

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas



Tesis para la obtención del Grado Académico de Doctor en Ciencias
Biológicas

**ESTUDIO DE PROCESOS EVOLUTIVOS
EN ESPECIES DE CANGREJOS DE
AGUA DULCE DEL GÉNERO AEGLA**

Juan Manuel Cabrera

Director de Tesis: Dr. Federico Giri

Co-director de Tesis: Dr. Pablo A. Collins

Consejero de Estudios: Dr. Santiago Catalano

Lugar de realización:

Laboratorio de Macrocrustáceos – Instituto Nacional de Limnología
(CONICET – UNL)

-2020-

Agradecimientos

Agradezco a la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral, sede del Doctorado en Ciencias Biológicas.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Al Instituto Nacional de Limnología (INALI, CONICET – UNL).

A la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Entre Ríos.

A los directores de esta tesis, Dr. Federico Giri y Dr. Pablo Collins, por haber compartido sus conocimientos, haciendo posible la realización de esta tesis.

A Natalia por apoyarme siempre en mi carrera, por todos los momentos compartidos y por hacer de una casa un hogar.

A Estela, Estelita, María Laura por todo el cariño y amor que me dieron.

A los integrantes del Laboratorio de Macrocrustaceos: Verónica, Gabriela, Leandro, Florencia, Débora, Victoria, Georgina, Natalia, Federico, Valeria y Gisela, por haberme apoyado durante el desarrollo de este doctorado y por hacer del lugar de trabajo un ambiente cálido, agradable y solidario.

A Eva Rueda, por enseñarme a valorar mis capacidades y a ser un mejor docente.

A amigos, colegas, tíos y primos.

A los que ya no están acá, pero miran desde allá.

Publicaciones

- MF Viozzi, JM Cabrera, F Giri, DA Carvalho, V Williner “Ontogenetic shifts in natural diet, chelipeds and mandible of an omnivorous freshwater crab (*Aegla uruguayana*): linking morphology and function”. Canadian Journal of Zoology <https://doi.org/10.1139/cjz-2020-0290>

Índice

	Página
ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	1
RESUMEN	2
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN GENERAL	6
<i>Análisis de la variación fenotípica</i>	6
<i>Modelo de estudio</i>	7
<i>Antecedentes en el estudio de aspectos evolutivos de Aegla</i>	7
<i>Objetivo general y específicos</i>	9
CAPÍTULO 1: Variación ontogenética en la forma de rasgos involucrados en diferentes funciones ecológicas en especímenes de <i>Aegla uruguayana</i>	10
<i>Introducción</i>	10
<i>Materiales y métodos</i>	11
<i>Recolección de datos</i>	11
<i>Análisis de datos</i>	17
<i>Resultados</i>	19
<i>Propodios</i>	19
<i>Dactilos</i>	24
<i>Mandíbulas</i>	30
<i>Discusión</i>	36
CAPÍTULO 2: Variación interespecífica en la forma del rostro, quelípedos y mandíbulas en especies del género <i>Aegla</i>	39
<i>Introducción</i>	39
<i>Materiales y métodos</i>	40
<i>Recolección de datos</i>	40
<i>Análisis de datos</i>	46
<i>Resultados</i>	48
<i>Rostro</i>	48

<i>Propodios</i>	56
<i>Dactilos</i>	72
<i>Mandíbulas</i>	87
<i>Discusión</i>	103
CAPÍTULO 3: Análisis evolutivo de las relaciones morfológicas en especies del género <i>Aegla</i>	107
<i>Introducción</i>	107
<i>Materiales y métodos</i>	108
<i>Recolección de datos</i>	108
<i>Análisis de datos</i>	109
<i>Resultados</i>	110
<i>Análisis de PGLS</i>	110
<i>Calculo de tasas de variación fenotípica</i>	112
<i>Discusión</i>	114
CONCLUSIONES FINALES Y PERSPECTIVAS A FUTURO	118
BIBLIOGRAFÍA	120

Abreviaturas y símbolos

ANOVA: análisis de la varianza

Cs: tamaño de centroide

CVA: Análisis canónico de la varianza

DFA: Análisis de factores discriminantes

F: prueba F de Fisher

Gl: grados de libertad

LC: Largo de cefalotórax

LM: Landmark

Log: logaritmo

N: número de individuos

PC1: Componente principal 1

PC2: Componente principal 2

PCA: Análisis de componentes principales

PGLS: Mínimos cuadrados filogenéticos

R: coeficiente de determinación

R²: coeficiente de determinación ajustado

SD: desvío estándar

SS: suma de cuadrados

Z: tamaño de efecto

Resumen

La variación fenotípica proporciona evidencias sobre aspectos evolutivos, permitiendo establecer relaciones con procesos funcionales, históricos o estructurales. Los caracteres morfológicos son las formas observables o medibles de la totalidad o de las partes de un individuo. Diferentes procesos biológicos producen diferencias de la forma entre individuos, tales como enfermedades, desarrollo ontogenético, adaptación a factores geográficos, o aspectos evolutivos. Los cangrejos anomuros del género *Aegla* Leach, 1820 han sido intensamente estudiados debido a la alta variabilidad morfológica de sus especies. Caracteres morfológicos como el caparazón y los quelípedos han sido utilizados como caracteres taxonómicos debido a que presentan una variación de forma considerable dentro de una misma especie y entre diferentes especies. En el presente trabajo se pretende comprender las dinámicas y mecanismos evolutivos a partir del estudio de las características de variación fenotípica de cangrejos de agua dulce del género *Aegla* de especies de argentina. Se cuantificará la variación de forma intraespecífica e interespecífica en estructuras morfológicas externas (caparazón y quelípedos) e internas (mandíbulas). Los datos morfogeométricos se complementarán con otros tipos de datos filogenéticos para llevar adelante los objetivos propuestos.

En el primer capítulo, se analizó la variación intraespecífica de forma entre especímenes adultos y juveniles de *Aegla uruguayana*, utilizando morfometría geométrica para analizar datos de propodios, dactilos y mandíbulas. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las formas de los propodios, dactilos y mandíbulas entre especímenes adultos y juveniles de *Aegla uruguayana*. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre machos y hembras solo en la forma del propodio izquierdo. Los dactilos presentan un patrón de variación de forma similar al que se observa en los propodios, esto sugiere que si bien es una estructura representada con pocos LM la misma posee información relevante para el análisis de la variación de la forma.

En el segundo, se analizó la variación de forma, en diferentes caracteres morfológicos, de especies argentinas del género *Aegla*. Se utilizó morfometría geométrica para analizar las variaciones interespecíficas en la forma y tamaño del rostro y evaluar si existen diferencias estadísticamente significativas entre las especies de rostro tipo “Atlántico” y rostro tipo “Pacífico” caracterizado por Schmitt (1942). Además, se analizó las variaciones de forma y tamaño interespecíficas en propodios, dactilos y mandíbulas evaluando a su vez si la diferenciación entre grupos propuesta para la forma del rostro

se corresponde con estos caracteres. Se encontraron diferencias significativas en la forma del rostro entre especies y entre grupos. El patrón de variación de forma del rostro se corresponde con la hipótesis de grupo geográfico propuesta por Schmitt (1942). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la forma de los propodios, dactilos y mandíbulas entre especies y entre grupos. Las relaciones de las formas promedio de los propodios, dactilos y mandíbulas entre especies fueron diferentes al patrón de agrupamiento geográfico encontrado en el rostro. Los análisis realizados sobre el tamaño de centroide de todas las estructuras revelaron que existen diferencias estadísticamente significativas entre especies y grupos, siendo las de mayor tamaño las especies del grupo “Pacífico” las de mayor tamaño de rostro y mandíbulas.

En el tercero, se utilizaron métodos comparativos filogenéticos para evaluar variaciones de forma y tamaño y caracterizar dinámicas evolutivas de diferentes rasgos fenotípicos de especímenes de *Aegla*. El análisis de la forma del rostro en especies de *Aegla*, considerando sus relaciones filogenéticas, reveló que existe una relación estadísticamente significativa entre este rasgo con el grupo evolutivo y con el tamaño. La forma de los propodios, dactilos y mandíbulas no está relacionada significativamente con el grupo evolutivo ni con el tamaño. Las tasas de variación fenotípicas calculadas fueron mayores para el grupo “Atlántico”. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas de dinámicas evolutivas en la forma de los propodios.

Abstract

Phenotypic variation provides evidence on evolutionary aspects, allowing to establish relationships with functional, historical or structural processes. Morphological characters are observable or measurable shapes of an individual or its specific parts. Different biological processes produce differences in shape between individuals, such as diseases, ontogenetic development, adaptation to geographical factors, or evolutionary aspects. Anomuran crabs of the genus *Aegla* Leach, 1820 have been intensively studied due to its high morphological variability species. Morphological characters as the carapace and the chelipeds of the aeglids has been used widely as taxonomic characters as the displays considerable variation among and within species. In the present work, we intend to understand the evolutionary dynamics and mechanisms through the study of the characteristics of phenotypic variation of freshwater crabs of the genus *Aegla* of species from Argentina. The intra- and interspecific variation in shape will be quantified in external (carapace and chelipeds) and internal (mandibles) morphological structures. The morphometric data will be complemented with other types of phylogenetic data to carry out the proposed objectives.

In the first chapter, the intraspecific variation of the shape of propodous, dactyls and mandibles in adult and juvenile specimens of *Aegla uruguayana* was analyzed using Geometric morphometrics. There were statistically significant differences of between adults and juveniles on the propodous, dactyls and mandibles. There were statistically significant differences of shape between males and females only on the left propodous. The shape variation pattern of the dactyls resembles variation pattern of the propodous, suggesting that this is shape was well characterized even though it had few LM.

In the second chapter, shape and size variation was analyzed in different morphological characters of Argentinian species of *Aegla*. Geometric morphometrics was used to analyze the interspecific variations in the shape and size of the rostrum and to evaluate whether there are statistically significant differences between the species with an "Atlantic" type rostrum and those with a "Pacific" type rostrum characterized by Schmitt (1942). The shape and size variation were also evaluated in propodous, dactyls and mandibles in order to see if this characters share the same grouping as the rostrum. There were statistically significant differences in rostrum shape between species and groups. The shape variation pattern of the rostrum resembles the geographical grouping hypothesis proposed by Schmitt (1942). There were statistically significant differences in shape of the propodous, dactyls and mandibles between species and groups. Species

mean shape of the propodous, dactyls and mandibles doesn't share the same geographical grouping pattern found in the rostrum. The analysis of centroid size revealed that there were statistically significant differences between species and groups in all the analyzed shapes, being the mandibles and the rostrum bigger on the "Pacific" species.

In the third chapter, phylogenetic comparative methods were used to evaluate variations in shape and size and to characterize evolutionary dynamics of different phenotypic traits of *Aegla* specimens. The analysis of the rostrum shape in *Aegla* species, considering their phylogenetic relationships, revealed that there is a statistically significant relationship between this trait with the evolutionary group and with size. The shape of the propodus, dactylus, and mandibles is not significantly related to the evolutionary group or size. The calculated rates of phenotypic variation were higher for the "Atlantic" group. Statistically significant differences in evolutionary dynamics were found in the shape of the propodus.

Introducción General

Análisis de la variación fenotípica

Un carácter fenotípico puede definirse como todos los caracteres observables o medibles que posee un organismo. Los caracteres morfológicos son las formas observables o medibles de la totalidad o de las partes de un individuo [1]. Diferentes procesos biológicos producen diferencias de la forma entre individuos, tales como enfermedades, desarrollo ontogenético, adaptación a factores geográficos, respuestas a presiones selectivas o aspectos evolutivos [2]. El estudio de la morfología se remonta a los inicios de la biología, cuando se comenzó a observar, clasificar y separar los organismos principalmente por su forma. Con posterioridad, fue fundamentalmente el análisis de las formas el que permitió relacionar las respuestas de ajuste de individuos y poblaciones a las presiones selectivas del ambiente y sus divergencias -o convergencias- a nivel de especies y taxones de mayor jerarquía [3]. A lo largo de la historia de la biología han surgido diferentes perspectivas en el análisis de las formas tales como la morfología funcional [4] y la morfología biométrica [5], y la morfometría geométrica [6]. La morfometría geométrica analiza las formas a partir de imágenes digitalizadas (fotografías o dibujos), realizadas siguiendo ciertos procedimientos [2] y pueden obtenerse en dos o tres dimensiones. Luego se realiza la determinación de las referencias (landmarks) en la imagen para establecer las formas a comparar. Un landmark (LM) es un punto determinado en un objeto, utilizado para realizar comparaciones entre diferentes objetos [7]. La selección de puntos se sigue mediante un criterio de homologías entre los puntos de los objetos a analizar. Por ejemplo, si lo que se quiere comparar es la forma entre individuos, se colocarán distintos landmarks en cada ejemplar respetando la posición entre los caracteres anatómicos seleccionados. Se han desarrollado numerosas herramientas para el análisis de datos de Morfometría Geométrica tales como MorphoJ [8] y el conjunto de programas tps [9], y diversos paquetes del software estadístico R como geomorph [10], Morpho [11], Momocs [12], etc. Estos métodos y herramientas se han aplicado a diferentes tipos de análisis: se han realizado estudios sobre comparaciones de formas con relación al ambiente [13]; trabajos utilizando morfometría geométrica y biogeografía [14] [15] y estudios teóricos de dimorfismo sexual y talla [16]. También se han realizado estudios de especiación a partir del análisis del tamaño y la forma [17] y en complejos de especies y plasticidad fenotípica [18]. Además de las variaciones de forma, el análisis de las variaciones de tamaño entre especies resulta de suma importancia debido a que este rasgo cuantitativo

está fuertemente relacionado con patrones evolutivos y alométricos en diversos organismos [19] [20] [21] [22].

