707563-bja10105

Viscosi, V., & Cardini, A. (2011). Leaf morphology, taxonomy and geometric morphometrics: A simplified protocol for beginners. *PLoS One*, *6*, 1–20. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025630

Vizziano, D., Forni, F., Saona, G., & Norbis, W. (2002a). Reproduction of the white croaker Micropogonias furnieri (Pisces: Sciaenidae) in a shallow temperate coastal lagoon of the southern Atlantic Ocean (Uruguay). *Journal of Fish Biology*, *61* (A), 196–206.

Vizziano, D., Saona, G., Franco, J., & Nagy, G. J. (2002b). Environmental characterization of the spawning area of the white croaker, *Micropogonias furnieri*, in the frontal zone of the Río de la Plata. In D. Vizziano, P. Puig, C. Mesones, & G. Nagy (Eds.), *Río de la Plata research to manage the environment, fish resources and the fishery in the saline front* (pp. 113–124). Ecoplata Program.

Volpedo, A. V. (2001). *Estudio de la morfometría de las sagittae en poblaciones de sciaenidos marinos de aguas cálidas del Perú y aguas templado-frías de Argentina*. (Doctoral thesis, (p. 234). Universidad de Buenos Aires http://hdl.handle.net/1834/3132

Volpedo, A. V., & Echeverría, D. D. (2000). Catálogo y claves de otolitos para la identificación de peces del Mar Argentino 1. Peces de importancia comercial. Editorial Dunken, Buenos Aires, 90 pp.

Volpedo, A. V., & Echeverría, D. D. (2003). Ecomorphological patterns of the *sagitta* in fish on the continental shelf off Argentine. *Fisheries Research*, *60*, 551–560.

Wake, D. B. (1991). Homoplasy: The result of natural selection, or evidence of design limitations? *The American Naturalist*, *138*(3), 543–567.

Westoby, M., Leishman, M. R., & Lord, J. M. (1995). On misinterpreting the phylogenetic correction. *Journal of Ecology*, *83*, 531–534. https://doi.org/10.2307/2261605

Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., Sheets, H. D., & Fink, W. L. (2004). *Geometric morphometrics for biologists: A primer*. Elsevier.

Zischke, T., Litherland, L., Tilyardc, B. R., Stratford, N. J., Jones, E. L., & Wang, Y. G. (2016). Otolith morphology of four mackerel species (Scomberomorus spp.) in Australia: Species differentiation and prediction for fisheries monitoring and assessment. *Fisheries Research*, *176*, 39–47. https://doi.org/10.1016/j.fishres.2015.12.003

How to cite this article: Verocai, J. E., Cabrera, F., Lombarte, A., & Norbis, W. (2023). Form function of *sulcus acusticus* of the *sagittal* otolith in seven Sciaenidae (Acanthuriformes) species using geometric morphometrics (southwestern Atlantic). *Journal of Fish Biology*, *103*(5), 1199–1213. https://doi.org/10.1111/jfb.15521

Discusión General

El éxito de la ecomorfología se basa en la importancia ecológica o funcional de los rasgos morfológicos registrados (Foote, 1997). Los ecomorfólogos se centran en la función de las estructuras morfológicas en un marco ecológico (ambiente) y evolutivo (histórico), de modo de promover el entendimiento general, de las consecuencias ecológicas y evolutivas de la construcción animal (Romer y Parsons, 1986). Estas relaciones han sido analizadas en los peces por varios investigadores (Gatz, 1979; Watson y Balon, 1984; Winemiller, 1991; Wainright y Richard, 1995). El enfoque consistió en seleccionar aquel rasgo de especial importancia para comprender la importancia de su funcionalidad, en este caso la morfología funcional del otolito asociada al sistema auditivo (Carlson, 1989; Hickman, 1993). Los estudios del significado ecomorfológico de la forma del otolito se han desarrollado porque hay suficiente evidencia sobre la adaptación especializada de la forma del otolito a los requerimientos auditivos de los hábitats de los peces (Lombarte, 1992; Lombarte y Lleonart, 1993; Aguirre y Lombarte, 1999).

Los otolitos presentan ciertas características que no presentan otras estructuras biológicas; están presentes desde el nacimiento del pez y crecen durante toda su vida; el nuevo material que se deposita en su superficie lo hace en torno a un núcleo en capas concéntricas; la composición elemental del material depositado depende del metabolismo del pez y una vez depositado dicho material, no presenta reabsorción (Mugiya, 1964, 1966; Kalish, 1989; Campana y Casselman, 1993; Campana, 1999; Ramcharitar et al., 2001; Morales-Nin et al., 2005). Platt y Popper (1981) sugieren que la variabilidad en la forma del *sagitta* (especialmente en el área del *sulcus acústicus*) podría ser una característica morfofuncional, dado que la deposición de nuevo material en el otolito está relacionada principalmente a mantener su forma y su función (Gauldie, 1988). Si bien los *sagitta* presentan ciertas características morfológicas que se manifiestan temprano en la ontogenia de los peces, algunas características como el área, la profundidad del *sulcus*, y la relación entre el área del *sulcus* y el área del otolito, varían de acuerdo a factores ecológicos

(Tuset et al., 2003; Lombarte et al., 2010). Los estudios morfológicos de los otolitos de los peces de la familia Sciaenidae que habitan el Río de la Plata y Frente Marítimo, se han incrementado en los últimos años, siendo el *sagitta* el más estudiado. No obstante varios de los trabajos realizados son descriptivos y no fueron abordados de manera cuantitativa.

Los tres capítulos en los cuales se dividió esta investigación contribuyeron a conocer las relaciones entre siete especies de la familia Sciaenidae con su ambiente, su escenario sonoro y como estos factores podrían haber influido en la forma de una estructura altamente especializada como lo es el otolito (*sagitta*), y cuál sería su interpretación a nivel especifico y evolutivo.

Las poblaciones de peces que viven en áreas costeras, están sujetas a cambios en el ambiente, como el aporte de aguas continentales, el efecto de la temperatura, la salinidad y las corrientes, entre otras condiciones oceanográficas. Estos ecosistemas, con condiciones ambientales altamente variables a lo largo de diferentes escalas temporales y espaciales, proveen una buena oportunidad para investigar las características ecomorfológicas de los otolitos de la familia Sciaenidae. La razón por la cual se eligieron estas especies se basó en que todas habitan la región del Rio de la Plata y Frente Marítimo (Nion et al., 2013). La mayoría se caracterizan por estar especializados en comunicación acústica, encontrándose además una relación entre la estructura del otolito, la vejiga natatoria y la función auditiva (Ramcharitar et al., 2001, 2004, 2006; Cruz y Lombarte, 2004; Ramcharitar y Popper, 2004).

Algunas de las especies seleccionadas son de importancia comercial (artesanal o industrial) (ej. *Micropogonias furnieri* y *Cynoscion guatucupa*) ocupan el primer y segundo lugar en volúmenes de captura de los desembarques comerciales costeros en Uruguay (Norbis, 1995; Haimovici e Ignacio, 2005; Norbis et al., 2006, Nion et al., 2013). *Macrodon atricauda, Menticirrhus martinicensis, Umbrina canosai* y *Pogonias courbina* también son de importancia comercial, pero sus volúmenes de captura son menores (Nion et al., 2013; Comisión Técnica Mixta del Frente Marítimo, 2023).

La forma (del *sagitta* y del *sulcus acusticus*) se analizó utilizando dos metodologías diferentes; en la primera se analizaron 6 índices morfométricos involucrando las siguientes variables: área, longitud, ancho, perímetro y peso del otolito; área del *sulcus* y longitud del pez. La segunda metodología se basó en el análisis de la forma del *sulcus* del *sagitta* utilizando herramientas de morfometría geométrica. Los estudios de las relaciones morfométricas del otolito (ACD), y de la morfometría geométrica del *sulcus* (PCA, CVA y UPGMA) para las siete especies analizadas, agruparon las especies en base a los otolitos que presentaron las mismas características de forma. En algunos casos estas agrupaciones se encontraron más relacionadas con su función como componente del sistema sensorial/auditivo que con su relación filogenética. Se encontraron relaciones entre la forma del otolito, el crecimiento del pez, sus hábitos de vida, y su función como componente del sistema auditivo. Cuando varios métodos de análisis de forma convergen en un resultado similar, estos resultados son más confiables, (Ricklefs y Miles, 1994; Foote, 1997).

En este trabajo, utilizando la misma estructura con dos metodologías diferentes se logró diferenciar grupos de forma y relacionarlos con la emisión (o no) de sonido, y a las frecuencias dominantes de emisión. Como profundización, se analizaron las variaciones de forma del otolito de la corvina blanca (*Micropogonias furnieri*) durante su desarrollo ontogenético en relación al ambiente que ocupan.

Un grupo de forma estuvo integrado por *U. canosai*, *P. courbina* y *M. furnieri*, y se caracterizó por presentar *sagittas* con formas circulares (caracterizados por CIR y la relación OH/OL), compartiendo también similar espacio de forma del *sulcus*, conteniendo *ostiums* más grandes, e índices de masa más elevados que el resto de las especies analizadas. Estas especies emiten sonido a frecuencias dominantes bajas (menores a 350 Hz) (Tellechea et al., 2010, 2011a, 2011b, 2017). La característica encontrada de que *U. canosai* y *P. courbina* estén cercanas en las filogenias (Chao, 1978; Lo et al., 2015) y emiten sonido a frecuencias dominantes similares, podría deberse a que a pesar que han colonizado diferentes ambientes, las funciones del sistema

sensorial relacionadas a la percepción del sonido (otolito *sagitta* y *sulcus*), debieron mantenerse sin grandes variaciones (forma-función) (Fay, 1984; Gauldie, 1988; Helfman et al., 2015).

Otro grupo de forma lo integró *C. guatucupa*, que apareció presentando otolitos más circulares en individuos juveniles, y más elípticos en individuos adultos. Chao (1978) clasificó los otolitos del género *Cynoscion* como elípticos y delgados, mientras que Baldas et al., (1997) describió al otolito de esta especie como elongado y con poco espesor, representando este menos del 50% del largo del otolito. En los estudios de morfometría geométrica, en el cual se utilizaron solamente individuos adultos, esta especie mostró una deformación del *sulcus*, tendiendo a ser más elíptico que las seis especies restantes. Al tratarse de una especie con hábitos necto-pelágicos oceánicos, estos resultados coincidirían con aquellos autores que reportaron que los peces que frecuentan ambientes pelágicos presentan *sulcus* más largos que los peces demersales (Gauldie, 1988; Taylor et al., 2020), coincidiendo con el aumento de la actividad de natación y la alimentación piscívora. La especie que presento otolitos diferentes, en su forma, a *C. guatucupa* fué *M. atricauda*. El grado de divergencia morfológica entre taxones suele aumentar con el rango taxonómico (Cherry et al., 1979, 1982; Foote, 1991; 1994), por lo que al ocupar un mismo clado estas dos especies, no era esperable que difieran mayormente en la forma de sus otolitos. Sin embargo difieren en la forma del *sulcus*, rasgo este que se encuentra muy relacionado con la recepción de sonido (Gauldie, 1988).