Modelo de estudio

Los crustáceos decápodos de agua dulce representan un grupo de interés como modelo para el estudio de la evolución debido a sus características particulares de colonización al ambiente de agua dulce en diferentes momentos geológicos [23]. Los crustáceos decápodos de agua dulce pertenecientes al género *Aegla* Leach son endémico del sur de América del Sur [24]. Estos cangrejos habitan ambientes dulceacuícolas (ríos, lagos, arroyos, lagunas, cavernas) siendo su área de distribución Bolivia, Paraguay, Chile, Brasil, Uruguay y Argentina [24] [25] [26]. Por otra parte, “la dificultad de separar con claridad las entidades específicas...” [27] confieren a la familia Aeglidae Dana, 1952 las características de un grupo muy particular de crustáceos decápodos para el estudio de las formas. Al considerar el origen de este grupo se presentan varias hipótesis. Ortmann [28] sugirió que la ingresión habría sido a partir del océano Pacífico por las costas chilenas y que la dispersión se debió a las glaciaciones o por conexiones entre los cuerpos de agua, “continentalización” que se habría dado cuando la cordillera aún no había surgido. Schmitt [25] propuso que los ancestros de *Aegla* estarían relacionados a *A. jujujana* -o a una especie cercana a ésta- y que a partir de dicha especie se formaron dos grupos de acuerdo a sus características morfológicas y de distribución. El grupo denominado como rostro “Atlántico” (cuya característica principal es un rostro prominente y más ornamentado), que se habría extendido por la cuenca paranaense, más allá de las nacientes del río Uruguay en Rio Grande do Sul, Brasil. Y el grupo de especies de *Aegla* denominado rostro “Pacífico” (caracterizadas por un rostro romo, más redondeado), que se habrían extendido hacia el oeste hasta los Andes y Chile, y hacia el este hasta la Serra do Mar en Brasil. Por otra parte, Ringuelet [29] sugirió que la aparición de un ancestro cercano a *Aegla uruguayana* en el Río de la Plata -caracterizado por un rostro largo y senos extraorbitales anchos, con carena filosa y ornamentaciones- podría ser el ancestro de los aéglidos. Recientemente Pérez-Losada *et al.* [30], a partir de análisis moleculares, dieron apoyo a la hipótesis de la ingresión de estos cangrejos por las costas del océano Pacífico -a través de Chile-, siendo *Aegla papudo* la especie más antigua y la posible conexión con la *Aegla* ancestral.

Antecedentes en el estudio de aspectos evolutivos de *Aegla*

Se realizaron diversos estudios moleculares en especímenes de *Aegla* a nivel género, familia, inter e intraespecífico. El análisis de datos moleculares de *Aegla* reveló que poseen secuencias particulares que los diferencian de otros crustáceos [31]. Además,

se estudiaron las relaciones filogenéticas de *Aegla* respecto de otros Anomuros, observándose una separación entre la familia Aeglidae y la familia Galatheidae (de la cual se suponía que formaban parte), siendo estos resultados también soportados por análisis de caracteres morfológicos [32]. El estudio de las relaciones filogenéticas entre las especies de la familia Aeglidae, llevado a cabo por Pérez-Losada et al. [30], comprende el análisis de diversos marcadores moleculares (mitocondriales y nucleares) de 58 especies. En este trabajo se determinó, no solo la organización de las especies según sus relaciones evolutivas, sino que también se estimó que el género surgió de especies ancestrales con distribución en el Pacífico hace 75 millones de años, dispersándose por el continente en dirección a la costa del Atlántico.

Se encontraron patrones intraespecíficos de variación genética en *Aegla* entre poblaciones distribuidas en áreas continentales e islas, los cuales fueron relacionados con glaciaciones, sugiriendo que la variabilidad genética de las especies puede deberse a cambios climáticos, eventos geológicos y barreras geográficas [33]. Esta hipótesis fue profundizada analizando otras especies e incluyendo diferentes marcadores moleculares (mitocondriales y nucleares), determinando que los efectos del aislamiento/conectividad entre poblaciones están relacionados con eventos geológicos y de la historia particular de cada especie [34] [35].

También se hicieron aportes a la historia evolutiva del género a través de la biogeografía, donde se analizaron áreas de endemismo de especies de *Aegla* en América del Sur y se propusieron diferentes hipótesis de ingresión y dispersión [36] y de las áreas de distribución de las especies [37].

Los caracteres taxonómicos, morfológicos, estudiados para dilucidar las relaciones evolutivas entre especies de *Aegla* son muy limitados y presentan una baja variación taxonómica [24]. Estas diferencias sutiles no permiten distinguir fácilmente entre variación intra e interespecífica, generando problemas a la hora de sacar conclusiones de estos datos [38]. Diversos estudios sobre aspectos evolutivos (micro y/o macro) en caracteres fenotípicos en especies del género *Aegla*, han sido abordados también desde la morfometría geométrica. Las variaciones en la forma cefalotórax, entre especies y poblaciones de aeglidos, se han asociados a cambios en la utilización de recursos y competencia [39], respuestas adaptativas a los ambientes/sustratos [40] [41] y aislamiento de las poblaciones debido a eventos geológicos [34].

En otros crustáceos decápodos se ha analizado la variación de forma interespecífica de otros caracteres, como las quelas [43] [44] y las mandíbulas [45] [46] [47], para dilucidar patrones evolutivos y relaciones entre taxones. En el caso de *Aegla*, se analizó la forma

de las quelas solo de manera intraespecífica [48] y las mandíbulas solo han sido descritas con fines taxonómicos [26].

En el presente trabajo se pretende comprender las dinámicas y mecanismos evolutivos a partir del estudio de caracteres fenotípicos de cangrejos de agua dulce del género *Aegla* de especies de Argentina. Para ello se analizará la variación de forma del rostro, siendo la estructura que concentra la mayor parte de la variación interespecífica y que ha sido estudiada en otras especies. También se incorporarán al análisis estructuras, con diferentes características funcionales, aun no estudiadas a nivel intra e interespecífico en aéglicos. Finalmente se interpretarán los resultados considerando las hipótesis filogenéticas actuales entre las especies estudiadas.

Objetivos

General:

- Estudiar mecanismos y dinámicas evolutivas en especies del género *Aegla*.

Específicos:

- Explorar y caracterizar variaciones ontogenéticas en propodios, dactilos y mandíbulas en individuos (machos y hembras) de *Aegla uruguayana*.
- Analizar la variación interespecífica de forma, en diferentes caracteres morfológicos, de especies del género *Aegla* de Argentina.
- Caracterizar la dinámica evolutiva (tasa de variación fenotípica) en diferentes rasgos fenotípicos de las especies en estudio.

Capítulo 1: Variación ontogenética en la forma de rasgos involucrados en diferentes funciones ecológicas en especímenes de *Aegla uruguayana*

Introducción

Los estudios de alometría describen cómo las características morfológicas de seres vivos cambian en relación con el tamaño durante su desarrollo [49]. Esta idea generalizada de alometría ha sido ampliada para referirse a las relaciones de escala biológica en general, ya sea para rasgos morfológicos (por ejemplo, la relación entre el tamaño del cerebro y el tamaño del cuerpo entre los humanos adultos) rasgos fisiológicos (por ejemplo, la relación entre la tasa metabólica y el tamaño corporal entre especies de mamíferos) o rasgos ecológicos (por ejemplo, la relación entre el tamaño del ala y el rendimiento de vuelo en las aves) [50]. Se ha estudiado el crecimiento relativo en crustáceos decápodos utilizando medidas de caparazón y quelípedos [51] [52] [53]. En *Aegla* los análisis de crecimiento relativo han sido utilizados para determinar la madurez sexual morfométrica [54], debido a que la transición de juvenil a adulto está usualmente marcada con una muda de pubertad [51]. Los aéglicos presentan un desarrollo epimórfico, es decir, que los especímenes juveniles se asemejan morfológicamente a los especímenes adultos en la mayoría de sus características [54] [55] [56] [57] [58]. Se ha descrito la morfología de especímenes juveniles de *Aegla* realizando comparaciones entre ejemplares juveniles y adultos utilizando medidas biométricas y/o descripciones taxonómicas de diversos caracteres, como el caparazón, las quelas y las mandíbulas [57] [59] [60]. Además, se realizaron estudios de crecimiento alométrico y dimorfismo sexual en la forma del caparazón de especímenes de *Aegla uruguayana* mediante morfometría geométrica. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en la forma dorsal del caparazón entre individuos de diferentes tamaños. Los especímenes juveniles se agruparon en función de tres patrones de variación de forma: un grupo se correspondía a los juveniles pequeños, y los otros dos a juveniles que ya podían ser diferenciados sexualmente que poseían formas inmaduras de machos y hembras [61]. También se utilizó morfometría geométrica para analizar el dimorfismo sexual en la forma del caparazón en especímenes de *Aegla uruguayana* y *Aegla platensis* [62], la forma del caparazón en especímenes de *Aegla neuquensis* y *Aegla riolimayana* [39], y la forma del caparazón y

el “dedo fijo” o propodio (derecho e izquierdo) en especímenes de *Aegla marginata* [48]. Si bien la forma de otros caracteres como las mandíbulas y el “dedo móvil” o dactilo han sido descriptas y comparadas entre especímenes adultos y juveniles [57] [59] [60], no se han encontrado trabajos donde se haya utilizado la morfometría geométrica para analizar las variaciones de forma de estos caracteres.

El objetivo del presente capítulo es explorar y caracterizar variaciones ontogenéticas en propodios, dactilos y mandíbulas en individuos de *Aegla uruguayana*.

Materiales y Métodos

Recolección de datos:

Se utilizaron ejemplares de *Aegla uruguayana* colectados en Arroyo “El Espinillo” (31°33'30” S, 60°30'80” O), Provincia de Entre Ríos, conservados en alcohol 70%, pertenecientes a la colección de Macrocrustáceos del INALI. La recolección y almacenamiento de las muestras fue llevada a cabo por la Dra. Gabriela Mussin y la Dra. Verónica Williner. Se seleccionaron 85 especímenes de *Aegla uruguayana* de ambos sexos (juveniles n=15, machos n=40 y hembras n=30). En trabajos previos se observó que existían patrones de variación de forma intraespecíficos entre rangos discretos de tamaño de acuerdo con el largo del cefalotórax (LC) de especímenes de *Aegla* [54] [61], por lo tanto, en este trabajo se propone discriminar los ejemplares en cinco tallas diferentes: talla 1 (< 4,9 mm LC), talla 2 (5–9,9 mm), talla 3 (10–14,9 mm), talla 4 (15–19,9 mm) y talla 5 (> 20 mm). Los especímenes talla 2 (T2), talla 3 (T3), talla 4 (T4) y talla 5 (T5) fueron categorizados como machos y hembras observando la presencia/ausencia de pleópodos y gonoporos en la coxa del tercer par de pereiópodos [63]. Los especímenes talla 1 (T1) no pueden ser sexados debido a que pleópodos y gonoporos no están diferenciados [54] por lo tanto, fueron categorizados como juveniles. La disección de las mandíbulas (derecha e izquierda), las quelas (derecha e izquierda) y su posterior almacenamiento en tubos eppendorf con alcohol al 70% fueron realizados por integrantes del Laboratorio de Macrocrustáceos del INALI (Dra. Verónica Williner, Lic. Juan Manuel Cabrera y Lic. María Florencia Viozzi). Se observó que algunas muestras presentaban lesiones (propias de la muestra o generadas durante la manipulación) (Figura 1.1 A-B). Además, algunos individuos adultos poseían una de las quelas de un tamaño considerablemente menor respecto de la otra (Figura 1.1 C-D), esto puede deberse a que los crustáceos pueden autotomizar sus apéndices como

respuesta algún tipo de amenaza, luego de lo cual los individuos recuperan sus apéndices mediante un proceso de regeneración durante varios ciclos de muda [64] [65]. Por lo tanto, al momento de capturar estos individuos unos de sus apéndices no se encontraban totalmente regenerado. Estas muestras, rotas y con desarrollo incompleto, no fueron incluidas en análisis posteriores.

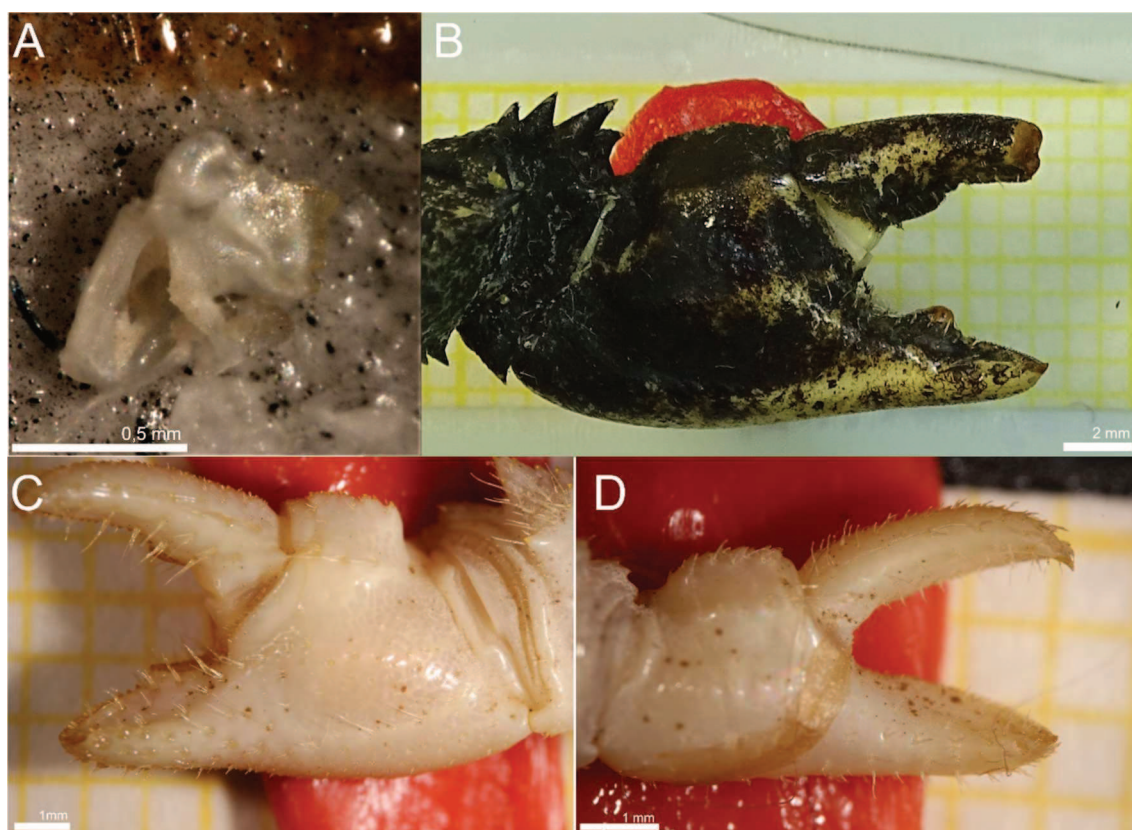


Figura 1.1 – Muestras de *A. uruguayana* descartadas para los análisis posteriores. A, mandíbula derecha con su parte superior rota; B, quela izquierda con la punta del dactilo quebrada; C, quela derecha individuo adulto; D, quela izquierda del mismo individuo adulto.

La zona palmar de las quelas de T1, T2 y T3 fueron fotografiados una cámara Canon EOS Rebel T2i DSLR montada sobre una lupa Leica S8 APO. Los quelípedos de T4 y T5 no pudieron ser fotografiados con la lupa, ya que sus dimensiones impedían capturar la estructura completa. Por lo tanto, los especímenes fueron dispuestos en una placa de vidrio colocada sobre un dispositivo compuesto por una columna de madera y cuatro bulones de cabeza plana, los cuales permitían ajustar la altura y nivelación de la placa. Luego fueron fotografiados utilizando una cámara Sony DSC-HX400V montada sobre un trípode. Previo al inicio de cada sesión fotográfica, se midió la horizontalidad de la cámara de fotos y de la mencionada placa. Los quelípedos están formados, en sus

segmentos distales, por dos estructuras, el dedo móvil o dactilo y el dedo fijo o propodio que forman la quela. Ambas quelas (derecha e izquierda) fueron fotografiadas en apertura máxima. En el caso de los dactilos, algunos autores deciden no utilizar morfometría geométrica para analizar su forma debido a que son estructuras móviles y no logran identificar puntos homólogos donde puedan colocar landmarks [66]. En este trabajo se propone analizar por separado el propodio y el dactilo, controlando así el efecto de la posición de uno respecto del otro (Figura 1.2). Las fotos fueron agrupadas por tallas para cada una de las quelas (Tabla 1.1).

Tabla 1.1 – Cantidad de mandíbulas fotografiadas discriminados por talla.

	Quelas derecha			Quelas izquierda		
	Juveniles	Machos	Hembras	Juveniles	Machos	Hembras
Talla 1	15	-	-	15	-	-
Talla 2	-	8	6	-	10	7
Talla 3	-	10	7	-	9	8
Talla 4	-	9	8	-	6	4
Talla 5	-	13	5	-	11	4

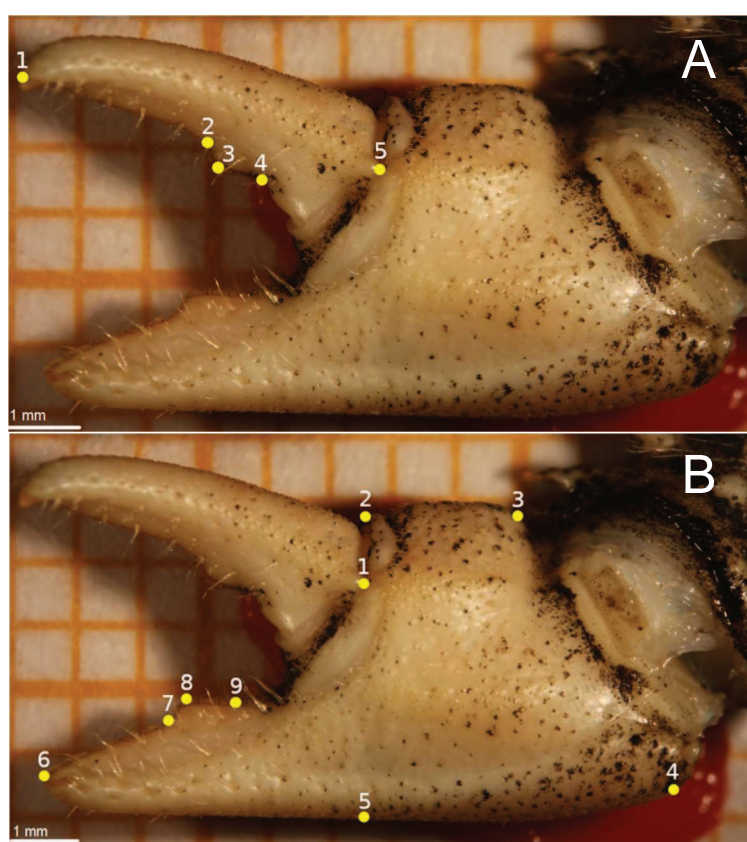


Figura 1.2 – Configuración de LM utilizada para el análisis de forma de las quelas. A, configuración del dactilo; B, configuración del propodio.

Se utilizaron los programas tpsUtil y tpsDig2 [9] para la creación de los archivos TPS y la colocación de landmarks. Se colocaron 5 LM para representar la forma del dactilo y 9 LM para representar la forma del propodio (Tabla 1.2). Se obtuvieron 20 archivos TPS, 5 para cada propodio y dactilo de la quela derecha e izquierda, para cada grupo de talla, los cuales fueron analizados por separado. Se calcularon los errores de fotografía, colocación de landmark y el error producido al utilizar diferentes cámaras. Para ello se replicó el proceso de fotografía y colocación de landmarks en ambos propodios y dactilos sobre una submuestra de 19 individuos. Luego se utilizó ANOVA para evaluar el efecto de la toma de fotografía (conjunto original y replica), la utilización de diferentes cámaras (cámara+lupa y cámara), de la colocación de landmarks (conjunto original y replica) y la variabilidad propia entre individuos como referencia. Los resultados mostraron que los efectos de la toma de fotografía, utilización de diferentes cámaras y de colocación de landmark fueron despreciables, de esta manera se continuo con el análisis de datos.

Tabla 1.2 – Descripción de las configuraciones de LM seleccionados en las quelas.

Estructura	LM Dactilo	LM Propodio
Punta del dactilo	1	-
Diente lobular del dactilo	2-3-4	-
Inserción del dactilo en el propodio	5	1
Punta distal de la base de la cresta palmar	-	2
Punta proximal de la base de la cresta palmar	-	3
Base externa de la articulación carpo-propodio	-	4
Base del propodio	-	5
Punta del propodio	-	6
Diente lobular del propodio	-	7-8-9

Se fotografió la parte interna de las mandíbulas utilizando una cámara Canon EOS Rebel T2i DSLR montada sobre una lupa binocular Leica S8 APO. La estructura cóncava de las mandíbulas hace difícil caracterizar su forma en una sola toma fotográfica ya que presentan múltiples planos focales con información de interés (Figura 1.3 A-B). Una posible solución para este problema es aumentar la profundidad de campo a través de la reducción de la magnificación del lente (reducir el zum) [2], pero debido al tamaño pequeño de las mandíbulas (de 1 a 3 mm) esta aproximación no se podía aplicar. Para poder representar correctamente la estructura mandibular en una sola imagen se decidió tomar una fotografía por cada plano focal de cada muestra. Posteriormente se utilizó el software Helicon-Focus 6 versión de prueba [67] para fusionar las imágenes correspondientes a los planos focales de cada espécimen y de

esa manera obtener una imagen con mayor profundidad de campo (Figura 1.3 C). Las fotos fueron agrupadas por tallas para cada una de las mandíbulas (Tabla 1.3).

Tabla 1.3 – Cantidad de mandíbulas fotografiadas discriminados por talla.

	Mandíbulas derecha			Mandíbulas izquierda		
	Juveniles	Machos	Hembras	Juveniles	Machos	Hembras
Talla 1	12	-	-	11	-	-
Talla 2	-	11	7	-	11	7
Talla 3	-	8	8	-	9	8
Talla 4	-	9	8	-	9	8
Talla 5	-	10	7	-	10	7

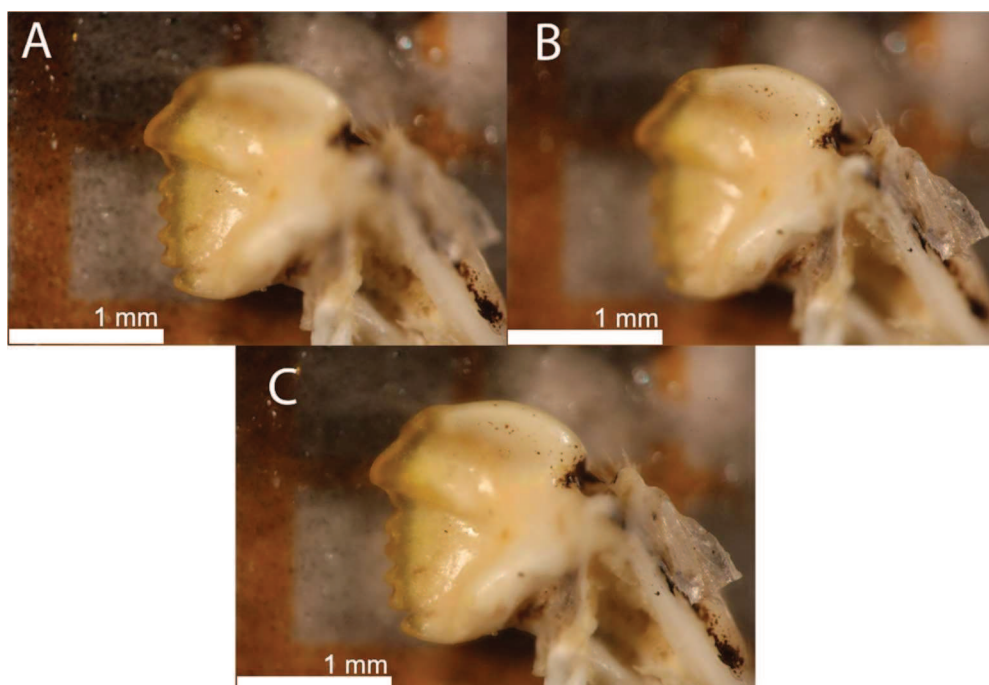


Figura 1.3 –Mandíbula derecha de *A. uruguayana*. A-B, Fotografías de la misma muestra con diferente plano focal. C, fotografía con la profundidad de campo aumentada a través de la fusión de imágenes.

Se utilizaron los programas tpsUtil versión 1.78 y tpsDig2 versión 2.31 [9] para la creación de los archivos TPS y la colocación de landmarks. A partir de trabajos previos [68] se escogieron configuraciones LM diferentes para las mandíbulas izquierdas y las mandíbulas derechas (Figura 1.4), ya que no son estructuras simétricas, sino complementarias (Figura 1.5).

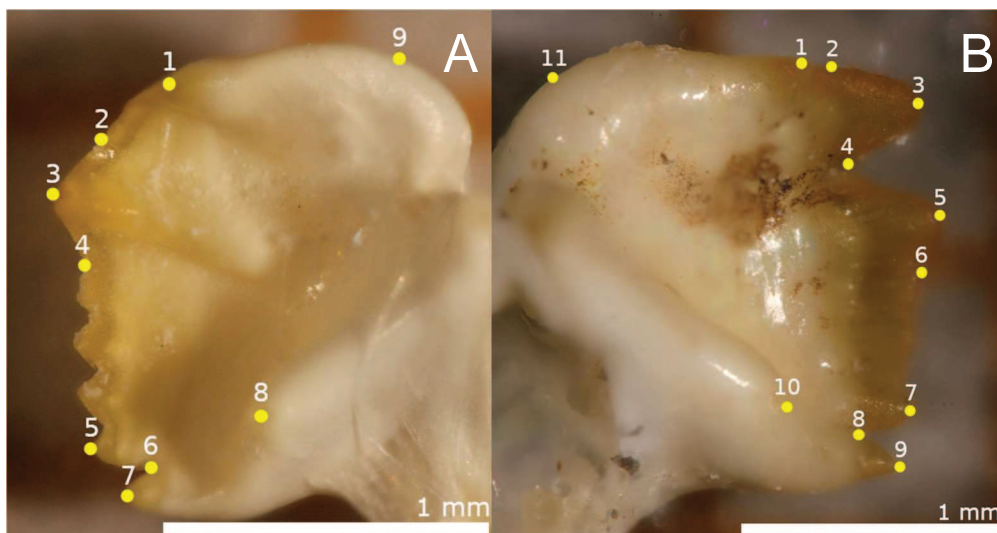


Figura 1.4 – Configuración de LM utilizada para el análisis de forma de las mandíbulas. A, mandíbula derecha; B, mandíbula izquierda.

Se colocaron 9 LM en la mandíbula derecha y 11 LM en la mandíbula izquierda (Tabla 1.4). Se obtuvieron 10 archivos TPS, 5 representando cada talla de la mandíbula derecha y 5 representando cada talla de la mandíbula izquierda, los cuales fueron analizados por separado.

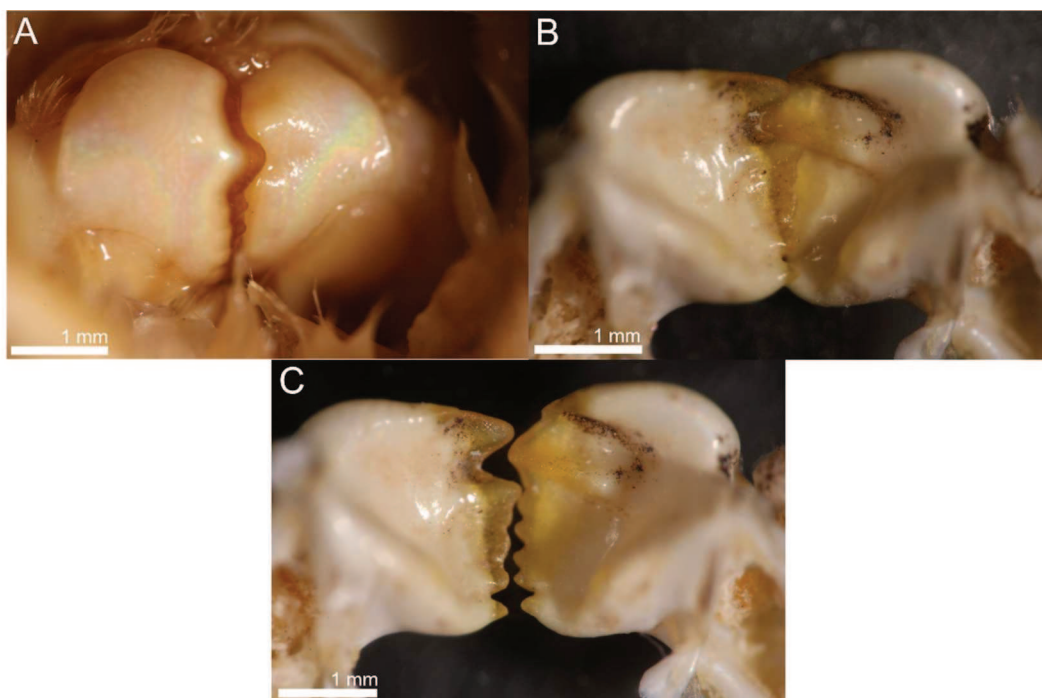


Figura 1.5 – Mandíbulas, derecha e izquierda de un espécimen de *Aegla*. A, vista dorsal; B vista ventral; C, vista ventral separando las mandíbulas.

Se calcularon los errores de fotografía y colocación de landmark. Para ello se replicó el proceso de fotografía y colocación de landmarks en ambas mandíbulas sobre una submuestra de 19 individuos. Luego se utilizó ANOVA para evaluar el efecto de la toma de fotografía (conjunto original y replica), de la colocación de landmarks (conjunto original y replica) y la variabilidad propia entre individuos como referencia. Los resultados mostraron que los efectos de la toma de fotografía y de colocación de landmark fueron despreciables, de esta manera se continuo con el análisis de datos.

Tabla 1.4 – Descripción de las configuraciones de LM seleccionados en las mandíbulas.