El encontrar especies cercanas en la filogenia con diferencias en la forma del *sulcus* y, especies lejanas en la filogenia con formas similares, llevó a considerar los procesos morfológicos adaptativos. Si los fenotipos de la eficacia biológica fueran determinados solamente por el genotipo en vez de ser respuestas al ambiente heredadas, no podría haber adaptación. Por otra parte, el buen ajuste de un sistema sensorial a su ambiente no tiene, en todos los casos, una base genética (Gould y Lewontin, 1979). El conocimiento acerca de la genética del desarrollo mostró de que existen generalmente muchas formas de adaptarse a un ambiente (Templeton, 1982) y particularmente el otolito, en su totalidad, es una estructura que presenta variaciones en respuesta

a factores ambientales (Simkiss, 1974; Morales-Nin 1987; Mosegaard et al. 1988; Lombarte y Fortuno, 1992; Aguirre y Lombarte, 1999; Gauldie y Crampton, 2002; Paxton, 2000; Torres et al., 2000; Volpedo y Echeverria, 2003; Lombarte et al., 2003; Vignon y Morat 2010; Vignon 2015).

Una idea que manejan algunos investigadores adaptacionistas, consiste en que al estudiar las partes de un organismo separadamente, se pierde de vista el hecho de que los sistemas constituyen entidades integradas. Los organismos no son una colección de partes independientes, lo que conduce erróneamente a buscar una utilidad óptima de cada una de las partes y cuando esto no se encuentra, surge la necesidad de asociarla a otra estructura (Gould y Lewontin, 1979). Así especies próximas en la filogenia, pueden haber desarrollado adaptaciones distintas para hacer frente a un mismo problema ambiental (Gould y Lewontin, 1979).

Probablemente el caso de *G. guatucupa* y *M. atricauda*, que presentaron otolitos con formas del *sulcus* diferentes y emiten sonido a similares frecuencias dominantes, podría ser visto como un ejemplo de adaptación al ambiente. Estas dos especies que aparecen como hermanas en la filogenia (Chao, 1978; Sasaki, 1989; Lo et al., 2015) son nectopelágicas, con similar tipo de alimentación (piscívoras incluyendo canibalismo) (Timi et al., 2005; Giberto, 2008), ambas presentan una vejiga natatoria bien desarrollada y de forma similar (Chao, 1978). Presentan además algunos caracteres biológicos en común (7), pero difieren en más de 100 caracteres (Sasaki, 1989). Por lo tanto la forma del otolito no necesariamente tiene que ser similar en las dos especies, a pesar de que los rangos de frecuencias dominantes de emisión de sonido sean similares (Tellechea y Norbis, 2012; Tellechea et al, 2019). Según Costa y Bisol (1978) las estrategias adaptativas morfológicas no necesariamente tienen que ser idénticas en especies cercanas en la filogenia, y las especies en consideración en este trabajo, pueden haber desarrollado adaptaciones distintas para hacer frente a un mismo problema ambiental. Por esa razón, las diferencias en la forma del otolito encontrada en estas dos especies podría ser una consecuencia de la modificación de otras estructuras relacionadas, particularmente con la recepción del sonido.

M. furnieri aparece en la filogenia molecular (Lo et al., 2015) como más cercana a *C. guatucupa* y *M. atricauda*. Sin embargo la forma del *sagitta*, del *sulcus acusticus* y su índice de masa fue similar al de *P. courbina* y *U. canosai*. En este caso se podría estar en presencia de una convergencia adaptativa ya que las características de emisión de frecuencias dominantes de sonidos y la forma de sus otolitos es similar. Pero con *M. furnieri* ocurrió algo particular, si bien compartió espacios de forma del otolito similares con *P. courbina* y *U. canosai*, al estudiar la morfometría del *sulcus*, *M. furnieri* apareció superpuesta en el espacio de forma con *M. atricauda*. Esta situación podría deberse al amplio rango de frecuencia, (DC) en que emite *M. furnieri*. Este rango (menos de 100 a más de 800 Hz) supera ampliamente los rangos de frecuencia dominantes de las demás especies. Esto podría ser consecuencia de que los cambios biométricos (morfológicos) ocurridos en el otolito *sagitta* de *M. furnieri* presentaron variaciones asociadas a diferentes grupos de longitud y estos grupos frecuentan ambientes con diferentes características oceanográficas (Wells y Daborn, 1998; Acha et al., 1999; Martinez y Retta, 2002; Breverman et al., 2009; Jaureguizar et al., 2016; Allega et al., 2020). Estos mismos ambientes son frecuentados por *M. atricauda* (Rico, 2000; García et al., 2010; Lorenzo et al., 2011; Nion et al., 2013; Jaureguizar et al., 2016), lo que podría estar evidenciando la adaptación de estas estructuras compartiendo formas similares del sulcus, al escenario sonoro del ambiente que frecuentan.

Un tercer grupo de forma del otolito *sagitta* estuvo integrado por *M. martinicensis* y *P. brasiliensis*. Este grupo se caracterizó por presentar otolitos con formas elípticas y los índices de masa más pequeños entre las siete especies analizadas. En este grupo, el *sulcus* no presento prácticamente deformaciones con respecto a la forma de consenso. La burriqueta (*M. martinicensis*) es una especie migrante marino prefiriendo salinidades relativamente altas, al igual que *P. brasiliensis* (Bacigalupo, 1984; Rico, 2000; Gilberto, 2008; Haluch et al., 2009). De acuerdo a Avigliano et al., (2012) los otolitos con forma elíptica estarían relacionados con las especies que habitan ambientes más salinos como es el caso de *M. martinicensis* y *P. brasiliensis* (Bacigalupo, 1984; Rico, 2000; Robert et al., 2007; Barletta et al., 2008). Ambas especies

presentan un ritmo de crecimiento elevado (K > 0,5) y la edad máxima registrada es de 6 años (Lewis y Fontoura 2004; Clardy et.al. 2014, Madeiro, 2022). Estas dos especies no producen sonido y ambas presentan sus vejigas natatorias no desarrolladas o atrofiadas en los individuos adultos (Chao, 1978). Los mecanismos sónicos basados en caracteres morfológicos identifican a la vejiga natatoria como el estado de carácter ancestral de los actinopterigios soníferos, y la vejiga natatoria aparece como un segundo mecanismo de produccion de sonido para la misma especie o especies en aproximadamente un tercio de las familias de actinopterigios (Rice, et al., 2023). El hecho de que *M. martinicensis* y *P. brasiliensis* posean vejigas natatorias atrofiadas o poco desarrolladas confirmaría lo propuesto por Rice et al., (2023), ya que no se han encontrado trabajos que prueben que estas especies producen sonido.

La morfología general del *sagitta* y su *sulcus* fueron utilizadas para inferir las relaciones entre diferentes taxas especialmente a nivel de especie. Sin embargo no se observó señal filogenética utilizando la forma del *sulcus*. Estos resultados estarían en concordancia con lo encontrado por Rice et al (2023), lo cuales manifiestan que el comportamiento sonífero se encuentra en la raíz de varios clados dentro de los teleósteos como ser los Sciaenidae, los cuales presentan un 78.1% de probabilidad de que el comportamiento sonífero sea ancestral. Estos autores proponen que debe de haber existido una evolución independiente y generalizada en la producción de sonido.

Según Vinson et al. (2004) los cladogramas de las especies de Sciaenidae del Atlántico occidental presentaron internodos pequeños, lo que indicaría cortos intervalos de tiempo entre eventos de diversificación. Según estos autores, este patrón politómico para el grupo de Sciaénidae del Atlántico occidental, fue insuficiente para dilucidar claramente las relaciones filogenéticas entre los principales linajes. Muchos autores han sugerido que puede que no siempre sea necesario incorporar información filogenética en los análisis estadísticos de las comparaciones de datos, porque para un conjunto dado de especies y un rasgo fenotípico determinado, la cantidad de señales filogenéticas puede que no sea muy fuerte (Westoby et al., 1995; Bjorklund, 1997;

Price, 1997; Mazer, 1998; Losos, 1999; Ashton, 2004). Deary y Hilton (2017) analizando señal filogenética en 10 géneros de la familia Sciaenidae en la Bahia de Chesapeake utilizando medidas morfometricas de la cabeza y aparato alimenticio, encontraron que la señal filogenética fue débil para la mayoría de los caracteres analizados de los peces pelágicos y alta para la mayoría de los caracteres de los géneros bentónicos. A pesar de que estos autores no trabajaron a nivel de especie, sus resultados no coinciden con lo reportado en este trabajo. La evolución, reflejada en las relaciones filogenéticas, puede condicionar las estructuras morfológicas (Cheverud et al., 1985; Poling y Fuiman, 1998), pero la dependencia filogenética fue irrelevante para el *sulcus* de los *sagitta* en los Sciaenidae analizados en este estudio.

En este estudio se pudo observar que el otolito *sagitta* y la *mácula* sensorial asociada al *sulcus acústicus* de las siete especies analizadas, son estructuras altamente plásticas y sometidas a una fuerte presión evolutiva en relación con factores ambientales y de comportamiento, dando lugar a una gran variabilidad de formas que pueden asociarse a un carácter específico. Esta asociación coindidió con las características reportadas por algunos autores que analizaron estas variables individualmente. Y esta plasticidad estructural, permitiría a los Sciaenidae coexistir en los mismos escenarios sonoros costeros, sin perder sus necesidades auditivas particulares, incluso solapando sus áreas de distribución espacial y temporal.

Perspectivas

Se considera que futuros trabajos podrían analizar la biometría de los otolitos *sagitta* de: *Pogonias courbina, Umbrina canosai, Macrodon atricauda, Paralonchurus brasiliensis, Menticirrhus martinicensis* y *Cynoscion guatucupa,* separados por especie y por grupos de tallas tomando en cuenta la talla de primera madurez, para identificar como se comporta la forma del otolito a medida que el pez crece en tamaño. También sería muy importante analizar los *sulcus* de

los juveniles de las siete especies estudiadas mediante morfometría geométrica, ya que (de acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo) podrían brindar información relevante acerca de los cambios que experimentan durante su desarrollo.

Como consecuencia de este trabajo, se ha generado interés en obtener registros de imágenes de alta calidad para la base internacional de datos (Anàlisi de FORmes d'Otòlits) (Shape Analysis of Fish Otoliths) (AFORO). Esta base ofrece un catálogo abierto en línea de imágenes de otolitos de *sagitta* y su análisis de forma asociado mediante técnicas de reconocimiento de patrones aplicando la transformada de Fourier (FT) y el análisis wavelet (WT). Este sitio también permite buscar e identificar directamente mediante consulta imágenes de otolitos.

De los resultados del Capítulo II se plantea seguir profundizando en encontrar relaciones entre la forma del otolito y el ambiente, cuantificando por hábitat que ocupan dichas especies.

Bibliografía

Acha, E.M., Mianzan, H.W., Guerrero, R.A., Favero, M. y Bava, J. (2004). Marine fronts at the continental shelves of austral South America: Physical and ecological processes. Journal of Marine Systems. 44, 83-105. https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2003.09.005.