Estructura	Mandíbula izquierda	Mandíbula derecha
Diente anterior pequeño	1	1
Primer y Segundo diente medio	2-3-4-5-6	-
Cavidad posterior	7-8-9	5-6-7
Primer diente medio	-	2-3-4
Proceso molar	10	8
Región convexa	11	9

Análisis de los datos

Se obtuvieron 6 conjuntos de configuraciones: mandíbula derecha, mandíbula izquierda, dactilo derecho, propodio derecho, dactilo izquierdo y propodio izquierdo. Las configuraciones fueron clasificadas según su talla (1 a 5) (Figura 1.6 - 1.7) y sexo/estadio (H: hembras, M: machos, J: juveniles). Las configuraciones de LM correspondientes a cada conjunto de datos fueron alineadas utilizando el método de “ajuste de Procrustes” [7], eliminando los efectos de escala, rotación y posición de las mismas. Se utilizó el tamaño de centroide de cada configuración como una medida estimada del tamaño de cada estructura. Para evaluar la presencia de alometría se realizó una regresión lineal multivariada, analizando la forma, representada como coordenadas de Procrustes, en función del tamaño de centroide para cada una de las estructuras analizadas. Se utilizaron elipses de confianza (al 90%) para representar la variación de forma/tamaño en cada una de las tallas. Se exploraron las variaciones de forma mediante análisis de componentes principales (PCA) en cada estructura y se observó el ordenamiento a fin de encontrarla presencia de patrones de variación entre los individuos. Se utilizaron elipses de confianza (al 10%) para representar las formas medias correspondientes a cada talla en los gráficos de PCA. Las variaciones de forma, considerando los extremos de los ejes de las componentes principales respecto de la configuración consenso fueron representados por grillas de deformación, facilitando la visualización e

identificación de las regiones variables de las configuraciones de landmarks estudiadas. Además, se cuantificaron las diferencias entre las formas medias entre tallas y sexo/estadio utilizando análisis de variación canónica (CVA) y se evaluó la significancia de estos resultados utilizando comparaciones por pares. El análisis de componentes principales, las grillas de deformación y los gráficos de los resultados fueron realizados mediante un script de R. Se utilizó el programa MorphoJ versión 1.07a [8] para llevar a cabo los análisis canónicos y la regresión multivariada para evaluar la alometría.

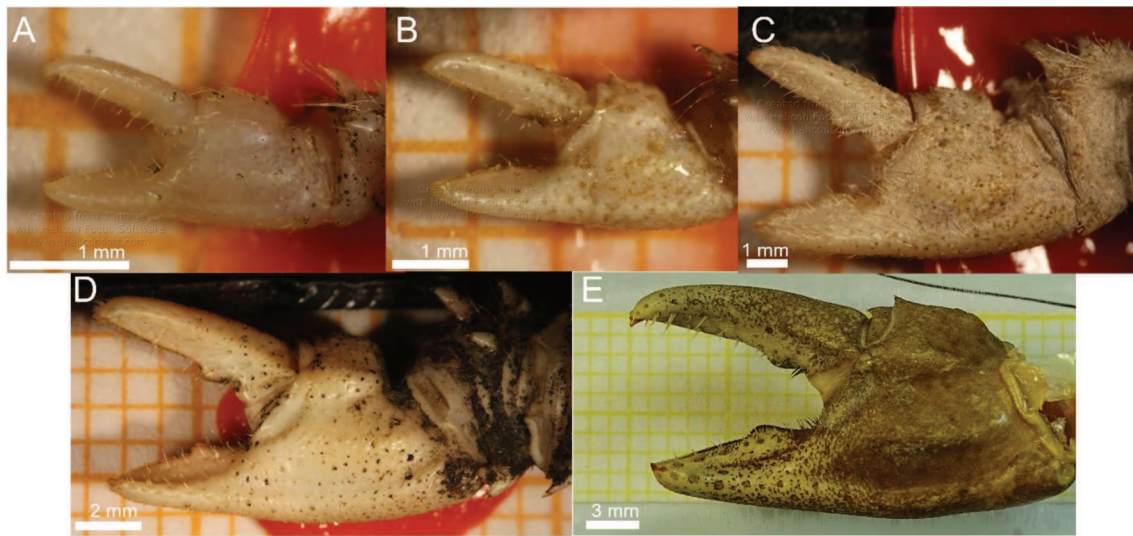


Figura 1.6 – Quelas de *A. uruguayana* discriminadas por tallas. A, T1; B, T2; C, T3; D, T4; E, T5.

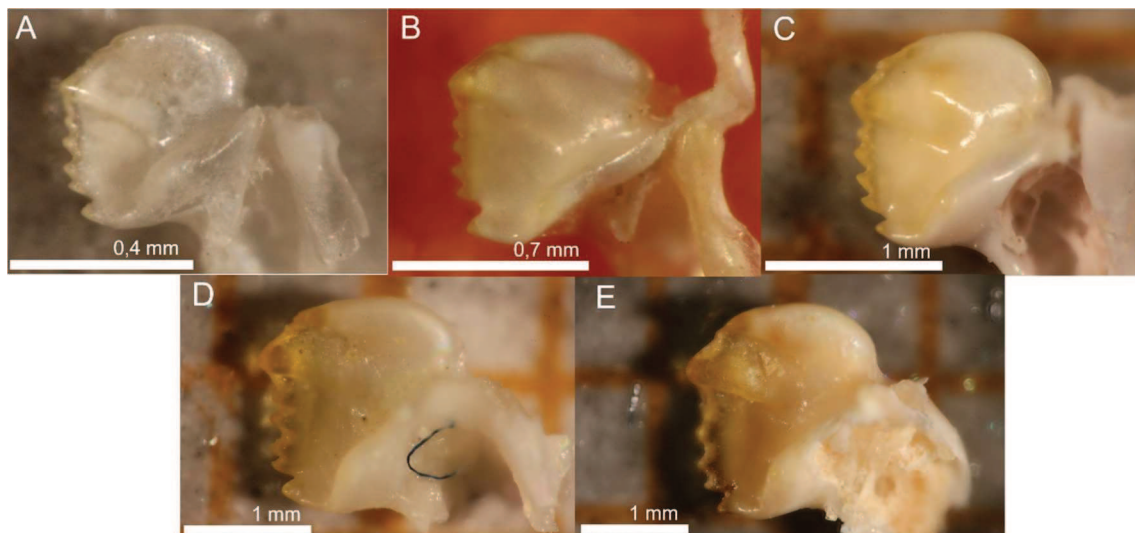


Figura 1.7 – Mandíbulas de *A. uruguayana* discriminadas por tallas. A, T1; B, T2; C, T3; D, T4; E, T5.

Resultados

Propodios

El análisis de alometría mostró que existe una relación estadísticamente significativa del tamaño con la variación de forma en el propodio derecho ($p < 0.01$; $SS = 0,18$; $R^2 = 0,21$) y en el propodio izquierdo ($p < 0.01$; $SS = 0,23$; $R^2 = 0,41\%$) (Figura 1.8). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la forma de los propodios (derecho e izquierdo) de machos y hembras, pero si entre especímenes adultos y juveniles (CVA, comparaciones por pares) (Tabla 1.5).

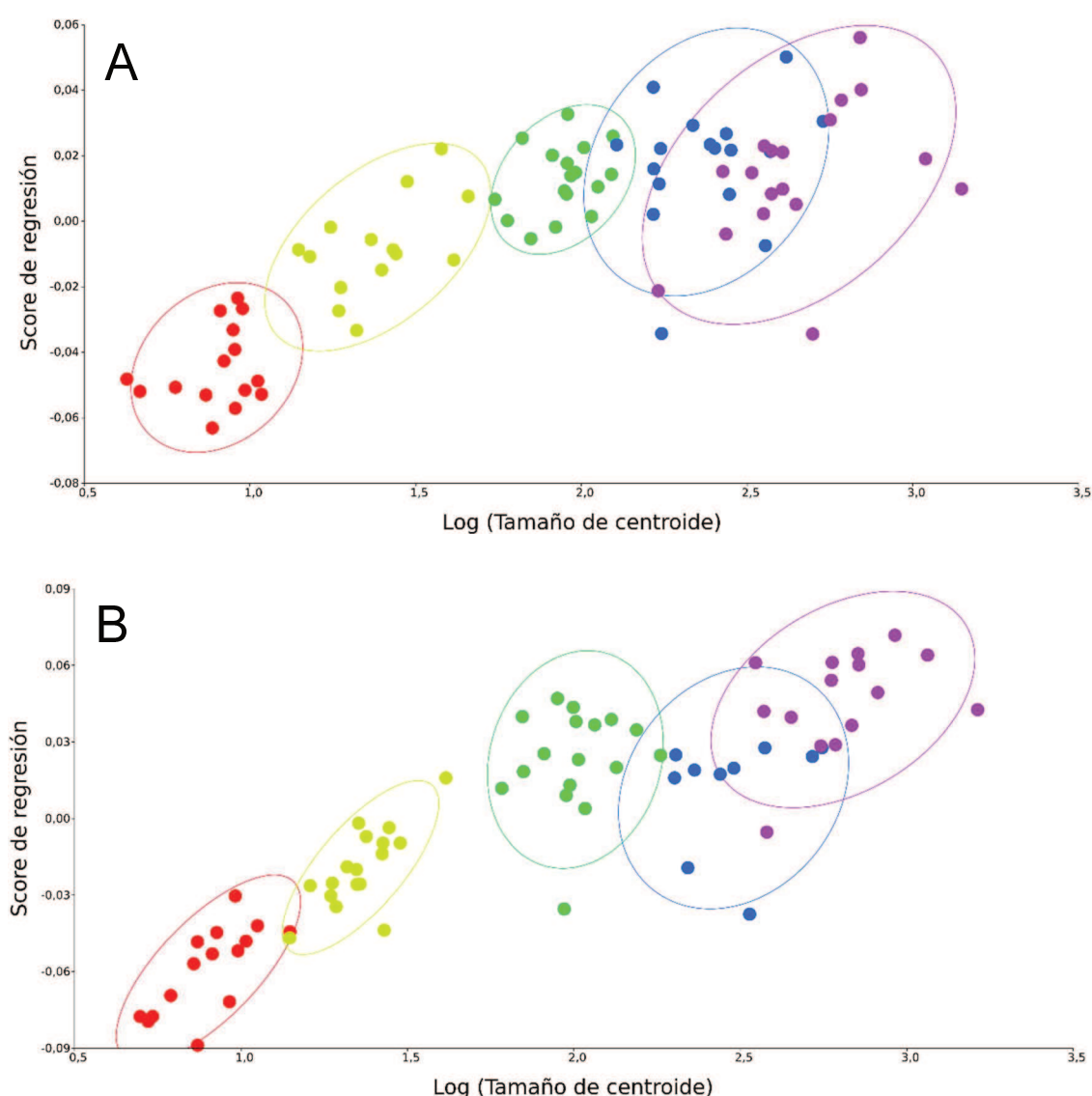


Figura 1.8 – Gráfico de regresión lineal entre tamaño de centroide y forma de los propodios. Los puntos representan los especímenes analizados discriminados por talla (A, propodio derecho; B, propodio izquierdo). T1-rojo, T2-amarillo, T3-verde, T4-azul, T5- violeta. Elipses de confianza al 90%.

Tabla 1.5 – Comparación de a pares obtenidos del análisis de CVA. Valor *p* correspondientes a los datos de forma de propodios discriminados por sexo/estadio.

Propodio derecho		
	Hembras	Juveniles
Juveniles	< 0,0001	
Machos	0,1977	< 0,0001
Propodio izquierdo		
	Hembras	Juveniles
Juveniles	< 0,0001	
Machos	0,0522	< 0,0001

El análisis del propodio derecho, considerando la componente principal 1 (PC1 explica el 39,26% de la variación de forma), muestra un patrón donde las configuraciones medias de las tallas T2, T3, T4 y T5 (adultos) se agrupan en el lado positivo, mientras que la configuración media correspondiente a la T1 (juveniles) se ubica en el lado negativo de la variación de forma (Figura 1.9). Las configuraciones correspondientes al extremo positivo de la componente principal 1 presentan un diente lobular prominente (LM 7-8-9), mientras que las configuraciones del extremo negativo presentan un diente lobular aplanado (Figura 1.10). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las tallas (CVA, comparaciones por pares) (Tabla 1.6).

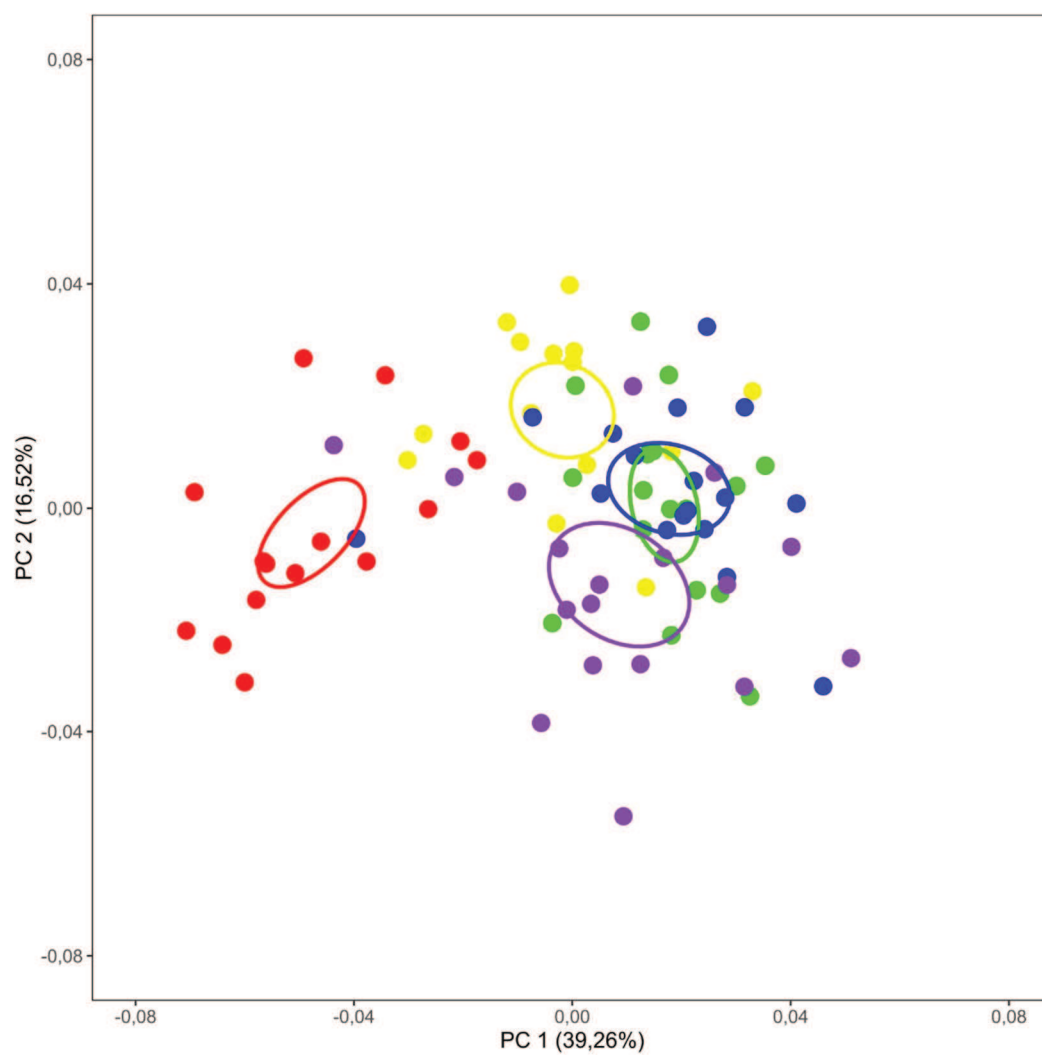


Figura 1.9 – Análisis de componentes principales correspondiente al propodio derecho. Los puntos representan los especímenes analizados discriminados por talla. T1-rojo, T2-amarillo, T3-verde, T4-azul, T5- violeta. Elipses de confianza al 10%.

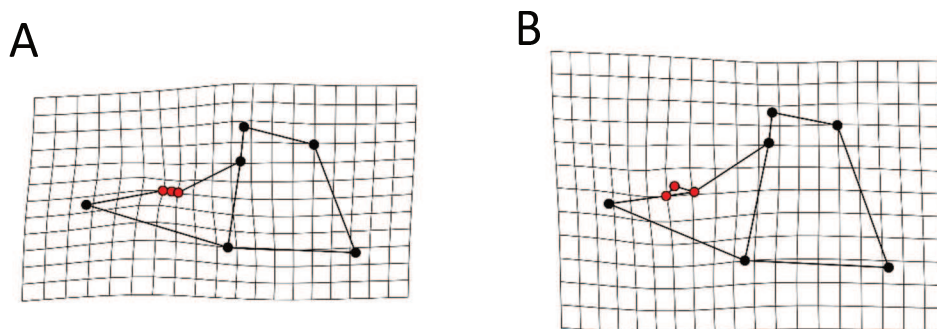


Figura 1.10 – Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 1 del propodio derecho (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los landmarks representados con puntos rojos se corresponden con el diente lobular del propodio derecho (LM 7-8-9).

Tabla 1.6 – Comparación de pares obtenidos del análisis de CVA. Valor p correspondientes a los datos de forma del propodio derecho discriminados por talla.

	T1	T2	T3	T4
T2	< 0,0001			
T3	< 0,0001	< 0,0001		
T4	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	
T5	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

En el propodio izquierdo se puede observar que las configuraciones medias se separan en la componente principal 1 (PC1 explica el 54,33 % de la variación de forma), presentando un gradiente de variación de forma entre las tallas (Figura 1.11). Al igual que en el propodio derecho, en la componente principal 1 se observa una variación en el diente lobular (Figura 1.12). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las tallas en el propodio izquierdo (CVA, comparaciones por pares) (Tabla 1.7).

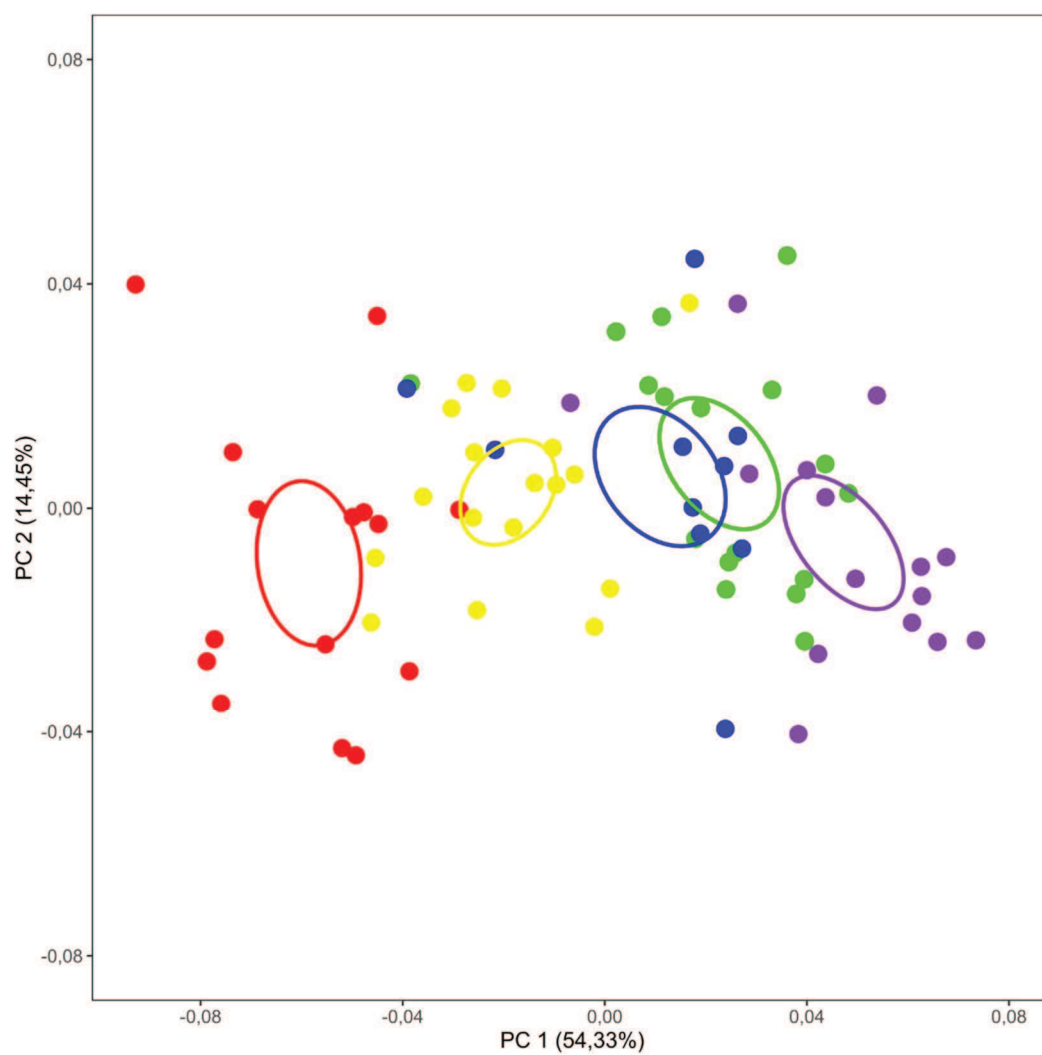


Figura 1.11 – Análisis de componentes principales correspondiente al propodio izquierdo. Los puntos representan los especímenes analizados discriminados por talla. T1-rojo, T2-amarillo, T3-verde, T4-azul, T5- violeta. Elipses de confianza al 10%.

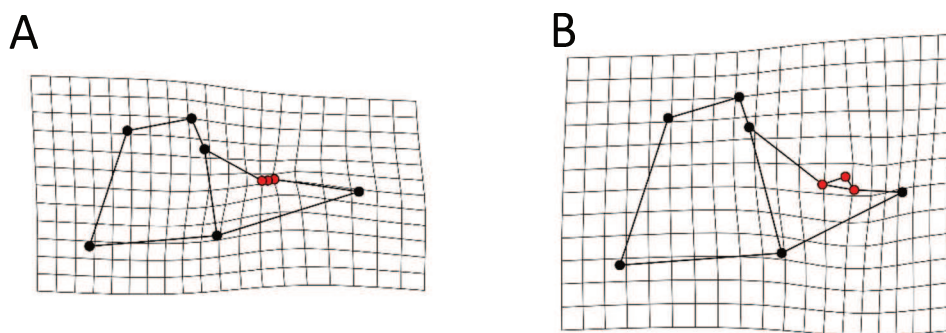


Figura 1.12 – Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 1 del propodio izquierdo (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los landmarks representados con puntos rojos se corresponden con el diente lobular del propodio izquierdo (LM 7-8-9).

Tabla 1.7 – Comparación de pares obtenidos del análisis de CVA. Valor p correspondientes a los datos de forma del propodio izquierdo discriminados por talla.

	T1	T2	T3	T4
T2	<0,0001			
T3	<0,0001	<0,0001		
T4	<0,0001	<0,0001	0,0011	
T5	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Dactilos

El análisis de alometría mostró que existe una relación estadísticamente significativa del tamaño con la variación de forma en el dactilo derecho ($p < 0.01$; $SS = 0,30$; $R^2 = 0,30$) y el dactilo izquierdo ($p < 0.01$; $SS = 0,38$; $R^2 = 0,46$) (Figura 1.13). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la forma del dactilo, derecho e izquierdo, de machos y hembras, pero si entre especímenes adultos y especímenes juveniles (CVA, comparaciones por pares) (Tabla 1.8).

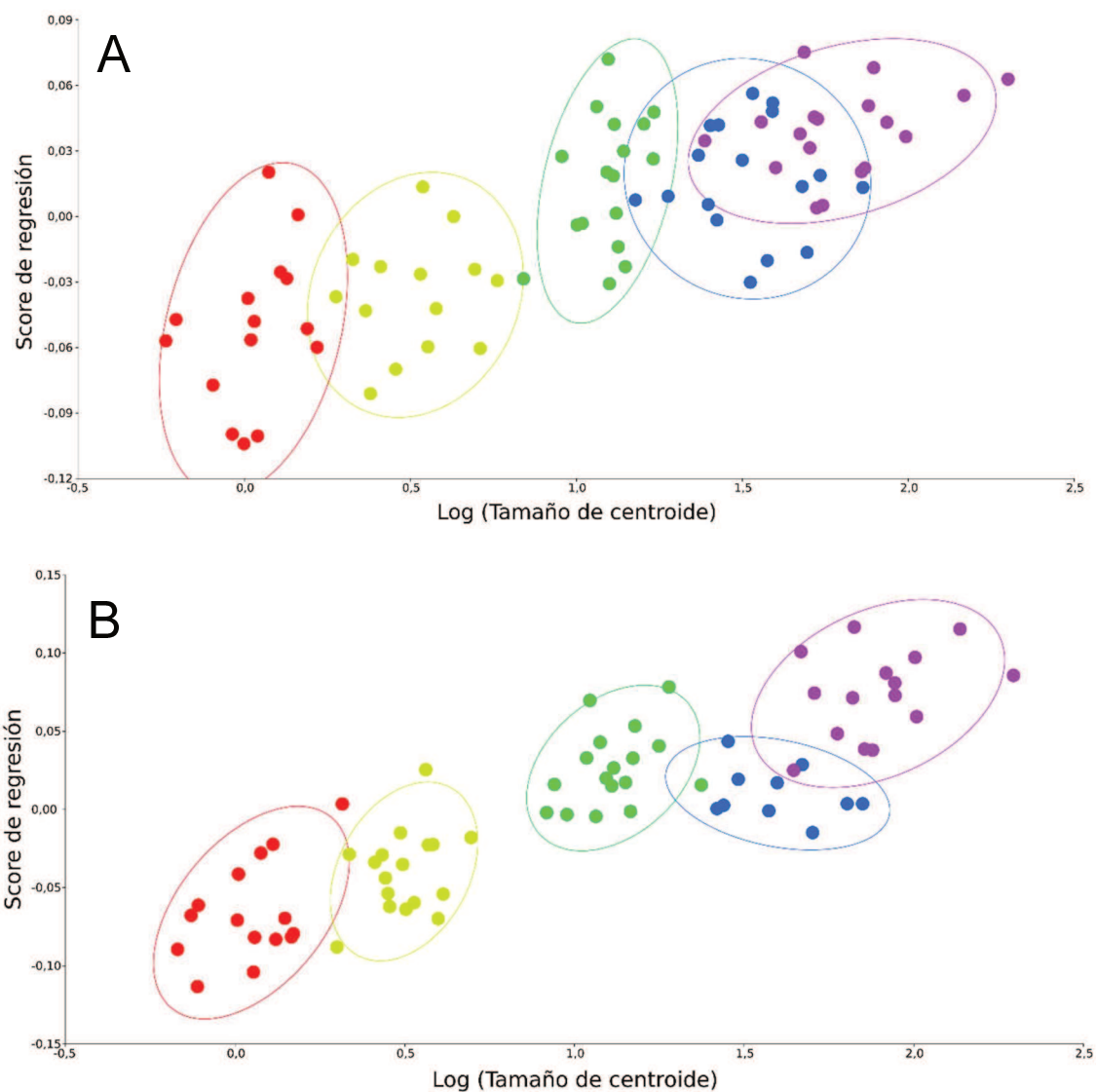


Figura 1.13 – Gráfico de regresión lineal entre tamaño de centroide y forma de los dactilos. Los puntos representan las configuraciones de los especímenes analizados discriminados por talla (A, dactilo derecho; B, dactilo izquierdo). T1-rojo, T2-amarillo, T3-verde, T4-azul, T5- violeta. Elipses de confianza al 90%.

Tabla 1.8 – Comparación de a pares obtenidos del análisis de CVA. Valor *p* correspondientes a los datos de forma de dactilos discriminados por sexo/estadio.

Dactilo derecho		
	Hembras	Juveniles
Juveniles	< 0,0001	
Machos	0,4397	< 0,0001
Dactilo izquierdo		
	Hembras	Juveniles
Juveniles	< 0,0001	
Machos	0,2577	< 0,0001

La variación de forma del dactilo derecho muestra una separación entre los especímenes T3, T4 y T5, y los especímenes T1 y T2 en la componente principal 1 (PC1 explica el 53,03 % de la variación de forma) (Figura 1.14). Los especímenes ubicados en el extremo positivo de la componente principal 1 presentan un diente lobular (LM 2-3-4) angosto alineado con la punta (LM 1) y el extremo de inserción (LM 5), mientras que los ubicados en el extremo negativo presentan un diente lobular más ancho y orientado en dirección a la punta del dactilo (Figura 1.15). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las tallas (CVA, comparaciones por pares) (Tabla 1.9).