Acuña, A. y Viana, F. (2002). Reproductive cycle and environmental characteristics of spawning áreas of King weakfish (*Macrodon ancylodon*) and sea trout (*Cynoscion guatucupa*) along the Uruguayan coastline. In: The Río de la Plata. Research to Manage the Environment, Fish Resources and the Fishery in the Saline Front. Eds: Vizziano, D; P. Puig; C. Mesones & G.J. Nagy. Programa Ecoplata, Montevideo, Uruguay. 311 p

Aguilera, O., Belem, A.L., Angelica, R., Macario, K., Crapez, M., Nepomuceno, A., Paes, E., Tenório, M.C., Dias, F., Souza, R., Rapagnã, L., Carvalho, C. y Silva, E. (2016). Fish bone diagenesis in southeastern Brazilian shell mounds and its importance for paleoenvironmental studies. Quaternary International, 391, 18–25.

Aguirre, W.E. (2003). Allometric growth of the sulcus in Cynoscion spp. (Sciaenidae). Journal of Fish Biology, 63, 1341–1346. https://doi:10.1046/j.1095-8649.2003.00238.x.

Aguirre, H. y Lombarte, A. (1999). Ecomorphological comparisons of sagittae in Mullus barbatus and M. surmuletus. J. Fish Biol., 55: 105-114

Alemany, D., Acha, E.M. e Iribarne, O. (2009). The relationship between marine fronts and fish diversity in the patagonian shelf large marine ecosystem. Journal of Biogeography 36, 2111-2124.

Anderson, M.J. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. Austral Ecology, 26, 32-46. https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x.

Arellano, R.V., Hamerlynck, O., Vincx, M., Mees, J., Hostens, K. y Gijselinck, W. (1995). Changes in the ratio of the sulcus acusticus area to the *sagitta* area of Pomatoschistus minutus and P. Iozanoi (Pisces, Gobiidae). Marine Biology, 122, 355-360.

Ashton, K. (2004). Comparing phylogenetic signal in intraspecific and interspecific body size datasets. Journal of Evolutionary Biology, 17, 1157–1161. https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2004.00764.x.

Assis, C.A. (2000). Estudo morfológico dos otólitos sagitta, asteriscus e lapillus de teleósteos (Actinopterygii, Teleostei) de Portugal Continental: sua aplicação em estudos de filogenia, sistemática e ecologia. Tese de doutorado em Biologia. Faculdade de Ciências - Universidade de Lisboa, Lisboa.

Assis, C.A. (2004). Guia para a identificação de algumas famílias de peixes ósseos de Portugal Continental, através da morfologia dos seus otólitos sagitta. Câmara Municipal de Cascais, Cascais.

Avigliano, E., Tombari, A. y Volpedo, A.V. (2012). ¿El otolito del pejerrey (*Odontesthes bonariensis*), refleja el estrés ambiental?. Biología Acuatica N°27, 9-15

Avigliano, E., Alves, N.M., Rico, M.R., Ruarte, C.O., D'Atri, L., Méndez, A., Pisonero, J., Volpedo, A.V. y Borstelmann, C. (2021). Population structure and ontogenetic habitat use of Micropogonias furnieri in the Southwestern Atlantic Ocean inferred by otolith chemistry. Fish. Res. 240, 105953. https://doi.org/10.1016/j.fishres.2021.105953

Bacigalupo, M.L. (1984). La distribucion de las especies de la familia Scienidae en la zona común de pesca y plataforma Argentina. Seminario Universidad de Buenos Aires, 77 pp.

Bakun, A. y Parrish, R.H. (1991) Comparative studies of coastal pelagic fish reproductive habitats – the anchovy (Engraulis anchoita) of the southwestern Atlantic. ICES J. Mar. Sci. 48: 343– 361.

Bagenal, T.B. (1974). Ageing of fish. Unwin brothers, Old Working, Surrey, UK. 226 p.

Baldás, M.I., Pérez Macri, G., Volpedo, A.V. y Echeverria, D.D. (1997). Morfología de la sagitta de peces marinos de la costa bonaerense de la Argentina. 1. Carangidae, Sciaenidae, Mullidae. Atlantica, 19, 99-112.

Barletta, M., Amaral, C.S., Correa, M.F.M., Guebert, F., Dantas, D.V., Lorenzi, L. y Saint-Paul. U. (2008). Factors affecting seasonal variations in demersal fish assemblages at an ecocline in a tropical–subtropical estuary. Journal of Fish Biology 73, 1314–1336. http://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2008.02005.x, available online at http://www.blackwell-synergy.com

Begg, G.A., Campana, S.E., Fowler, A.J. y Suthers, I.M. (2005). Otolith research and application: current directions in innovation and implementation. Mar. Freswater Res. 56 (5): 477 – 483.

Bervian, G., Fontoura, N.F. y Haimovici, M. (2006). Statistical model of variable allometric growth: otolith growth in Micropogonias funieri (Actinopterygii, Sciaenidae). Journal of Fish Biology, 68: 196-208

Betz. O. (2006). Ecomorphology: Integration of form, function, and ecology in the analysis of morphological structures, Mitt. Dtsch. Ges. Allg. Angew. Ent. 15: 409 – 416.

Bjorklund, M. (1997). Are 'comparative methods' always necessary? Oikos, 80, 607–612.

Blasina, G.E., Barbini, S.A. y Díaz de Astarloa, J.M. (2010). Trophic ecology of the black drum, Pogonias cromis (Sciaenidae), in Mar Chiquita coastal lagoon (Argentina). Journal of Applied Ichthyology, 26, 528–534.

Blomberg, S.P. y Garland, T. (2002). Tempo and mode in evolution: phylogenetic inertia, adaptation and comparative methods. Journal of Evolutionary Biology, 15, 899–910.

Blomberg, S.P., Garland, T. e Ives, A.R. (2003). Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile. Evolution, 57(4), 717-45. https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00285.x.

Blomberg, S.P., Lefevre, J.G., Wells, J.A. y Waterhouse, M. (2012). Independent contrasts and PGLS regression estimators are equivalent. Systematic Biology, 61, 382–391.

Bock, W.J. (1994). Concepts and methods in ecomorphology. J. Biosci., Vol. 19, Number 4, pp 403-413.

Bond, C.E. (1996). Biology of Fishes. 2nd ed. XVIII, Philadelphia. Saunders (ed.) 750 p.

Brooks, D.R. y McLennan, D.A. (1991). Phylogeny, ecology, and behavior: a research program in comparative biology. Chicago (IL): University of Chicago Press. 441pp.

Burke, J.S., Peters, D.S. y Hanson, G.Y. (1993). Morphological indices and otolith microstructure of Atlantic croaker, Micropogonias undulatus, as indicators of habitat quality along an estuarine pollution gradient. Env. Biol. Fish. 36: 25 – 33.

Campana, S.E. (1999). Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. Mar. Ecol. Prog. Ser. 188:263-297.

Campana, S.E. (2004). Photographic Atlas of fish otoliths of the Northwest Atlantic Ocean. Canadian Special Publication of. Fisheries and Aquatic Sciences, 133: 1-284.

Campana, S.E. (2005). Otolith science entering the 21st century. Marine and Fresh water Research, 56, 485-495. www.publish.csiro.au/journals/mfr

Campana, S.E. y Neilson, J.D. (1985). Microstructure of fish otoliths. Can. 1. Fish. Aquat. Sci. 42, 1014-1032. https://doi.org/10.1139/f85-127

Campana, S.E. y Casselman, J.M. (1993). Stock discrimination using otolith shape analysis. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 50:1062-1083

Cardoso, L.G. y Haimovici, M. (2011). Age and changes in growth of the king weakfish *Macrodon atricauda* (Günther, 1880) between 1977 and 2009 in southern Brazil. Fish. Res. 111, 177-187. https://doi.org/10.1016/j.fishres.2011.06.017

Cardinale, M., Doering-Arjes, P., Kastowsky, M. y Mosegaard, H. (2004). Effects of sex, stock, and environment on the shape of known-age Atlantic cod (*Gadus morhua*) otoliths. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 61, 158–167 (2004) https://doi.org/10.1139/F03-151

Cardini, A. y Elton, S. (2008). Does the skull carry a phylogenetic signal? Evolution and modularity in the guenons. Biological Journal of the Linnean Society, 93, 813–834.

Cardini, A. y Loy, A. (2013). On growth and formin the "computer era": from geometric to biological morphometrics. Virtual morphology and evolutionary morphometrics in the new millennium. Journal of Mammalogy, 24, 1–5.

Carey, P.W. (1992). Fish prey species of the New Zealand fur seal (Arctocephalus forsteri, Lesson) New Zealand Journal of Ecology 16, 41-46

Carvalho, B., Volpedo, A.V. y Fávaro, L.F. (2020). Ontogenetic and sexual variation in the sagitta otolith of *Menticirrhus americanus* (Teleostei; Sciaenidae) (Linnaeus, 1758) in a subtropical environment. Pap. Avulsos Zool. 60, e20206009.

Carvalho, B., Volpedo, A.V. y Favaro, L.F. (2021). Age and reproduction of the southern king croaker *Menticirrhus americanus* in subtropical South Atlantic environments. Lat. Am. J. Aquat. Res. 49(2), 242-257. http://dx.doi.org/10.3856/vol49-issue2-fulltext-2602

CARP-SIHN-SOHMA. (1990). Estudio para la Evaluación de la Contaminación en el Río de la Plata, Informe de Avance 1989. ISBN 950-99583-0-1. 2 vol. text: 422 p.

Carroll, A.G., Przeslawski, R., Duncan, A., Gunning, M. y Bruce, B. (2016). A critical review of the potential impacts of marine seismic surveys on fish & invertebrates. Marine Pollution Bulletin. 114(1), 9-24. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.11.038.

Castonguay, M., Simard, P. y Gagnon, P. (1991). Usefulness of Fourier analysis of otolith shape for Atlantic mackerel (Scomber scombrus) stock discrimination. Can. J. Fish Aquat. Sci. 48: 296 – 302.

Chao, L.N. (1978). A basis for classifying western Atlantic Sciaenidae (Teleostei: Perciformes). NOAA. Technical Report NMFS Circular, 415, 1- 64.

Chao, L.N. (1995). Sciaenidae: corvinas, barbiches, bombaches, corvinatas, corvinetas, corvinillas, lambes, pescadillas, roncachos y verrugatos. En: W. Fisher, F. Krup, W. Scheneider, C. Sommer, K.E. Carpenter, Niem, V. (Eds.) Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacifico Centro Oriental (pp. 1427-1518). http://www.fao.org/docrep/010/v6250s/v6250s00.htm.

Chirichigno, N., W. Fischer y Nauen, C.E. (Comps). (1982). INFOPESCA. Catálogo de especies marinas de interés económico actual o potencial para América Latina. Parte 2. Pacífico Centro y Sudoriental. Rome, FAO/PNUD, SIC/82/2/2: 1-588.

Chollet-Villalpando, J.G., García-Rodríguez, F.G., De Luna, E. y De La Cruz-Agüero, J. (2019). Geometric morphometrics for the analysis of character variation in size and shape of the sulcus acusticus of sagittae otolith in species of Gerreidae (Teleostei: Perciformes). Marine Biodiversity, 49, 2323 – 2332. https://doi.org/10.1007/s12526-019-00970-y

Clardy, S.D., Brown-Peterson, N.J., Peterson, M.S. y Leaf, R.T. (2014). Fish. Bull. 112, 178-197. https://doi.org/10.7755/FB.112.2-3.6

Collard, M. y Wood, B. (2000). How reliable are human phylogenetic hypotheses? Proceedings of the National Accademy of Sciences of the United States of America, 97, 5003–5006.