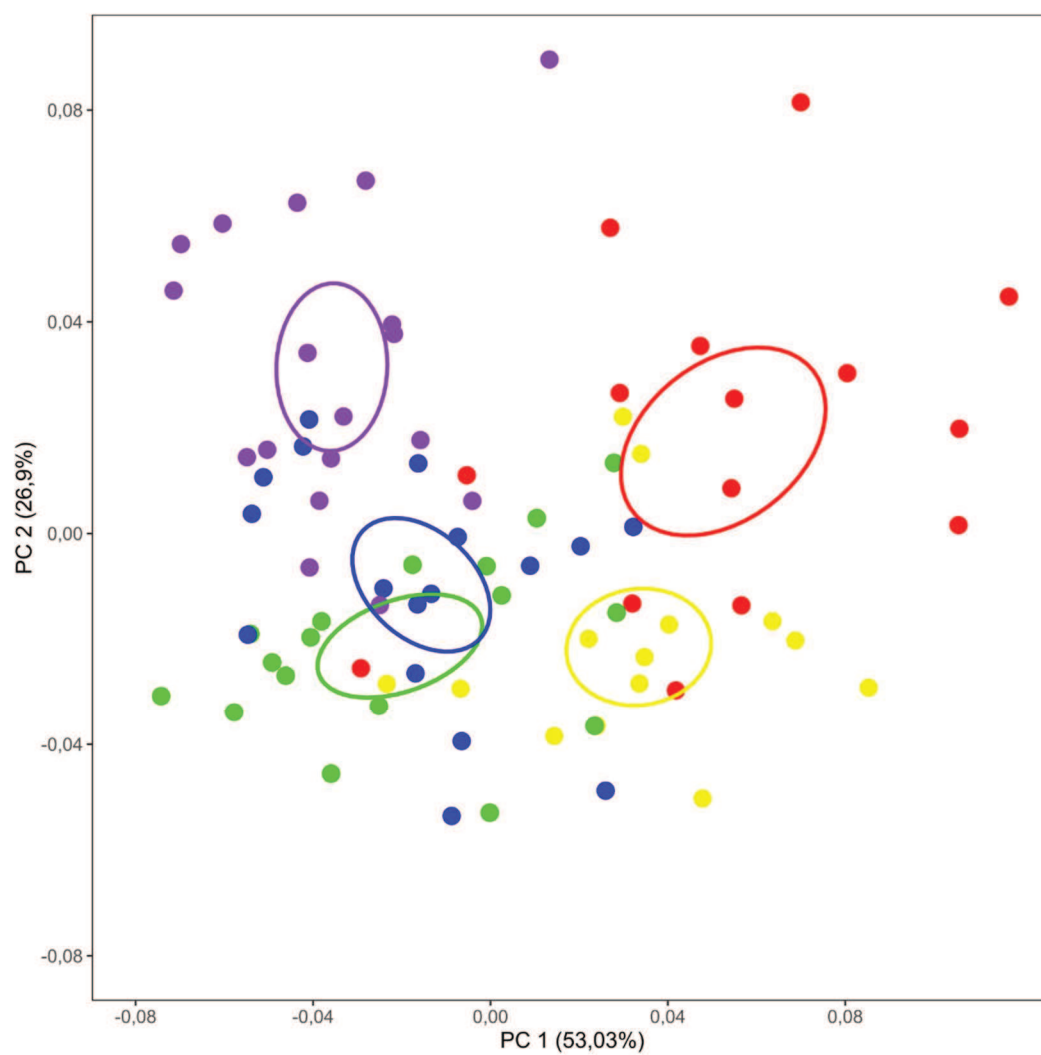


Figura 1.14 – Análisis de componentes principales correspondiente al dáktilo derecho. Los puntos representan las configuraciones de los especímenes analizados discriminados por talla. T1-rojo, T2-amarillo, T3-verde, T4-azul, T5- violeta. Elipses de confianza al 10%.



Figura 1.15 – Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 1 del dactilo derecho (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los landmarks representados con puntos rojos se corresponden con el diente lobular del dactilo derecho (LM 2-3-4).

Tabla 1.9 – Comparación de a pares obtenidos del análisis de CVA. Valor p correspondientes a los datos de forma del dactilo derecho discriminados por tallas.

	T1	T2	T3	T4
T2	< 0,0001			
T3	<0,0001	<0,0001		
T4	<0,0001	<0,0001	0,0011	
T5	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

En el caso del dactilo izquierdo se observa que las configuraciones medias de las tallas forman 2 grupos (PC1 explica el 62,49 % de la variación de forma). Los especímenes de T1 y T2 se agrupan en el lado negativo del eje, mientras que los especímenes de T3, T4 y T5 se ubican en el lado positivo del eje (Figura 1.16). Los especímenes ubicados en el extremo negativo de la componente principal 1 presentan un diente lobular (LM 2-3-4) angosto alineado con la punta (LM 1) y el extremo de inserción (LM 5), mientras que los ubicados en el extremo positivo presentan un diente lobular más ancho y orientado en dirección a la punta del dactilo (Figura 1.17). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las tallas, excepto entre T3 y T4 donde las diferencias no fueron significativas (CVA, comparaciones por pares) (Tabla 1.10).

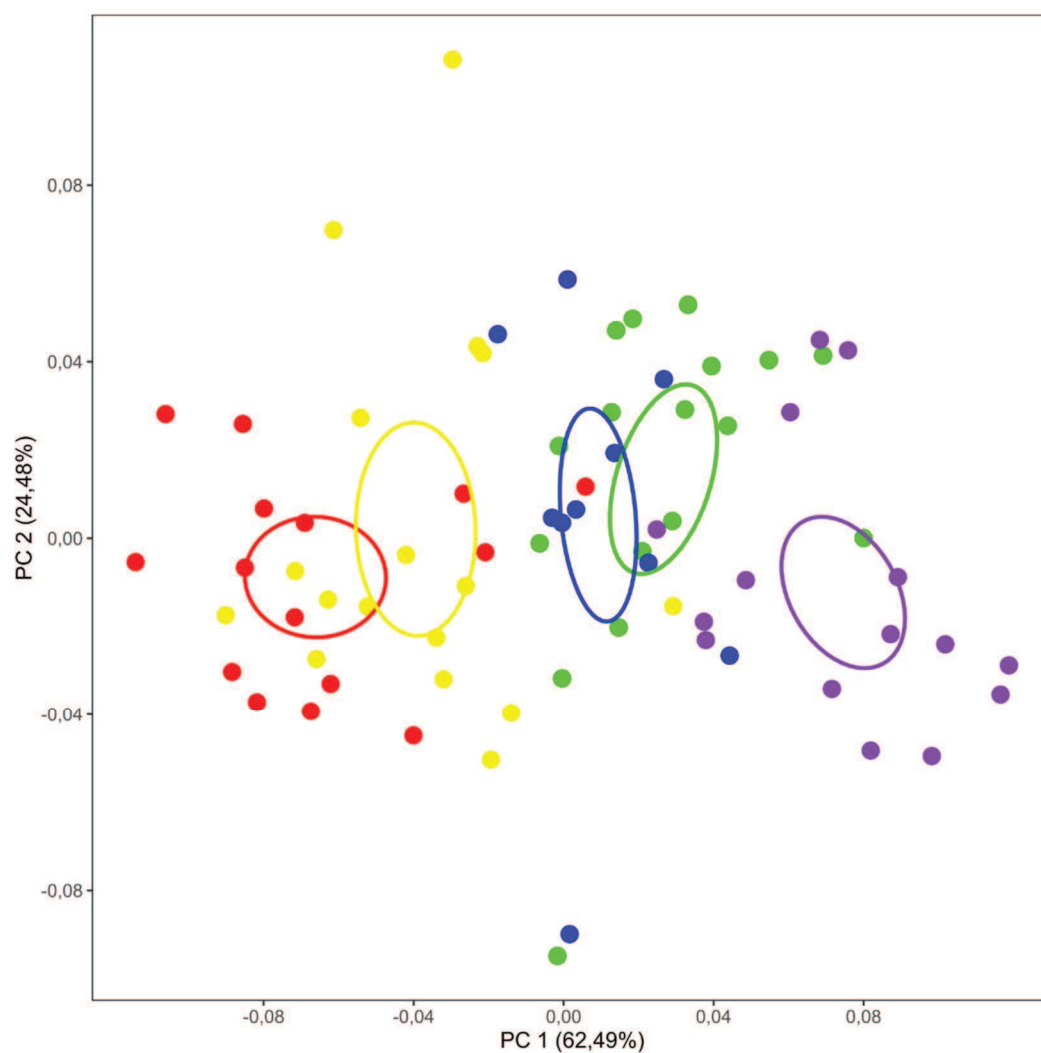


Figura 1.16 – Análisis de componentes principales correspondiente al dactilo izquierdo. Los puntos representan las configuraciones de los especímenes analizados discriminados por talla T1-rojo, T2-amarillo, T3-verde, T4-azul, T5- violeta. Elipses de confianza al 10%.

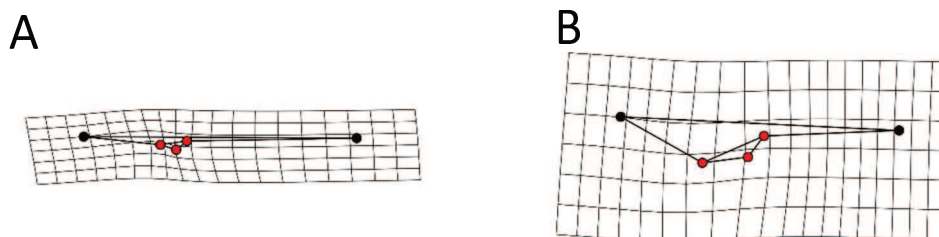


Figura 1.17 - Grillas de deformación correspondientes a los extremos de la componente principal 2 del dactilo izquierdo variación (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los landmarks representados con puntos rojos se corresponden con el diente lobular del dactilo izquierdo (LM 2-3-4).

Tabla 1.10 – Comparación de a pares obtenidos del análisis de CVA. Valor p correspondientes a los datos de forma del dactilo izquierdo discriminados por talla.

	T1	T2	T3	T4
T2	< 0,0001			
T3	<0,0001	<0,0001		
T4	<0,0001	<0,0001	0,3371	
T5	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Mandíbulas

El análisis de alometría mostró que existe una relación estadísticamente significativa del tamaño con la variación de forma en el dactilo derecho ($p < 0.01$; $SS = 0,37$; $R^2 = 0,23$) y el dactilo izquierdo ($p < 0.01$; $SS = 0,43$; $R^2 = 0,15$) (Figura 1.18). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las configuraciones de machos y hembras, pero si entre especímenes adultos y especímenes juveniles (CVA, comparaciones por pares) (Tabla 1.11).

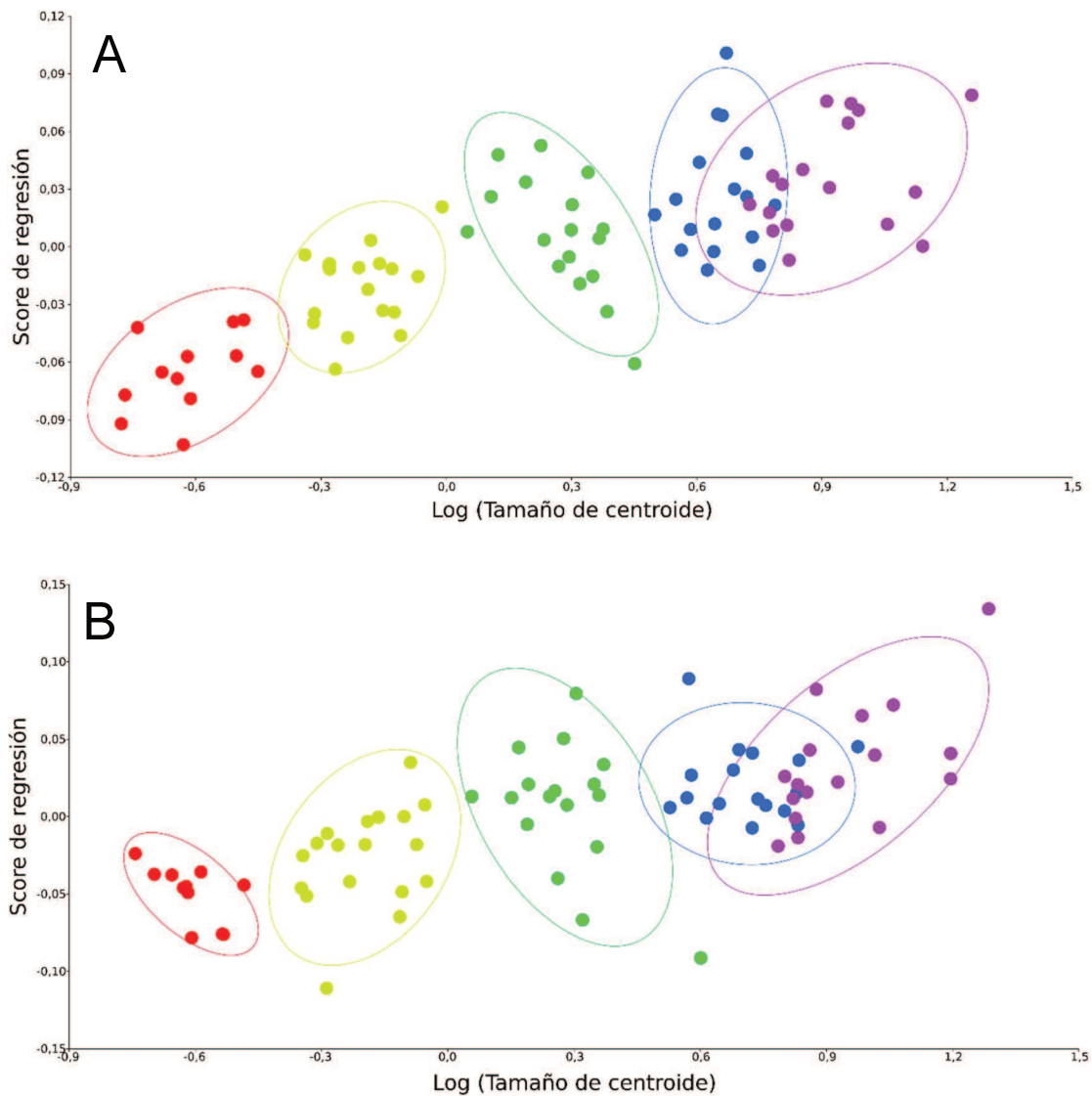


Figura 1.18 – Gráfico de regresión lineal entre tamaño de centroide y forma de mandíbulas. Los puntos representan las configuraciones de los especímenes analizados discriminados por talla (A, mandíbula derecha; B, mandíbula izquierda). T1-rojo, T2-amarillo, T3-verde, T4-azul, T5- violeta. Elipses de confianza al 90%.

Tabla 1.11 – Comparación de a pares obtenidos del análisis de CVA. Valor *p* correspondientes a los datos de forma de mandíbulas discriminados por sexo/estadio.

Mandíbula derecha		
	Hembras	Juveniles
Juveniles	<0,0001	
Machos	0,9127	<0,0001
Mandíbula izquierda		
	Hembras	Juveniles
Juveniles	<0,0001	
Machos	0,7515	<0,0001

A partir de los datos de forma de la mandíbula derecha se puede observar que las configuraciones medias de los especímenes T3, T4 y T5 se agrupan en el lado positivo del eje de la componente principal 1 (PC1 explica el 40,07 % de la variación de forma), mientras que las configuraciones medias correspondientes a los especímenes T1 y T2 se ubican en el lado negativo (Figura 1.19). La variación de forma de la componente principal 1 se corresponde con la posición en la que se ubica el diente anterior pequeño (LM 1) respecto del diente medio (LM 2-3-4), y al tamaño del diente medio. Los especímenes agrupados en lado positivo de la componente principal 1 poseen dientes medios reducidos en tamaño y un diente anterior pequeño ubicado por detrás del diente medio, mientras que los especímenes observados en el lado negativo de la componente principal 1 poseen dientes medios de mayor tamaño y diente anterior pequeño se ubica por encima diente medio (Figura 1.20). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas de forma entre las tallas en la mandíbula derecha (CVA, comparaciones por pares) (Tabla 1.12).