Comisión Técnico Mixta del Frente Marítimo. 2023. https://ctmfm.org/estadistica-pesquera (last visit17/05/2023).

Connaughton M.A., Taylor, M.H. y Fine, M.L. (2000). Effects of fish size and temperature on weakfish disturbance calls: implications for the mechanism of sound generation. Journal of Experimental Biology, 203, 1503-1512.

Cordo, H.D. (1986a). Estudios biológicos sobre peces costeros con datos de dos campaña deinvestigación realizadas en 1981. III. La pescadilla de red (Cynoscion striatus). Publ. ComTéc. Mixta Fr. Mar., 1 (1): 15-27.

Corrêa, M.F.M. y Vianna, M.S. (1992). Catálogo de otólitos de Sciaenidae (Osteichthyes - Perciformes) do litoral do estado do Paraná, Brasil. Neritica, 7, 13-41.

Cousseau, M.B. y Perrotta, R.G. (2000). Peces marinos de Argentina: biología, distribución, pesca. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. ISBN 9879624440, 9789879624449. 167 pp.

Cruz, A. y Lombarte, A. (2004). Otolith size and their relationship with colour pattern and sound production. Journal of Fish Biology, 65, 1512-1525.

Da Silva-Castiglioni, D. y Negreiros-Fransozo, M.L. (2004). Somatic growth of the mudflat fiddler crab *Uca rapax* (Smith, 1870) (Brachyura: Ocypodidae) from two subtropical mangroves in Brazil. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios, 20 (39), 15-22. https://doi.org/10.19136/era.a20n39.243

Deary, A.L. y Hilton, E.J. (2017). Influence of cladogenesis on feeding structures in drums (Teleostei: Sciaenidae). Zoology, 120, 53-61. https://doi.org/10.1016/j.zool.2016.08.004.

Deary, A.L., Metscher, B., Brill, R.W. y Hilton, E.J. (2016). Shifts of sensory modalities in early life history stage estuarine fishes (Sciaenidae) from the Chesapeake Bay using X-ray micro computed tomography. Environmental Biology of Fishes, 99, 361–375. https://doi.org/10.1007/s10641-016-0479-8.

De Vries, H.L. (1950). The mechanics of the labyrinth otoliths. Acta Otolaryngol, 38, 262-273.

De Vries, D.A., Grimes, C.B. y Prager, M.H. (2002). Using otolith shape analysis to distinguish eastern Gulf of Mexico and Atlantic Ocean stocks of king mackerel. Fisheries Research 57, 51–62.

Degens, E.T., Desuser, W.G. y Haedrich, R.L. (1969). Molecular structure and composition of fish otolith. Mar. Biol. 2: 105 – 113.

D'Iglio, C., Natale, S., Albano, M., Savoca, S., Famulari, S., Gervasi, C., Lanteri, G., Panarello, G., Spanò, N. y Capillo, G. (2021). Otolith Analyses Highlight Morpho-Functional Differences of Three Species of Mullet (Mugilidae) from Transitional Water. Sustainability, 14 (1), 398. https://doi.org/10.3390/su14010398.

Dove, S.G. (1998). Undestanding the black box: otoliths as environmental monitors. En: 2nd International Symposium on Fih Otolith Research and Application Radisson SAS Royal Bryggen, Bergen, 20 – 25 june: 46.

EcoPlata Team. Eds. (1996). The Río de la Plata. An Environmental Overview. An EcoPlata Project Background Report. Working Draft, November 1996. Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia. 242 p.

Fay, R.R. (1984). The Goldfish Ear Codes the Axis of Acoustic Particle Motion in Three Dimensions. Science, 225, Issue 4665 pp. 951-954. https://doi.org/10.1126/science.6474161.

Fay, R.R. y Popper, A.N. (2000). Evolution of hearing in vertebrates: The inner ears and processing. Hearing Research, 149, 1–10. https://doi.org/10.1016/S0378-5955(00)00168-4.

Felsenstein, J. (1985). Phylogenies and the comparative method. The American naturalist, 125 (1), 1–15.

Fine, M.L., Winn, H.E. y Olla, B. (1977b). Communication in fishes. In How Animals Communicate (Ed. by T. Sebeok), pp. 472-518. Bloomington: Indiana University Press.

Fine, M.L, Malloy, K.L., King, C.B., Mitchell, S.L. y Cameron, T.M. (2001). Movement and sound generation by the toadfish swimbladder. Journal of Comparative Physiology A 187 (5), 371–379. https://doi.org/10.1007/s003590100209.

Fine, M.L. y Schrinel, J. (2004). The effect of loading on disturbance sounds of the Atlantic croaker Micropogonius undulatus: Air versus water. J. Acoust. Soc. Am. 116, 1271-1275.

Fish, M.P. y Mowbray, W.H. (1970). Sound of the Western North Atlantic Fishes Baltimore: Johns Hopkins Press.

Flock, A. (1964). Structure of the *macula utriculi* with special reference to directional interplay of sensory responses as revealed by morphological polarization. J. Cell. Biol. 22, 413–431.

Framiñán, M.B. y Brown, O.B. (1996). Study of the Río de la Plata Turbidity Front Part I: Spatial and Temporal distribution. Continental Shelf Research. 16, 1259–1282.

Framiñán, M.B., Etala, P., Acha, E.M., Guerrero, R.A., Lasta, C. y Brown, O.B. (1999). Physical characteristics and Processes of the Río de la Plata Estuary. In: Perillo, G.M.E., Pino, M. y Piccolo, C.C. (Eds.). Estuaries of South América: Their Geomorphology and Dynamics. (7, 161–194), Springer-Verlag, Berlin.

Freplata. 2004. “Análisis Diagnóstico Transfronterizo del Río de la Plata y su Frente Marítimo”. Documento Técnico. Proyecto Protección Ambiental del Río de la Plata y su Frente Marítimo. Proyecto PNUD/GEF/RLA/99/G31. 313pp.

Futuyma, D. y Kirkpatrick, M. (2023). Evolution. Fifth Edition. Sinauer Associates is an imprint of Oxford University Press 702 pp.

Gaemers, P.A.M. (1973). New otoliths from the Tertiary of the North Sea Basin. Meded. Werkgr. Tert. Kwart. Geol., 10 (2): 58-75.

Gaemers, P.A.M. (1976). New gadiform otoliths from the Tertiary of the North Sea Basin and a revision of some fossil and recent species. - Leidse Geol. Meded.,49.

Gaemers, P.A.M. (1984). Taxonomic position of the cichlidae (Pisces, Perciformes) as demonstrated by the morphology of their otoliths, Neth J Zool 34: 566 – 595.

Gagliano, M. y McCormick, M.I. (2004). Feeding history influences otolith shape in tropical fish. Marine Ecology Progress Series 278, 291–296.

Garcia, M.L., Jaureguizar, A.J. y Protogino, L.C. (2010). From fresh water to the slope: fish community ecology in the Río de la Plata and the sea beyond. Latin American Journal of Aquatic Research, 38(1), 81-94. https://doi.org/10.3856/vol38-issue1-fulltext-8

Garland T. Jr., Bennett A.F. y Rezende E.L. (2005). Phylogenetic approaches in comparative physiology. The Journal of Experimental Biology, 208, 3015–3035. https://doi.org/10.1242/jeb.01745.

Gatz, A.J. (1979). Ecological Morphology of freshwater stream fishes. Tulane studies in Zoology and Botany 21: 91–124.

Gauldie, R.W. (1988). Function, form and time-keeping properties of fish otoliths. Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, 91(2), 395-402.

Gauldie, R.W. (1990) Phase differences between check ring locations in the orange roughy otolith. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 47, 760-765.

Gauldie, R.W. y Crampton, J.S. (2002). An eco-morphological explanation of individual variability in the shape of the fish otolith: comparison of the otolith of Hoplostethus atlanticus with other species by depth. Journal of Fish Biology, 60, 1204–1221.

Gauldie, R.W. y Nelson, D.G.A. (1990). Otolith growth in fishes. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: 97(2), 119-135.

Gauldie, R.W., Sharma, S.K., y Volk, E. (1997). Micro-raman spectral study of vaterite and aragonite otoliths of the coho salmon, Oncorhynchus kisutch. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, 118 (3), 753–757. https://doi.org/10.1016/S0300-9629(97)00059-5

Giberto, D.A. (2008). Estructura de la comunidad bentónica y ecología trófica de Sciaenidae (Pisces: Osteichthyes) en el estuario del Río de la Plata. (Doctoral thesis, Universidad Nacional de Comahue, Neuquen, Argentina). 227 pp.

Gimenez, L., Verocai, J.E., Carranza, A., Borthagaray, A.I., Rodriguez, M. y Saona, G. (2003). Relevamiento de la biodiversidad costera de Uruguay: Invertebrados bentónicos y peces. Proyecto CSIC-Facultad de Ciencias, Informe 60 pp.

Gimenez. L., Borthagaray, A.I., Rodriguez, M., Brazeiro, A. y Dimitriadis, C. (2005). Scale-dependent patterns of macrofaunal distribution in soft-sediment intertidal habitats along a large-scale estuarine gradient. Hel. Mar. Res. 59: 224 – 236.

Giménez, J., Manjabacas, A., Tuset, V.M. y Lombarte, A. (2016). Relationships between otolith and fish size from the Mediterranean Sea and eastern Atlantic species to be used in predator-prey studies. Journal of Fish Biology, 89, 2195-2202.

Gordoa, A., Moli, B. y Raventos, N. (2000). Growth performance of four wrasse species on the north-western Mediterranean coast. Fisheries Research, 45, 43-50. https://doi.org/10.1016/S0165-7836(99)00094-6

Granados-Amores, E., Granados-Amores, J., Zavala-Leal, O.I. y Flores-Ortega, J.R. (2020). Geometric morphometrics in the sulcus acusticus of the sagittae otolith as tool to discriminate species of the genus Centropomus (Centropomidae: Perciformes) from the southeastern Gulf of California. Marine Biodiversity, 50, 10. https://doi.org/10.1007/s12526-019-01030-1.

Grant, W. y Best, W. (1987). Otolith-organ mechanics: lumped parameter model and dynamic response. Aviat. Space Environ. Med. 58, 970-976.

Guerrero, R.E., Acha, M., Framiñan, M.F. y Lasta, C. (1997). Physical oceanography of the Río de la Plata Estuary-Argentina. Continental Shelf Research, 17, 727–742.

Guerrero, R.A. y Piola, A.R. (1997). Masas de agua en la plataforma continental. 107-118. En: El Mar Argentino y sus recursos pesqueros: Antecedentes históricos de las exploraciones en el mar y características ambientales 1, E. Boschi (Ed).

Haimovici, M. (1982). Estructura y dinámica poblacional del Pargo Blanco *Umbrina Canosai* (Sciaenidae, Pisces) del litoral de Rio Grande do Sul, Brasil (Doctoral thesis, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales) 280 pp.

Haimovici, M. (1988). Crecimiento de la pescadilla real *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae) en el sur de Brasil. Publicación Cientifica de la Comisioón Mıxta del Frente Marítimo 4, 99–106.

Haimovici, M., Teixeira, R.L. y Arruda, C. (1989). Alimentacao da castanha Umbrina canosai (Pisces: Scienidae) no suldo Brasil. Revista Brasilera de Biologia, 49 (2), 511-522.

Halanych, K.M. (2004). The new view of animal phylogeny. Annual Review of Ecology Evolution and Systematics, 35, 229–256.

Haluch, C.F., Freitas, M.O., Correa, M.F.M. y Abilhoa, V. 2009. Variação sazonal e mudanças ontogênicas na dieta de Menticirrhus americanus (Linnaeus, 1758) (Teleostei, Sciaenidae) na baía de Ubatuba-Enseada, Santa Catarina, Brasil. PANAMJAS, 4(3), 347-356.

Hammer, O. y Harper, D.A.T. (2001). PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica, 4, 9. Aviable at: https://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.

Hamer, P.A. y Jenkins, G.P. (2007). Comparison of spatial variation in otolith chemistry of two fish species and relationships with water chemistry and otolith growth. Journal of Fish Biology 71, 1035–1055.

Harding, S.M. y Chittenden, M.E. (1987). Reproduction, Movements, and Population Dynamics of the Southern Ki ngfish, *Menticirrhus americanus*, in the Northwestern Gulf of Mexico. NOAA Technical Report NMFS 49. 27 p.

Hawkings, A.D. y Popper, A.N. (2018). Directional hearing and sound source localization by fishes. The Journal of the Acoustical Society of America 144, 3329; https://doi.org/10.1121/1.5082306

Holt, S.A. (2002). Intra and inter-day variability in sound production by red drum (Sciaenidae) at a spawning site. Bioacoustics 12: 227 – 229.

Huxley, J.S. (1950). Relative growth and form transformation. In: A Discussion on the Measurement of Growth and form, by Zuckerman (Ed.), Universidad de Michigan, 182 pp.

Ihssen, P.E., Booke, H.E., Casselman, J.M., Glade, M.C., Payne, N.R. y Utter, F.M. (1981). Stock identifications: materials and methods. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 38: 1838-1855.

Isaac, V.J. (1988). Synopsis on biological data on the whitemouth croaker, Micropogonias furnieri (Desmarest, 1823). FAO Fish Synopsis, (150), 35 pp.

Jaureguizar, A.J., Menni, R., Bremec, C., Mianzan, H. y Lasta, C. (2003). Fish assemblage and environmental patterns in the Río de la Plata estuary. Estuarine. Coastal and Shelf Science, 56, 921–933.

Jaureguizar, A.J., Menni, R., Guerrero, R. y Lasta, C. (2004). Environmental factors structuring fish communities of the Río de la Plata estuary. Fisheries Research, 66, 195–211.

Jaureguizar, A., Menni, R., Lasta, C. y Guerrero, R. (2006). Fish assemblage of the northern Argentine coastal system: spatial patterns and their temporal variations. Fish. Oceanogr, 15, 326-344.

Jaureguizar, A. y Guerrero, R. (2009). Striped weakfish (Cynoscion guatucupa) population structure in waters adjacent to Río de la Plata, environmental influence on it inter-annual variability. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 85, 89-96.

Jolliffe, I.T. (2002). Principal component analysis. Second edition, New York: Springer-Verlag.

Jones, C.M. y Wells, B. (1998). Age, growth, and mortality of black drum, Pogonias cromis, in the Chesapeake Bay region. Fishery Bulletin, 96(3), 451-461. https://digitalcommons.odu.edu/oeas_fac_pubs/42

Kalish J.M. (1989). Otolith microchemistry: validation of the effects of physiology, age and enviroment on otolith composition. Journal of the Experimental Marine Biology and Ecology 132: 151-178.

Kalish, J.M. (1990). Use of otolith microchemistry to distinguish the progeny of sympatric anadromous and non-anadromous salmonids.U.S. Fish. Bull. 88:657-666.

Karlou-Riga, C. (2000). Otolith morphology and age and growth of Trachurus mediterraneus (Steindachner) in the Eastern Mediterranean. Fisheries Research, 46(1-3), 69-82. http://doi.org/:10.1016/S0165-7836(00)00134-X

Karr, J.R. y James. F.C. (1975). Eco-morphological configurations and convergent evolution in species and communities. – In: Cody, M.L. y Diamond, J.M.: Ecology and evolution of communities. Belknap Press, Cambridge, Massachussetts: 258-291.

Kéver, L., Colleye, O., Herrel, A., Romans, P. y Parmentier, E. (2014). Hearing capacities and otolith size in two ophidiiform species (Ophidion rochei and Carapus acus). The Journal of Experimental Biology, 217, 2517-2525. https://doi.org/10.1242/jeb.105254.

Klingenberg, C.P. (1996). Multivariate allometry. In: Marcus L.F., Corti M., Loy A., Naylor G.J.P. y Slice D.E. (Eds.), Advances in morphometrics. New York: Plenum Press. p. 23–49.

Klingenberg, C.P. y Ekau, W. (1996). A combined morphometric and phylogenetic analysis of an ecomorphological trend: pelagization in Antartic fishes (Perciformes, Nototheniidae). Biological Journal of the Linnean Society, 59, 143-177. https://doi.org/10.1111/J.1095-8312.1996.TB01459.X.

Klingenberg, C.P. y Gidaszewski, N.A. (2010). Testing and Quantifying Phylogenetic Signals and Homoplasy in Morphometric Data. Systematic Biology, 59(3), 245-261. https://doi.org/10.1093/sysbio/sypl06.

Klingenberg, C.P. (2011). MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. Molecular Ecology Resources, 11, 353–357.

Klingenberg, C.P. y Marugán-Lobon, J. (2013). Evolutionary Covariation in Geometric Morphometric Data: Analyzing Integration, Modularity, and Allometry in a Phylogenetic Context. Society of Systematic Biologists, 62(4), 591–610. https://doi.org/10.1093/sysbio/syt025.

Koepfli K.P, Jenks S.M, Eizirik E, Zahirpour T, Van Valkenburgh B. y Wayne R.K. (2006). Molecular systematics of the Hyaenidae: relationships of a relictual lineage resolved by a molecular supermatrix. Molecular Phylogenetics and Evolution, 38, 603–620.

Krysl, P., Hawkins, A.D., Schilt, C. y Cranford, T.W. (2012). Angular Oscillation of Solid Scatterers in Response to Progressive Planar Acoustic Waves: Do Fish Otoliths Rock? PLOS ONE, 7(8), e42591. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042591.

Ladich, F. y Popper, A.N. (2004). Parallel evolution in fish hearing organs. In Evolution of the Vertebrate Auditory System (G.A. Manley, A.N. Popper y R.R. Fay, eds), pp. 98– 127. New York, NY: Springer-Verlag.

Ladich, F. y Fine, M.L. (2006). Sound-generating mechanisms in fishes: a unique diversity in vertebrates. In: Ladich, F. (Ed.) Sound Communication in fishes. (pp 3–43). Springer Vienna. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1846-7.

Laidig, T.E. y Ralston, S. (1995). The potential use of otolith characters in identifying larval rockfish (*Sebastes* spp.). Fisheries Bulletin, 93(1), 166-171

Legendre, P. y Legendre, L.F. (2012). Numerical ecology. Third Edition. Elsevier Science BV, Amsterdam, The Netherlands.

Lemos, P.H., Corrêa, M.F.M. y Abilhôa, V. (1992/1993). Catálogo de otólitos de Gerreidae (Osteichthyes - Perciformes) do litoral do estado do Paraná, Brasil. Nerítica, 7, 109-117.

Leta H. R. (1987b). Contribución al conocimiento de la alimentación de la pescadilla de red (*Macrodon ancylodon*). Publ. Com. Téc. Mix. Fr. Mar., Montevideo, 3: 77-78.

Lewis, D.S. y Fontoura, N.F. (2005). Maturity and growth of *Paralonchurus brasiliensis* females in southern Brazil. J. Appl. Ichthyol. 21, 94-100.

(Teleostei, Perciformes, Sciaenidae)

Lo, P.-C., Liu, S-H., Chao, N.L., Nunoo, F., Mok, H-K. y Chen, W-J. (2015). A multi-gene dataset reveals a tropical New World origin and Early Miocene diversification of croakers (Perciformes: Sciaenidae), Molecular Phylogenetics and Evolution, 88, 132-143. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.03.025.

Locascio J.V. y Mann, D.A. (2011). Diel and seasonal timing of sound production by black drum (*Pogonias cromis*). Fish. Bull. 109, 327-338.

Lopez-Cazorla, A. (2000). Age structure of the population of weakfish *Cynoscion guatucupa* (Cuvier) in the Bahia Blanca waters, Argentina. Fisheries Research, 1025 (1-3), 1-8.

López-Laborde, J. (1987). Distribución de sedimentos superficiales de fondo del Río de la Plata Exterior y Plataforma adyacente. Invest. Oceanológicas 1 (1), 19–30.

Lombarte, A. y Castellon, A. (1991). Castellón. Interespecific and intraespecific otolith variability in the genus Merluccius as determined by image analysis. Canadian Journal of Zoology, 69, 2442-2449

Lombarte, A. (1992). Changes in otolith area: sensory area ratio with body size and depth. Environmental Biology of fishes, 33, 405-410.

Lombarte, A. y Fortuño, J.M. (1992). Differences in Morphological Features of the Sacculus of the Inner Ear of Two Hakes (Merluccius capensis and M. paradoxus, Gadiformes) Inhabits from Different Depth of Sea. Journal of Morphology, 214, 97-107.

Lombarte, A. y Lleonart, J. (1993). Otolith size changes with body growth, habitat depth and temperature. Environmental Biology of Fishes, 37, 297-306.

Lombarte, A., Torres, G.J. y Morales-Nin, B. (2003). Specific *Merluccius* otolith growth patterns related to phylogenetics and environmental factors. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 83, 4154/1-5

Lombarte, A. y Popper, A.N. (2004). Quantitative changes in the otolithic organs of the inner ear during the settlement period in European hake (Merluccius merluccius). Marine Ecology Progress Series, 267, 233-240.

Lombarte, A., Palmer, M., Matallanas, J., Gómez-Zurita, J. y Morales-Nin, B. (2010). Ecomorphological trends and phylogenetic inertia of otolith sagittae in Nototheniidae. Environmental Biology of Fishes, 89, 607-618. https://doi.org/10.1007/s10641-010-9673-2.

Lorenzo, M.I., Díaz de Astarloa, J.M., Norbis, W. y Cousseau, M.B. (2011). Long term fish assemblages as units of management in a temperate estuary (Rio de la Plata - SW Atlantic Ocean). Brazilian Journal of Oceanography, 59 (1), 43-59.

Losos, J.B. (1999). Uncertainty in the reconstruction of ancestral character states and limitations on the use of phylogenetic comparative methods. Animal Behavior, 58, 1319–1324.

Luczkovich, J.J., Sprague, M.W., Johnson, S.E. y Pullinger, R.C. (1999). Delimiting spawning areas of weakfish Cynoscion regalis (Family Sciaenidae) in Pamlico sound, North Carolina using passive hydroacoustic surveys. Bioacoustics, 10, 143-160.

Lychakov, D.V. y Rebane, Y.T. (1993). Efect of otolith shape on directional sound perception in fish. J. Evol. Biochem. Physiol. 28, 531-536.

Lychanov, D.V. y Rebane, Y.T. (2000). Otolith regularities. Hearing Research, 143, 83-102.