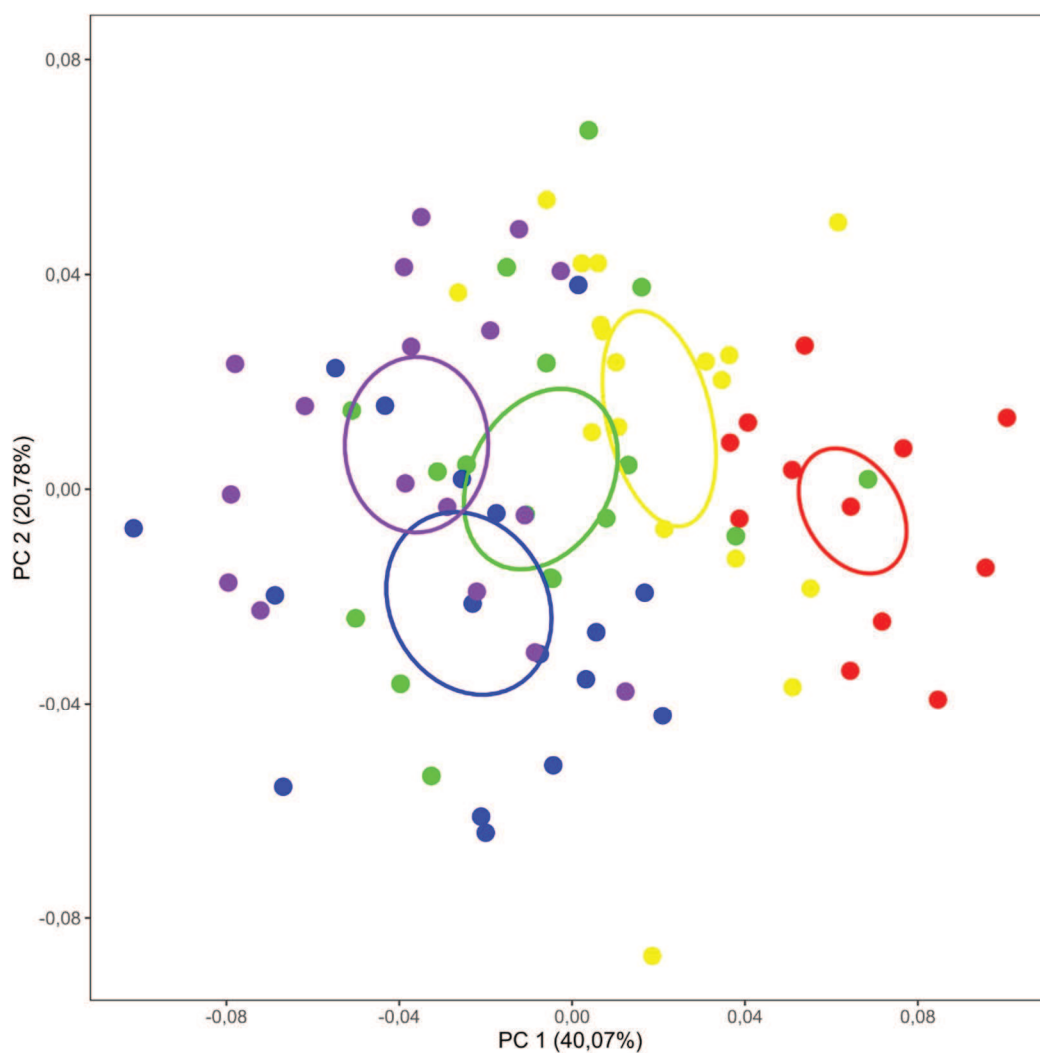


Figura 1.19 – Análisis de componentes principales correspondiente a los datos de forma de la mandíbula derecha. Los puntos representan las configuraciones de los especímenes analizados discriminados por talla: T1-rojo, T2-amarillo, T3-verde, T4-azul, T5- violeta. Elipses de confianza al 10%.

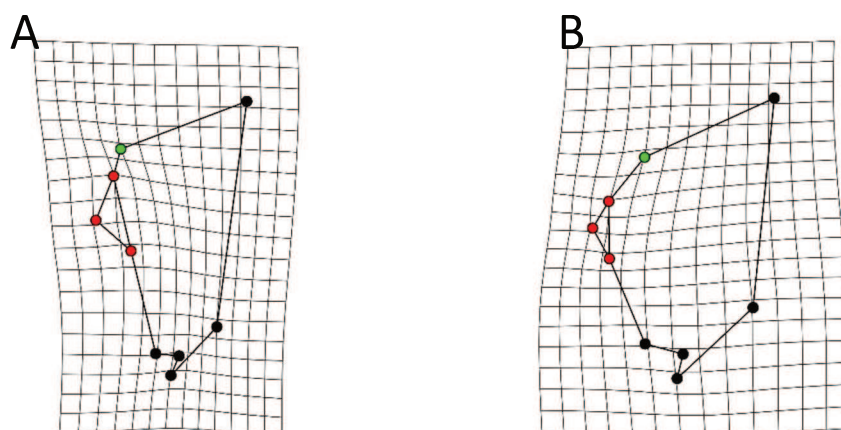


Figura 1.20 - Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 1 de la mandíbula derecha (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los landmarks representados con puntos verdes se corresponden con el diente anterior pequeño (LM 1) de la mandíbula, mientras que los rojos se corresponden con el diente medio (LM 2-3-4).

Tabla 1.12 – Comparación de a pares obtenidos del análisis de CVA. Valor *p* correspondientes a los datos de forma de la mandíbula derecha discriminados por tallas.

	T1	T2	T3	T4
T2	<0,0001			
T3	<0,0001	<0,0001		
T4	<0,0001	<0,0001	0,0004	
T5	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0230

Los datos de forma de la mandíbula izquierda muestran que las configuraciones medias de todas las tallas se encuentran parcialmente solapadas, formando un gradiente de variación de forma en la componente principal 1 (PC1 explica el 39,87 % de la variación de forma) (Figura 1.21). Los especímenes ubicados en el lado negativo de la componente principal 1 poseen un diente anterior pequeño (LM 1) más alejado del primer diente medio (LM 2-3-4) respecto de los especímenes ubicados en el lado positivo (Figura 1.22). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las configuraciones medias de las tallas (CVA, comparaciones por pares) (Tabla 1.13).

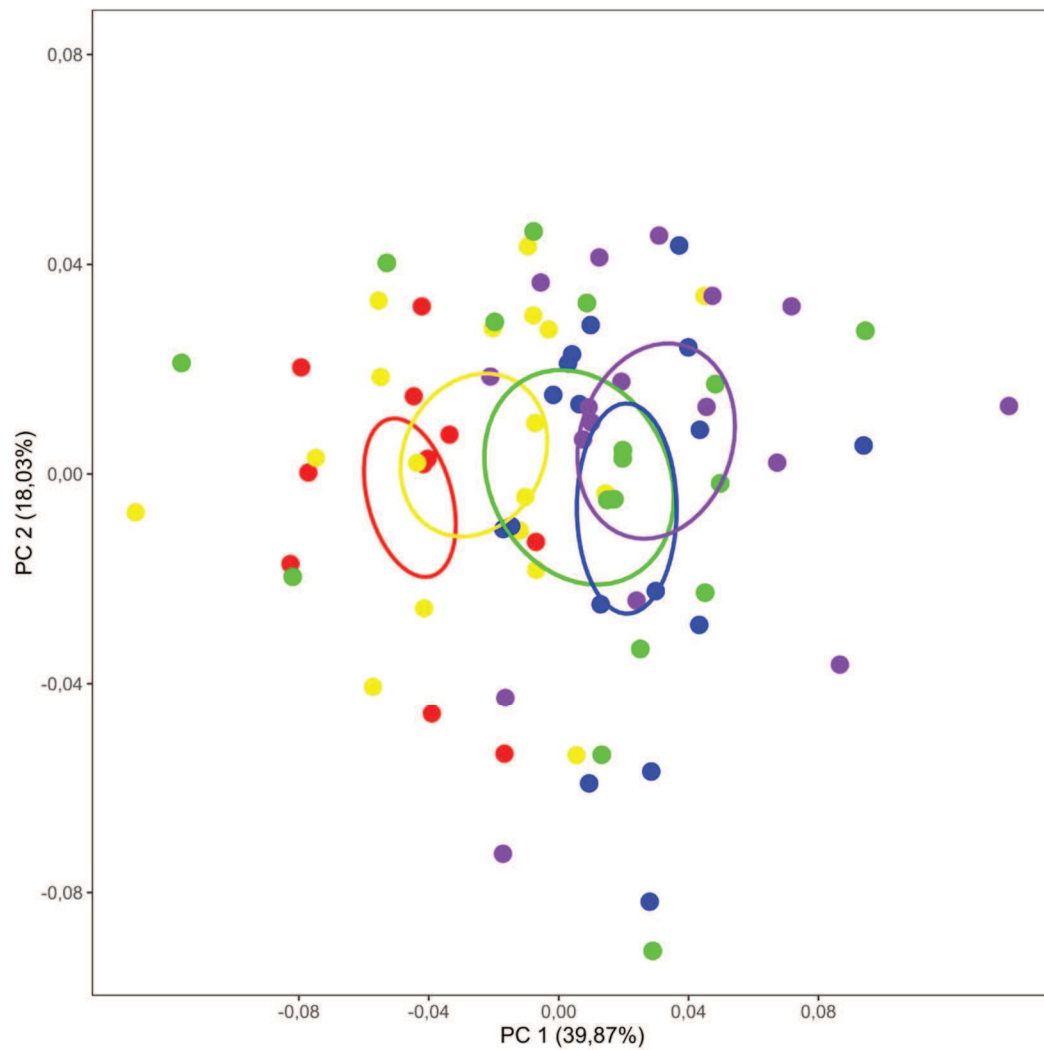


Figura 1.21 – Análisis de componentes principales correspondiente a los datos de forma de la mandíbula derecha. Los puntos representan las configuraciones de los especímenes analizados discriminados por talla. T1-rojo, T2-amarillo, T3-verde, T4-azul, T5- violeta. Elipses de confianza al 10%.

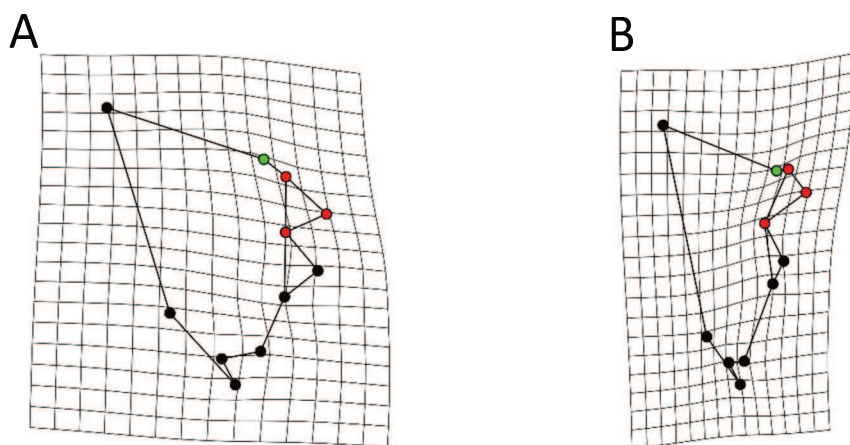


Figura 1.23 - Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 1 de la mandíbula izquierda (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los landmarks representados con puntos verdes se corresponden con el diente anterior pequeño (LM 1) de la mandíbula, mientras que los rojos se corresponden con el primer diente medio (LM 2-3-4).

Tabla 1.13 – Comparación de a pares obtenidos del análisis de CVA. Valor p correspondientes a los datos de forma de la mandíbula izquierda discriminados por tallas.

	T1	T 2	T3	T4
T2	< 0,0001			
T3	<0,0001	<0,0001		
T4	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
T5	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Discusión

En el presente trabajo se encontraron diferencias significativas en la forma de los quelípedos y mandíbulas entre especímenes adultos y juveniles de *Aegla uruguayana*. En trabajos previos donde se analizaron las diferencias de forma entre especímenes adultos y juveniles de *Aegla schmitti* [57] y *Aegla paulensis* [60] concluyen que la morfología de las mandíbulas y de los quelípedos de los especímenes juveniles es similar a la de los adultos, es decir que estos caracteres estarían completamente desarrollados. Sin embargo, estos trabajos utilizan medidas biométricas o descripciones taxonómicas para realizar comparaciones entre la forma de los ejemplares juveniles y

ejemplares adultos. En el caso de las mandíbulas solo se hace referencia a la morfología de una de ellas. Se describen características de los propodios y dactilos de uno de los quelípedos y la información presentada se centra en la cantidad y disposición de setas y espinas [57] [60]. Por otro lado, Francisco *et al.* [59] encontró diferencias de forma entre adultos y juveniles en ambas estructuras (mandíbulas y quelípedos) en especímenes de *Aegla franca*. Los resultados obtenidos en este trabajo revelaron que existen diferencias estadísticamente significativas entre especímenes adultos y juveniles en todas las estructuras analizadas.

El análisis de forma de la zona ventral de propodios y dactilos reveló que existen diferencias de forma entre los especímenes adultos y juveniles. Se observaron diferentes patrones de variación de forma entre quelípedos derechos e izquierdos (heteroquelia), esto concuerda con el hecho de que las quelas de los aéglicos poseen características funcionales diferentes [54]. En *Aegla*, la quela izquierda está involucrada en comportamientos agonísticos y actividades sexuales, mientras que la quela derecha está involucrada en actividades como la manipulación/captura de alimento y grooming [54] [69]. La mayor diferencia entre adultos y juveniles se vio reflejada en el diente lobular (LM 7-8-9), donde los especímenes juveniles mostraban un diente lobular aplanado mientras que los especímenes adultos presentan un diente lobular más prominente, concordando con resultados obtenidos en trabajos previos [59]. Trevisan *et al.* [48] encontraron diferencias significativas en la forma de la región dorsal de ambos propodios entre especímenes machos y hembras *Aegla marginata*. Sin embargo, en el presente trabajo no se encontraron diferencias en la forma de la región ventral de los quelípedos entre especímenes machos y hembras. Esto puede deberse a que Trevisan *et al.* [48] utilizaron una configuración de *landmarks* que representaba mejor el contorno de la palma, mientras que en esta tesis se representó con mayor cantidad de *landmarks* la forma del diente lobular.