Macchi, G.J., Acha, E.M. y Lasta, C.A. (2002). "Reproduction of black drum (*Pogonias cromis*) in the Río de la Plata estuary, Argentina," Fisheries Research, 59, 83–92. https://doi.org/10.1016/S0165-7836(01)00410-6.

Macchi, G.J., Acha, E.M., y Militelli, M.I. (2003). Seasonal egg production of whitemouth croaker (Micropogonias furnieri) in the Río de la Plata estuary, Argentina – Uruguay. Fisheries Bulletin, 101, 332–342.

Maddison, W.P. y Maddison, D.R. (2021). Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.70 http://www.mesquiteproject.org.

Madsen, O., Scally, M., Douady, C.J., Kao, D.J., De Bry, R.W., Adkins, R, Amrine, H.M., Stanhope, M.J., de Jong Wilfried, W. y Springer, M.S. (2001). Parallel adaptive radiations in two major clades of placental mammals. Nature, 409, 610–614.

Manly, B.F.J. y Alberto, J.A.N. (2016). Multivariate Statistical Methods: a Primer, 4th Edition. Chapman and Hall/CRC, New York, MY, USA. http://doi.org/10.1201/9781315382135

Marcus, L.F. (1990). Traditional morphometrics. In: F.J. Rohlf, & F.L. Bookstein (Eds.) Proceedings of the Michigan morphometrics workshop (pp. 77-122). University of Michigan, Museum of Zoology.

Marcus, L.F., Hingst-Zaher, E. y Zaher, H. (2000). Application of landmark morphometrics to skulls representing the orders of living mammals. Hystrix, 11, 27–47.

Martins, E.P. y Hansen, T.F. (1997). Phylogenies and the comparative method: A general approach to incorporating phylogenetic information into the analysis of interspecific data. The American Naturalist, 149 (4), 646–667. https://www.jstor.org/stable/2463542.

Masello, A., Scarabino, F., Gamarra, M. y Menafra, R. (2002). Study of feeding habits and stomach contents of Micropogonias furnieri. In D. Vizziano, P. Puig, C. Mesones, & G.J. Nagy, (Eds.), Río de la Plata research to manage the environment, fish resources and the fishery in the saline front (pp. 147-161). Ecoplata Program, Montevideo, Uruguay.

Mazer, S.J. (1998). Alternative approaches to the analysis of comparative data: compare and contrast. American Journal of Botany, 85(8):1194–1199. https://doi.org/10.2307/2446352.

Milinkovitch, M.C. y Thewissen, J.G.M. (1997). Even-toed fingerprints on whale ancestry. Nature, 388, 622–624. https://doi.org/10.1038/41650.

Miller, J.S. y Venable, D.L. (2003). Floral morphometries and the evolution of sexual dimorphism in Lycium (Solanaceae). Evolution, 57(1), 74-86. http://www.jstor.org/stable/3094590.

Militelli, M.I. (2007). Biología reproductiva comparada de especies de la familia Sciaenidae en aguas del Río de la Plata y costa Bonaerense. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Mar del plata, 151 pp.

Militelli, M.I. y Macchi, G. (2006). Spawning and fecundity of striped weakfish, *Cynoscion guatucupa*, in the Río de la Plata estuary and adjacent marine waters, Argentina-Uruguay. Fisheries Research, 77, 110-114.

Monteiro, L.R., Di Beneditto, A.P.M., Guillermo, L.H. y Rivera, L.A. (2005). Allometric changes and shape differentiation of sagitta otoliths in sciaenid fishes. Fisheries Research, 74, 288–299.

Morales-Nin, B. (1987). The influence of environmental factors on microstructure of otoliths of three demersal fish species caught off Namibia. South African Journal of Marine Science, 5(1), 255-262. https://doi.org/10.2989/025776187784522207.

Morales-Nin, B., Swan, S.C., Gordan, J.D.M., Palmer, M., Geffen, A.J., Shimmield, T., Sawyer, T. (2005). Agerelated trends in otolith chemistry of Merluccius merluccius from the north-eastern Atlantic Ocean and the western Mediterranean Sea. Marine and Freshwater Research 56, 599–607.

Mosegaard, H., Svedang, H. y Taberman, K. (1988). Uncoupling of somatic and otolith growth rates in Arctic char (*Salvelinus alpinus*) as an effect of differences in temperature response. Can. 1. Fish. Aquat. Sci. 45: 4 5141 524.

Mugiya, Y. (1964). Calcification in fish and Shell-fish. III. Seasonal ocurrence of a prealbumin fraction in the otolith fluid of same fish corresponding to the period of opaque zone formation in the otolith. Bull. Japan. Soc. Fish., 30, 955 – 967.

Mugiya, Y., Watabe, N., Yamada, J., Dean, J.M., Dunkelberger, D.G. y Shimizu, M. (1981). Diurnal rhythm in otolith formation in the goldfish *Carassius auratus*. Comp. Biochem. Physiol. 68A, 659-662.

Murphy, M.D., Adams. D.H., Tremain, D.M. y Winner, B.L. (1998). Direct validation of ages determined for adult black drum, Pogonias cromis, in east-central Florida, with notes on black drum migration. Fish. Bull. 96, 382-387.

Myrberg, A.A., 1981. Sound communication and interception in fishes. in: Tavolga, W.N., Popper, A.N., Fay, R.R., (Eds.) Hearing and sound communication in fishes. Springer-Verlag, New York, pp 395–428

Nagy, G.J., López Laborde, J. y Anastasía, L. (1987). Caracterización de ambientes en el Río de la Plata Exterior (salinidad y turbiedad óptica). Investigaciones Oceanológicas, 1(1), 31–56.

Nagy, G.J., Martinez, C.M., Caffera, R.M., Pedroza, G., Forbes, E.A., Perdomo, A.C. y Laborde, J.L. (1997). The hydrological and climatic setting of the Río de la Plata. In: The Río de la Plata, An Environmental Review, An EcoPlata Project Background Report. Dalhausie University, Halifax, Nova Scotia. 17-68

Nagy, G.J., Severov, D.N., Pshennikov, V.A., De los Santos, M., Lagomarsino, J.J., Sans, K. y Morozov, E.G. (2008). Rio de la Plata estuarine system: Relationship between river flow and frontal variability. Advances in Space Research, 41, 1876–1881.

Neff, N.A. y Marcus, L.F. (1980). A Survey of Multivariate Methods for Systematics. New York: Printed at the American Museum of Natural History.

Nelson, J.S. (1994). Fishes of the world. XVII, 3rd ed. Wiley & Sons (eds.) New York. 600 p.

Nicola, P.A., Monteiro, L.R., Pessoa, L.M., Von Zuben, F.J., Rohlf, F.J. y Dos Reis, S.R. (2003). Congruence of hierarchical, localized variation in cranial shape and molecular phylogenetic structure in spiny rats, genus Trinomys (Rodentia: Echimyidae). Biological Journal of the Linnean Society, 80(3), 385-396. https://doi.org/10.1046/j.1095-8312.2003.00245.x.

Nion, H. (1985). Evaluación y perspectivas del Complejo Pesquero Uruguayo. CIEDUR, Serie Investigaciones, Nº 22, 162 pp.

Nion, H., Marín, Y., Meneses, P. y Puig, P. (2013). Distribución batimétrica de la familia Sciaenidae (Perciformes) en el Atlántico Sudoccidental y consideraciones sobre las pesquerías de los peces de esta familia. Frente Marítimo, 23, 105- 132.

Nolf, D. (1985). Otolith piscium. 1- 145. En: Handbook of paleoichthyology H. P.Schultze (Ed.), Fisher, Stuttargt, Nueva York.

Nolf, D. (1995). Studies on fossil otoliths: the state of the Art. 513-544. En: Recent Developments in Fish otolith research, D. Secor, J. M. Dean y S. E

Nolf, D. y Sterbaut, E. 1989. Evidence from otoliths for establishing relationships within gadiforms. In: Cohen, D.M. (Ed.), Papers on the Systematics of Gadiform Fishes. Natural History Museum of Los Angeles County Science Series 32, Los Angeles 89-111.

Norbis, W. (1995). Influence of wind, behavior and characteristics of the croacker (Micropogonias furnieri) artisanal fishery in the Rio de la Plata (Uruguay). Fish.Res 22, 43-58.

Norbis, W., Paesh, L. y Galli, O. (2006). Los recursos pesqueros de la costa de Uruguay: ambiente, biología y gestión. In R. Menafra, L. Rodríguez-Gallego, F. Scarabino, & D. Conde, (Eds.) Bases para la conservación y el manejo de la costa uruguaya (pp. 127-209) VIDA SILVESTRE URUGUAY, Montevideo.

Norbis, W. y Verocai, J. (2002). Characteristics of fishing activity and evolution of captures performed by the artisanal fleet. In: The Río de la Plata. Research to Manage the Environment, Fish Resources and the Fishery in the Saline Front. Eds: Vizziano, D; P. Puig; C. Mesones & G.J. Nagy. Programa Ecoplata, Montevideo, Uruguay. 311 p.

Norbis, W. y Verocai, J. (2005). Presence of two whitemouth croaker (Micropogonias furnieri Pisces: Sciaenidae) groups in the Río de la Plata spawning coastal área as consequence of reproductive migration. Fisheries Research, 74(1-3), 134–141.

Norbis, W. y Galli, O. (2013). Spatial co-ocurrence of two Sciaenid species (*Micropogonias fuenieri* and *Cynoscion guatucupa*) subject to fishing in the Rio de la Plata and oceanic coast of Uruguay: ecological or technological interdependence? Bol. Inst. Pesca, 39, 137-148

Olson, D.R. (1994). The world on paper: The conceptual and cognitive implications of writing and reading. Cambridge University Press.

Olsson, D., Forni, F., Saona, G., Verocai, J. y Norbis, W. (2013). Temporal feeding habits of the whitemouth croaker Micropogonias furnieri in a shallow coastal lagoon (southwestern Atlantic Ocean, Uruguay). Ciencias Marinas, 39 (3), 265–276. https://doi.org/10.7773/cm.v39i3.2181.

Ortega, L. y Martinez, A. (2007). Multiannual and seasonal variability of wáter masses and fronts over the Uruguayan shelf. Journal of Coastal Research, 618-629.

Pansard, K.C.A. (2009). Ecologia alimentar do boto-cinza, Sotalia guianensis (Van Benédén, 1864), no litoral do Rio Grande do Norte (RN). MSc. thesis, Univ. Rio Grande do Norte.

Pannella, G. (1971). Otoliths daily growth layers and periodical patterns. Science, 173, 1124 – 1127.

Papadopopoulou, C., Kanias, G.D. y Moraitopoulou-Kassimati, E. (1980). Trace element content in fish otoliths in relation to age and size. Mar. Poll. Bull. 11: 68 –72.

Parenti, P. (2020). An annotated checklist of fishes of the family Sciaenidae. Journal of Animal Diversity (2020), 2 (1): 1–92. https://doi.org/10.29252/JAD.2020.2.1.1

Parmentier E, Vandewalle P, Lagardere F. (2001). Morpho-anatomy of the otic region in carapid fishes: eco-morphological study of their otoliths. J Fish Biol 58, 1046–1061.

Paxton, J.R. (2000). Fish otoliths: do sizes correlate with taxonomic group, habitat and/or luminescence? Philos. Trans. R. Soc. Lond. B, 355: 1299-1303.

Piera, J., Parisi-Baradad, V., García-Ladona, E., Lombarte, A., Recasens, L. y Cabestany, J. (2005). Otolith shape feature extraction oriented to automatic classification with open distributed data. Mar. and Fresh. Research. 56: 805 – 814.

Platt, C. y Popper, A.N. (1981). Fine structure and function of the ear. In: Tavolga WN, Popper AN, Fay RR (eds). Hearing and sound communication in fishes. Springer-Verlag, New York, pp 3-38.

Ponton, D. (2006). Is Geometric Morphometrics Efficient for Comparing Otolith Shape of Different Fish Species? Journal of Morphology, 267, 750–757.

Poplawski, R. (1983). Introducción al estudio de la variabilidad temporal de la salinidad en la costa Uruguaya. Tesis de Licenciatura en Oceanografía Biológica, Facultad de Humanidades y Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 147 p.

Popper, A.N. y Fay, R.R. (1999). The auditory periphery in fishes. In Comparative Hearing: Fish and Amphibians (ed. by R.R. Fay and A.N. Popper), Springer-Verlag, New York, pp. 43–100.

Popper, A.N. y Coombs, S. (1980). Auditory mechanisms in teleost fishes. American Scientist, 68(4), 429-440.

Popper, A.N. y Lu, Z. (2000). Structure-function relationship in fish otolith organs. Fish. Res. 46: 15-25.

Popper, A.N., Fay, R.R., Platt, C. y Sand, O. (2003). Sound detection mechanisms and capabilities of teleost fishes. In Sensory Processing in Aquatic Environments (S.P. Collin y N.J. Marshall, eds), pp. 3– 38. New York, NY: Springer-Verlag.

Popper, A.N., Ramcharitar, J. y Campana, S.E. (2005). Why otoliths? Insights from inner ear physiology and fisheries biology. Marine and Freshwater Research, 56, 497-504. https://doi.org/10.1071/MF04267.

Price, T. (1997). Correlated evolution and independent contrasts. Philosophical Transactions The Royal Society Biological Sciences, 352 (1352), 519–529. https://doi.org/10.1098/rstb.1997.0036.

Puig, P. (1986). Analisis de contenidos estomacales de corvina blanca (Micropogon opercularis) (Sciaenidae, Perciformes), VERANO 1984. Frente Maritimo, 1(2), 333-340.

Radtke, R.L. y Shafer, D.J. (1992). Environmental sensitivity of fish otolith microchemistry. Aust. J. Mar. Freshwater Res., 43, 935–951.

Ramcharitar, J. (2002). Unique ear structure of silver perch Bairdiella chrysoura, Bioacoustics, 12(2-3), 122-124. https://doi.org/10.1080/09524622.2002.9753669

Ramcharitar, J., Higgs, D.M. y Popper, A.N. (2001). Sciaenid Inner Ears: A Study in Diversity. Brain Behavior and Evolution, 58(3), 152–162. https://doi.org/10.1159/000047269.

Ramcharitar, J., Deng, X., Ketten, D. y Popper, A.N. (2004). Form and function in the unique inner ear of a teleost fish: The silver perch (*Bairdiella chrysoura*). Journal of Comparative Neurology 475, 531–539.

Ramcharitar, J., Gannon, D.P. y Popper, A.N. (2006). Bioacoustics of Fishes of the Family Sciaenidae (Croakers and Drums), Transactions of the American Fisheries Society, 135(5), 1409-1431. http://dx.doi.org/10.1577/T05-207.1.

Rao, C.R. (1952). Advanced Statistical Methods in Biometric Research. Wiley and Sons, Inc., New York, NY, USA

Ré, P. (1986). Otolith microstructure and the detection of life history events in sardine and anchovy larvae. Ciência Biológica Ecologia e Sistemática, 6: 9-17.

Recasens, L., Lombarte, A. y Sánchez, P. (2006). Teleostean fish assemblages in an artificial reef and a natural rocky area in catalunia (Northwestern Mediterranean): an ecomorphological approach. Bullet. of Marine Science, 78(1): 71–82.

Retta, S., Martinez, G. y Errea, A. (2006). Äreas de cría de peces en la costa uruguaya. En: Menafra R Rodríguez-Gallego L Scarabino F & D Conde (eds) 2006 Bases para la conservación y el manejo de la costa uruguaya. VIDA SILVESTRE URUGUAY, Montevideo. i-xiv + 668 pp.

Revell, L.J. y Harmon, L.J. (2008). Testing quantitative genetic hypotheses about the evolutionary rate matrix for continuous characters. Evolutionary Ecology Research, 10, 311–331.

Rico, M.R. (2000). La salinidad y la distribución espacial de la Ictiofauna en el Estuario del Río de la Plata (Masters Thesis) Universidad Nacional de Mar del Plata – Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP). 81 pp. http://hdl.handle.net/1834/2603.

Robert, M., Michels-Souza, M.A. y Chaves, P. (2007). Biología de Paralonchurus brasiliensis (Stelndachner) (Teleostei, Sciaenidae) no litoral sul do Estado do Paraná, Brasil. Revista Brasilera de Zoologia 24 (I), 191-198.

Rohlf, F.J y Slice, D.E. (1990). Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. Systematic Zoology, 39(1), 40–59. https://doi.org/10.2307/2992207.

Rohlf, F.J. (2001). Comparative methods for the analysis of continuous variables: geometric interpretations. Evolution, 55, 2143–2160.

Rohlf, F.J. (2006). tpsDig, Digitize Landmarks and Outlines, Version 2.05. Stony Brook, NY: Department of Ecology and Evolution, State University of New York.

Rohlf, F.J. (2002). NTSYS-pc: Numerical Taxonomy System ver.2.1. Exeter Publishing Ltd., Setauket, New York.

Rohlf, F.J. (2015). The tps series of software. Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy, 26(1), 9-12. https://doi.org/10.4404/hystrix-26.1-11264

Romer, A.T. y Parsons, T.S. (1986). The vertébrate body. 6th edition. Sounders College Publishing 863 pp

Rossi-Wongtschowski, C.L.D.B., Siliprandi, C.C., Brenha, M.R., Gonsales, S.D.A., Santificetur, C. y Vaz-dos-Santos, A.M. (2014) Atlas of marine bony fish otoliths (*sagittae*) of Southeastern-Southern Brazil Part I: Gadiformes (Macrouridae, Moridae, Bregmacerotidae, Phycidae and Merlucciidae); Part II: Perciformes (Carangidae, Sciaenidae, Scombridae and Serranidae). Braz. J. Oceanogr., 62, 1-103.

Ruarte C., Lasta C. y Carozza C. (2005) Delimitación de un área de concentración de juveniles de pescadilla de red (Cynoscion guatucupa), en la Zona Común de Pesca Argentino-Uruguaya. Frente Marítimo, 20: 51-56.

Sadighzadeh Z., Otero-Ferrer J.L., Lombarte A., Fatemi M.R. y Tuset V.M. (2014). An approach to unraveling the coexistence of snappers (Lutjanidae) using otolith morphology. Sci. Mar. 78(3), 353-362. http://dx.doi.org/10.3989/scimar.03982.16C

Schellart, N.A.M. y Popper, A.N. (1992). Functional aspects of the evolution of the auditory system of actinopterygian fish. In The Evolutionary Biology of Hearing (D.B. Webster, R.R. Fay y A.N. Popper, eds), pp. 295–322. New York: Springer-Verlag.

Schulz-Mirbach, T., Olbinado, M., Rack, A., Mittone, A., Bravin, A., Melzer, R.R., Ladich, F. y Heb, M. (2018). In-situ visualization of sound-induced otolith motion using hard X-ray phase contrast imaging. Sci Rep 8, 3121. https://doi.org/10.1038/s41598-018-21367-0.

Santana, O. y Fabiano, G. (1999). Medidas y mecanismos de administración de los recursos de las lagunas costeras del litoral atlántico del Uruguay (Lagunas José Ignacio, Garzón, de Rocha y de Castillos). Plan de gestión pesquera Rey M, Amestoy F y Arena G eds. INAPE. PNUD. URU/92/003 (Eds. Rey, M., Amestoy, F. y Arena, G). 169 pp.

Sanz-Echevarría, J. (1950). Notas sobre otolitos de peces procedentes de las costas del Sahara. Segunda Parte. Bol. Inst. Esp.Oceanogr 27: 1 – 20.

Saona, G., Forni, F., Vizziano, D. y Norbis, W. (2003). Estructura por tallas, sexo y estadios de madurez de la corvina blanca (*Micropogonias furnieri*, Desmarest, 1823; Teleostei: Sciaenidae), captura incidental en la pesquería artesanal. Ciencias Marinas, 29 (3), 315-324. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48000306

Sasaki, K. (1989). Phylogeny of the family Sciaenidae with notes on its zoogeography (Teleostei, Perciformes). Memoirs of the Faculty of Fisheries Hokkaido University, 36 (1-2), 1-137. http://hdl.handle.net/2115/21886.

Secor, D.H. y Dean, J.M. (1989). Somatic growth effects on the otolith - fish size relationship in young pond-reared striped bass, *Morone saxatilis*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 46: 113-121.

Schmidt, W. (1969). The otoliths is a means of differentiation between species of fish of very similar appearance. FAO. Proceeding Symposium over Oceanography Fisheries Research Tropical Atlantic, 3: 393 - 396.

Schwarzhans, W. (2012). Fish otoliths from the Paleocene of Kressenberg, Bavaria, and Kroisbach, Austria. Palaeo Ichthyologica, 12: 1-88.

Schwarzhans, W. (2013). Otoliths from the Miocene of West Africa, primarily from the Mandorové Formation of Gabon. Palaeo Ichthyologica, 13: 151-184.

Schwarzhans, W. (2014). Otoliths from the Middle Miocene (Serravallian) of the Karaman Basin, Turkey. Cainozoic Research, 14: 35-69.

Schwingel, P. y Castello, J. (1990). Validacion de la edad y crecimiento de la corvina (Micropogonias furnieri) en el sur de Brasil. Publ. Com. Tec. Mix. Fr. Mar. Uruguay, 7, (Sec A) 19-24.

Sidlauskas, B. (2008). Continuous and arrested morphological diversification in sister clades of characiform fishes: a phylomorphospace approach. Evolution, 62, 3135-3156.

Sokal, R.R. y Rohlf, F.J. (1995). Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research. 3rd Edition, W.H. Freeman and Co., New York.

Sullivan S.K. y Bustamante, G. (1999). Setting Geographic Priorities for Marine Conservation in Latin America and the Caribbean. Biodiversity Support Program. TNC – USAID. The Nature Conservancy, Arlington, VA. 125 pp.

Smith, P.J., Robertson, S.G., Horn, P.L., Bull, B., Anderson, O.F., Stanton, B.R. y Oke, C.S. (2002). Multiple techniques for determining stock relationships between orange roughy, Hoplostethus atlanticus, fisheries in the eastern Tasman Sea. Fisheries Research 58, 119–140.

Simkiss, K. (1974). Calcium metabolism of fish in relation to ageing. In, Ageing of fish, T.B. Bagenal (ed.), Unwin, London, 1 – 12.

Springer, M.S., Cleven, G.C., Madsen, O., de Jong, W.W., Waddell, V.G., Amrine, H.M., y Stanhope, M.J. (1997). Endemic African mammals shake the phylogenetic tree. Nature, 388(6637), 61–64. https://doi.org/10.1038/40386

Stayton, C.T. (2005). Morphological evolution of the lizard skull: A geometric morphometries survey. Journal of Morphology, 263, 47-59. https://doi.org/10.1002/jmor.10288.

Strauss, R.E. y Bookstein, F.L. (1982). The truss: body form reconstructions in morphometrics. Syst. Zool. 31: 113-135.

Strauss, R.E. y Bond, C.E. (1990). Taxonomic Methods: Morphology, pp.: 109 – 140. En: Methods for fish biology. C.B. Schreck & P.B. Moyle (eds.). American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, U.S.A. 684 pp.

Sugihara, I., y Furukawa, T. (1989). Morphological and Functional Aspects of Two Different Types of Hair Cells in the Goldfish Sacculus. Journal of Neurophysiology, 62(6), 1330-1343. https://doi.org/10.1152/jn.1989.62.6.1330.

Talman, S., Hamer, P., Robertson, S., Robinson, N., Skinner, A. y Smith, D. (2003). Stock structure and spatial dynamics of the warehous: a pilot study. Final report to Fisheries Research and Development Corporation Project No. 2001/004, Marine and Freshwater Resources Institute, Queenscliff, pp. 72.

Tavolga, W.N. (1964). Sonic characteristics and mechanisms in marine fishes. In Marine Bio-acoustics (Ed. by W. N. Tavolga), pp. 195-211. New York: Pergamon Press.

Taylor, M.D., Fowler, A.M. y Suthers, I.M. (2020). Insights into fish auditory structure–function relationships from morphological and behavioural ontogeny in a maturing sciaenid. Marine Biology, 167, 21. https://doi.org/10.1007/s00227-019-3619-9.

Tellechea, J.S., Martinez, C., Fine, M.L. y Norbis, W. (2010). Sound production in whitemouth croaker (Micropogonias furnieri: Sciaenidae) and relationship between fish size and disturbance call parameters. Environmental Biology of Fishes, 89, 163-172.

Tellechea, J.S., Bouvier, D. y Norbis, W. (2011a). Spawning sounds in whitemouth croaker (Sciaenidae): seasonal and daily cycles. Bioacoustics, 20, 159–168.

Tellechea, J.S., Norbis, W., Olsson, D. y Fine, M.L. (2011b). Calls of the black drum (*Pogonias cromis*: Sciaenidae): geographical differences in sound production between northern and southern hemisphere populations. Journal of Experimental Zoology, 315, 48–55.

Tellechea, J.S. y Norbis, W. (2012). Sexual Dimorphism in Sound Production and Call Characteristics in the Striped Weakfish Cynoscion guatucupa. Zoological Studies, 51(7), 946-955.

Tellechea, J.S., Fine, M.L. y Norbis, W. (2017). Passive acoustic monitoring, development of disturbance calls and differentiation of disturbance and advertisement calls in the Argentine croaker Umbrina canosai (Sciaenidae). Journal of Fish Biology, 90(4), 1631-1643. https://doi.org/10.1111/jfb.13257.

Tellechea, J.S. (2019). The acoustic behavior of Southern King Weakfish (Macrodon atricauda-Sciaenidae). Environmental Biology of Fishes, 102, 1253–1264 https://doi.org/10.1007/s10641-019-00902-6.

Tellechea, J.S., Izquierdo, S., Perez, W. y Norbis, W. (2022). Sound variation by hypertrophy and atrophy sonic muscle in the male southern black drum (Pogonias courbina). The Journal of the Acoustical Society of America, 152(1), 429-436. https://doi.org/10.1121/10.0012690.

Templeman, W. y Squires, H.J. (1956). Relationship of Otolith Lengths and Weights in the Haddock *Melanogrammus aeglefinus* (L.) to the Rate of Growth of the Fish. J. Fish. Res. Bd. Canada, 13(4), 467-487.

Timi, J.T., Luque, J.L. y Sardella, N.H. (2005). Parasites of Cynoscion guatucupa along South American Atlantic coasts: evidence for stock discrimination. Journal of Fish Biology, 67, 1603–1618. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2005.00867.x

Torres, G.J., Lombarte, A. y Morales-Nin, B. (2000). Variability of the sulcus acusticus in the *sagittal* otolith of the genus Merluccius (Merlucciidae). Fisheries Research, 46, 5-13

Tower, R.W. (1908). The production of sound in the drumfishes, the sea-robin and the toadfish. Annals of the New York Academy of Sciences, 18(1), 149–180. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1908.tb55101.x

Tuset, V.M, Lombarte, A., González, J.A., Pertusa, J.F. y Lorente, M.J. (2003). Comparative morphology of the sagittal otolith in Serranus spp. J. Fish Biol., 63: 1491-1504.

Tuset, V.M., Rosin. P.L. y Lombarte, A. (2006). Sagittal otolith shape used in the identification of fishes of the genus Serranus. Fisheries Research, 81, 316–325.

Tuset, V.M., Lombarte, A. y Assis, C.A. (2008). Otolith atlas for the western Mediterranean, north and central eastern Atlantic. Scientia Marina, 72 (S1), 7-198. https://doi.org/10.3989/scimar.2008.72s17.

Tuset, V.M., Piretti, S., Lombarte, A. y Gonzalez, J.A. (2010). Using sagittal otoliths and eye diameter for ecological characterization of deep-sea fish: Aphanopus carbo and A. intermedius from NE Atlantic waters. Scientia Marina, 74(4), 807-814. https://doi.org/10.3989/scimar.2010.74n4807.

Tuset, V.M., Farre, M., Otero-Ferrer, J.L., Vilar, A., Morales-Nin, B. y Lombarte, A. (2016). Testing otolith morphology for measuring marine fish biodiversity. Marine and Freshwater Research, 67, 1037–1048. http://doi.org/10.1071/MF15052.

Urteaga, J.R. y Perrotta, R.G. (2001). Estudio preliminar de la edad, el crecimiento, área de distribución y pesca de la corvina negra, Pogonias cromis en el litoral de la Provincia de Buenos Aires. INIDEP Informe Técnico, 43. http://hdl.handle.net/1834/2593.

Verocai, J.E. (2004). Determinacion de edad y crecimiento en la corvina blanca *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823), Tesis Maestria, Facultad de Ciencias, Universidad de la Republica. Uruguay. 146 pp.

Verocai, J.E., Lombarte, A. y Norbis, W. (2023). Ontogenetic changes in *sagitta* otoliths of whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* (Acanthuriformes: Sciaenidae) and its implication in acoustic communication. Animal Biology, https://doi.org/10.1163/15707563-bja10105.

Vignon, M. (2015). Disentangling and quantifying sources of otolith shape variation across multiple scales using a new hierarchical partitioning approach. Mar Ecol Prog Ser. 534, 163-177. https://doi.org/10.3354/meps11376.

Vignon, M. y Morat, F. (2010). Environmental and genetic determinant of otolith shape revealed by a non-indigenous tropical fish. Mar Ecol Prog Ser. 411, 231-241. https://doi.org/10.3354/meps08651

Viscosi, V. y Cardini, A. (2011). Leaf morphology, taxonomy and geometric morphometrics: a simplified protocol for beginners. PLOS ONE, 6, 1–20. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025630.

Vizziano, D. y Berois, N. (1990). Ciclo histológico del ovario de Macrodon ancylodon (Bloch & Schneider, 1801) (Teleostei: Sciaenidae). Biol. Pesq. 19, 39-47

Vizziano, D., Saona, G., Franco, J. y Nagy, G.J. (2002). Environmental characterization of the spawning area of the white croaker, Micropogonias furnieri, in the frontal zone of the Río de la Plata. In: D. Vizziano, P. Puig, C. Mesones, & G. Nagy (Eds.), Río de la Plata research to manage the environment, fish resources and the fishery in the saline front (pp.113-124) Ecoplata Program, Montevideo, Uruguay.

Volpedo, A.V. (2001). Estudio de la morfometría de las sagittae en poblaciones de sciaenidos marinos de aguas cálidas del Perú y aguas templado-frías de Argentina. (Doctoral thesis, Universidad de Buenos Aires), 234 pp. http://hdl.handle.net/1834/3132.

Volpedo, A.V. y Echeverria, D.D. (1997). Morfología de las sagittae de lenguados del mar Argentino (Bothidae, Paralichthyidae y Achiropsettidae). Thalassas 13: 113-126.

Volpedo, A.V., y Echeverría, D.D. (2000). Catálogo y claves de otolitos para la identificación de peces del Mar Argentino 1. Peces de importancia comercial. Editorial Dunken, Buenos Aires, 90 pp.

Volpedo, A.V. y Echeverría, D.D. (2003). Ecomorphological patterns of the *sagitta* in fish on the continental shelf off Argentine. Fisheries Research, 60, 551-560.

Volpedo, A.V. y Vaz-dos-Santos, A.M. (2015). Métodos de estudios con otolitos: Principios y aplicaciones 1ra Edición, Buenos Aires, pp 482.

Wake, D.B. (1991). Homoplasy: The Result of Natural Selection, or Evidence of Design Limitations? The American Naturalist, 138(3), 543–567.

Wainwright, P.C. y Richard, B.A. (1995). Predicting patterns of prey use from morphology of fishes. Environmental Biology of Fishes 44: 97–113.

Warton, D.I., Wright, I.J., Falster, D.S. & Westoby, M. 2006. Bivariate line-fitting methods for allometry. Biological Review 81:259-291.

Watson, D.J. y Balon, E.K. (1984). Ecomorphological analysis of fish taxocenes in rainforest streams of northern Borneo. Journal of Fish Biology 25: 371–384.

Westoby, M., Leishman, M.R. y Lord, J.M. (1995). On misinterpreting the phylogenetic correction. Journal of Ecology, 83, 531–534. https://doi.org/10.2307/2261605.

Wilson, R.R. (1985). Depth-related Changes in Sagitta Morphology in Six Macrourid Fishes of the Pacific and Atlantic Oceans. Copeia, 985(4), 1011-1017.

Winemiller, K.O. (1991). Ecomorphological diversification of lowland freshwater fish assemblages from five biotic regions. Ecological Monographs 61: 343–365.

Yamaguti, N., Zanetti, E.M. y Kawakami, E. (1973). Estudo preliminar sobre o ciclo de vida dos Sciaendidae- Parte II. Composicao da populacao em classes de idades e aspectos do crescimento. Inst. Oceanogr. S. Paulo 3, 293-306

Yañez-Arancibia, A. (1985). Los peces del Río de la Plata y de su frente marítimo. México, UNAM. 515 – 533.

Zelditch, M.L., Swiderski, D.L., Sheets, H.D. y Fink, W.L. (2004). Geometric morphometrics for biologists: A Primer. Elsevier, Academic Press, London, UK.

Zischke, T., Litherland, L., Tilyardc, B.R., Stratford, N.J., Jones, E.L. y Wang, YG. (2016). Otolith morphology of four mackerel species (*Scomberomorus* spp.) in Australia: Species differentiation and prediction for fisheries monitoring and assessment. Fisheries Research, 176, 39-47. https://doi.org/10.1016/j.fishres.2015.12.003