Al analizar la región ventral de los dactilos, se logró caracterizar la variación de forma de los mismos, ya que se logró encontrar puntos homólogos para ser utilizados como landmarks. Los patrones de variación de forma de cada dactilo son similares a los observados en su respectivo propodio.

Los patrones de variación de forma de las mandíbulas muestran un mayor solapamiento, siendo estos resultados concordantes con los obtenidos en trabajos previos donde se describe a las mandíbulas de especímenes juveniles como bien desarrolladas y similares a la de los especímenes adultos [57] [59] [60]. Ambas mandíbulas presentaron diferencias de forma estadísticamente significativas entre tallas. También se

encontraron diferencias significativas de forma entre especímenes adultos (T2-3-4-5) y juveniles (T1). La principal diferencia de forma entre adultos y juveniles es en el tamaño de los procesos incisivos (diente medio) y el ancho de la mandíbula, siendo estos resultados similares a los obtenidos por Moraes & Bueno [60] en especímenes juveniles de *Aegla paulensis*. Luego de eclosionar, los especímenes juveniles de *Aegla* se mantienen con cuidados maternos en una cámara ubicada en el pleon de las hembras durante algunos días [70]. Lizardo-Daudt & Bond-Buckup [71] analizaron aspectos morfológicos del desarrollo embrionario de *Aegla platensis* y concluyeron que los especímenes juveniles de esa especie se alimentan con las reservas de vitelo. Coincidiendo con estos autores, Francisco *et al.* [59], encontró un patrón trófico similar en *Aegla franca*. De acuerdo con estas evidencias, se considera que las diferencias de forma en las mandíbulas de *Aegla uruguayana* encontradas en este trabajo, se deberían al mismo patrón trófico.

A partir de los datos obtenidos podemos concluir que: (1) Existen diferencias estadísticamente significativas en las formas de los propodios, dactilos y mandíbulas entre especímenes adultos y juveniles de *Aegla uruguayana*; (2) No se encontraron diferencias de forma entre especímenes machos y hembras en ninguna de las estructuras analizadas; (3) Los dactilos presentaron un patrón de variación de forma similar al que se observa en los propodios, sugiriendo que posee información relevante para el análisis de la variación de la forma.

Capítulo 2: Variación interespecífica en la forma del rostro, quelípedos y mandíbulas en especies del género *Aegla*

Introducción

Especies del género *Aegla* han sido extensivamente estudiadas dadas sus características morfológicas particulares en quelas [26] [48] y el caparazón, donde concentran la mayor parte de la variación intra e interespecífica [39] [40] [42] [48] [61] [62]. Schmitt [25] describió la existencia de dos formas generales de rostro en varias especies de *Aegla*, correspondientes con la distribución geográfica de las mismas. El rostro de tipo “Pacífico” (Figura 2.1 A) está presente en especies distribuidas al este y oeste de la cordillera de los Andes (Oeste de la República Argentina), mientras que el rostro tipo “Atlántico” (Figura 2.1 B) está presente en especies distribuidas principalmente en el centro y Este de la Argentina, en regiones tributarias de la cuenca del Plata. Schmitt [25] también describió especies que no se ajustaban a este criterio, como *Aegla jujuyana*, la cual poseía un rostro con características de ambos grupos (“Atlántico” y “Pacífico”).

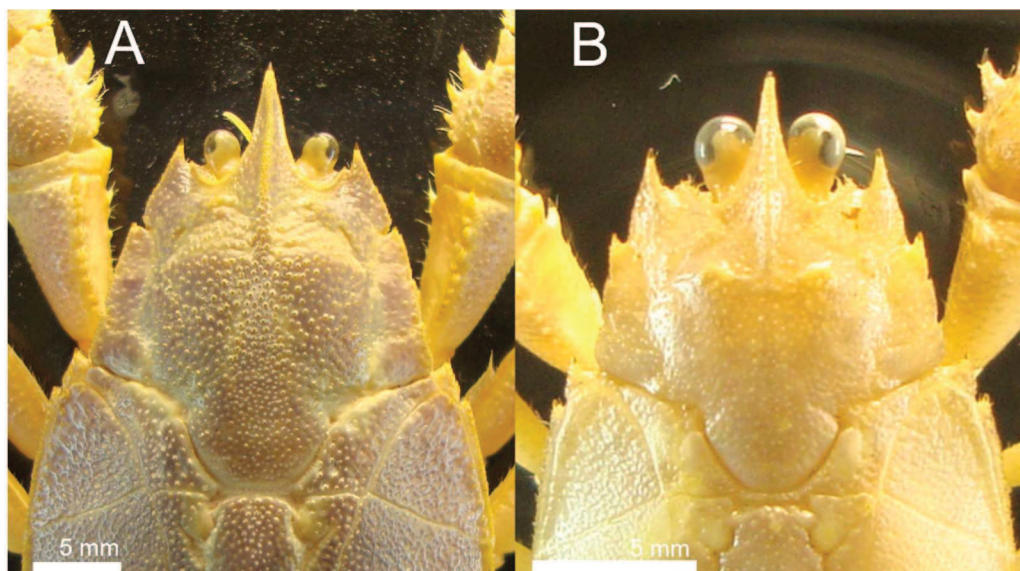


Figura 2.1 – Fotografías de los tipos de rostro de *Aegla* reconocidos por Schmitt. A, fotografía correspondiente a un espécimen de *A. scamosa* con rostro del tipo “Pacífico”; B, fotografía correspondiente a un espécimen de *A. singularis* con rostro del tipo “Atlántico”.

Los aéglicos viven en contacto directo con el sustrato, debido a esto la forma de su cuerpo podría variar de acuerdo con las diferentes condiciones en los ambientes locales [72] [73]. Por ejemplo, la diferencia en las características hidrodinámicas entre ríos y lagos, podría tener alguna influencia en la forma del cefalotórax ejerciendo presiones selectivas sobre los individuos de las poblaciones presentes en estos ambientes [39]. La forma del cefalotórax también puede estar influenciada por el tipo de sustrato (arena, roca, barro, etc.) donde estos especímenes habitan [72].

Se han descrito variaciones en la forma de las quelas y mandíbulas en *Aegla* utilizando descripciones taxonómicas y medidas biométricas, en análisis intraespecíficos [74] y en comparaciones entre especies realizadas al describir especies nuevas [75] [76]. También se ha utilizado la morfometría geométrica para estudiar dimorfismo sexual en la forma de la zona dorsal del propodio [48]. Se ha estudiado la variación interespecífica de forma en la quela mayor y menor en otros crustáceos [43] [44], pero no se encontraron estudios interespecíficos de este tipo en *Aegla*. Las variaciones de forma de estos caracteres están influenciadas por diferentes factores asociados al ambiente, los cuales provocan respuestas plásticas, variaciones alométricas o diferencias ontogenéticas [77] [78] entre otras.

En el presente capítulo se pretende estudiar la variación interespecífica de forma, en diferentes caracteres morfológicos, de especies del género *Aegla* de Argentina. Se utilizará morfometría geométrica para analizar las variaciones interespecíficas en la forma y tamaño del rostro y evaluar estadísticamente como son esas diferencias entre las especies de rostro tipo “Atlántico” y rostro tipo “Pacífico” caracterizados por Schmitt [25]. Además, se analizarán las variaciones de forma y tamaño interespecíficas en propodios, dactilos y mandíbulas evaluando si la diferenciación entre grupos propuesta para la forma del rostro se corresponde también con estos caracteres.

Materiales y métodos

Recolección de datos

Se utilizaron ejemplares colectados durante diferentes campañas por integrantes del Laboratorio de Macrocrustáceos del INALI, los especímenes fueron conservados en alcohol 70% y depositados en la colección del Laboratorio de Macrocrustáceos del INALI. Se seleccionaron 210 especímenes adultos de 8 especies del género *Aegla*: *A. affinis* (30), *A. jujuyana* (15), *A. scamosa* (30), *A. riolimayana* (30), *A. neuquensis* (24),

A. platensis (21), *A. uruguayana* (30), *A. singularis* (30) (Tabla 2.1 – Figura 2.2). Se utilizaron individuos adultos, e igual número de especímenes hembras y machos. Las mandíbulas (derecha e izquierda) y los quelípedos (derecho e izquierdo) de cada espécimen fueron diseccionados, almacenados en tubos eppendorf rotulados y conservados en alcohol al 70%. Se descartaron las muestras que presentaban lesiones, apéndices rotos o de individuos recientemente mudados. Se tomaron fotografías de ambos quelípedos y ambas mandíbulas siguiendo el protocolo utilizado en el Capítulo 1. Se utilizaron fotografías previas de cefalotórax realizadas por un integrante del Laboratorio de Macrocrustaceos del INALI (Dra. Georgina Tumini). Se utilizaron los programas tpsUtil versión 1.78 y tpsDig2 versión 2.31 [9] para la creación de los archivos TPS y la colocación de landmarks. Se utilizaron las configuraciones de landmarks propuestas en el capítulo 1 para los dácilos (Tabla 2.2 – Figura 2.3) y para las mandíbulas (Tabla 2.4 – Figura 2.4). En el caso de los propodios se decidió añadir un landmark extra a la configuración utilizada en el capítulo 1 colocado en la base interna de la articulación carpo-propodio, para poder representar de una mejor manera la cresta palmar ya que es una característica que varía entre especies de *Aegla* [79]. Se propuso una configuración de 12 LM para representar la forma del rostro (Tabla 2.4 – Figura 2.5).

Tabla 2.1 – Sitios de muestreo de los especímenes de *Aegla* en estudio.

Especies del grupo Atlántico			
Especie	Lugar de muestreo	Coordenadas	
<i>A. platensis</i>	Arroyo Panambí, Misiones	27° 74' S	54° 99' O
<i>A. singularis</i>	Arroyo Isabel, Misiones	27° 51' S	55° 45' O
	Arroyo Liso, Misiones	27° 67' S	55° 45' O
	Arroyo Ñacanguazu, Misiones	27° 12' S	55° 37' O
<i>A. uruguayana</i>	Arroyo Doll, Entre Ríos	32° 18' S	60° 25' O
	Arroyo Urquiza, Entre Ríos	32° 20' S	58° 15' O
	Río Areco, Buenos Aires	34° 14' S	59° 28' O
	Río Tercero, Córdoba	32° 10' S	64° 22' O
Especies del grupo Pacífico			
Especie	Lugar de muestreo	Coordenadas	
<i>A. affinis</i>	Arroyo Muntrenquel, Mendoza	36° 11' S	69° 47' O
	Laguna Niña Encantada, Mendoza	35° 09' S	69° 52' O
	Laguna Blanca, Mendoza	36° 30' S	69° 51' O
<i>A. jujuyana</i>	Río Grande, Jujuy	23° 48' S	65° 28' O
	Río San Lorenzo, Salta	24° 43' S	65° 30' O
	Río Yala, Jujuy	24° 7' S	65° 26' O
<i>A. neuquensis</i>	Arroyo Telsen, Chubut	42° 20' S	67° 01' O
	Laguna Epulafquen, Neuquén	36° 49' S	71° 04' O
	Río Chimehuin, Neuquén	39° 55' S	71° 04' O
	Río Conhuco, Neuquén	38° 47' S	70° 11' O
	Arroyo Telsen, Chubut	42° 28' S	67° 23' O
<i>A. riolimayana</i>	Arroyo Grande, Neuquén	40° 10' S	71° 26' O
	Laguna Traful, Neuquén	40° 39' S	71° 23' O
	Río Pil Pil, Neuquén	40° 12' S	71° 22' O
<i>A. scamosa</i>	Aguas Negras, San Juan	30° 30' S	68° 72' O
	Arroyo Iglesias, San Juan	30° 51' S	69° 30' O
	Arroyo Uspallata, Mendoza	32° 59' S	69° 35' O
	Arroyo Yaucha, Mendoza	34° 19' S	69° 18' O
	Arroyo, San Luis	33° 24' S	66° 24' O
	Río de los Patos, San Juan	31° 68' S	69° 48' O

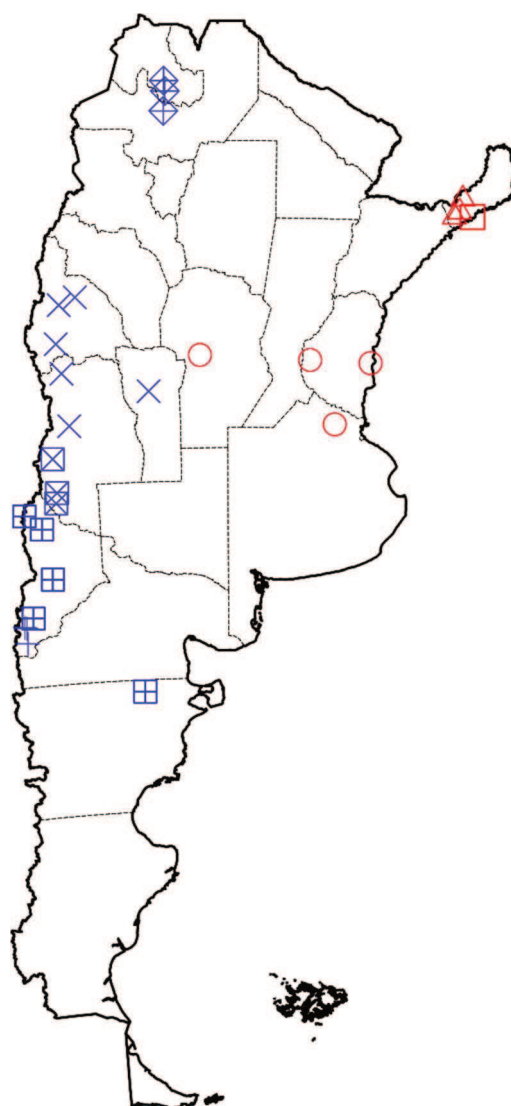


Figura 2.2 – Sitios de muestreo donde se obtuvieron los especímenes *Aegla* analizados en el presente trabajo. Cada forma representa una especie: *A. affinis* (cuadrado con una equis), *A. jujuyana* (diamante con una cruz), *A. neuquensis* (cuadrado con una cruz), *A. platensis* (cuadrado), *A. riolimayana* (cruz), *A. scamosa* (equis), *A. singularis* (triangulo), *A. uruguayana* (circulo). Los colores de los puntos se corresponden con el grupo al cual pertenece la especie: azul para especies del grupo “Pacífico” y rojo para especies del grupo “Atlántico”.

Tabla 2.2 – Descripción de las configuraciones de LM seleccionados en las quelas.

Estructura	Dactilo	Propodio
Punta del dactilo	1	-
Diente lobular del dactilo	2-3-4	-
Inserción del dactilo en el propodio	5	1
Punta distal de la base de la cresta palmar	-	2
Punta proximal de la base de la cresta palmar	-	3
Base interna de la articulación carpo-propodio	-	4
Base externa de la articulación carpo-propodio	-	5
Base del propodio	-	6
Punta del propodio	-	7
Diente lobular del propodio	-	8-9-10

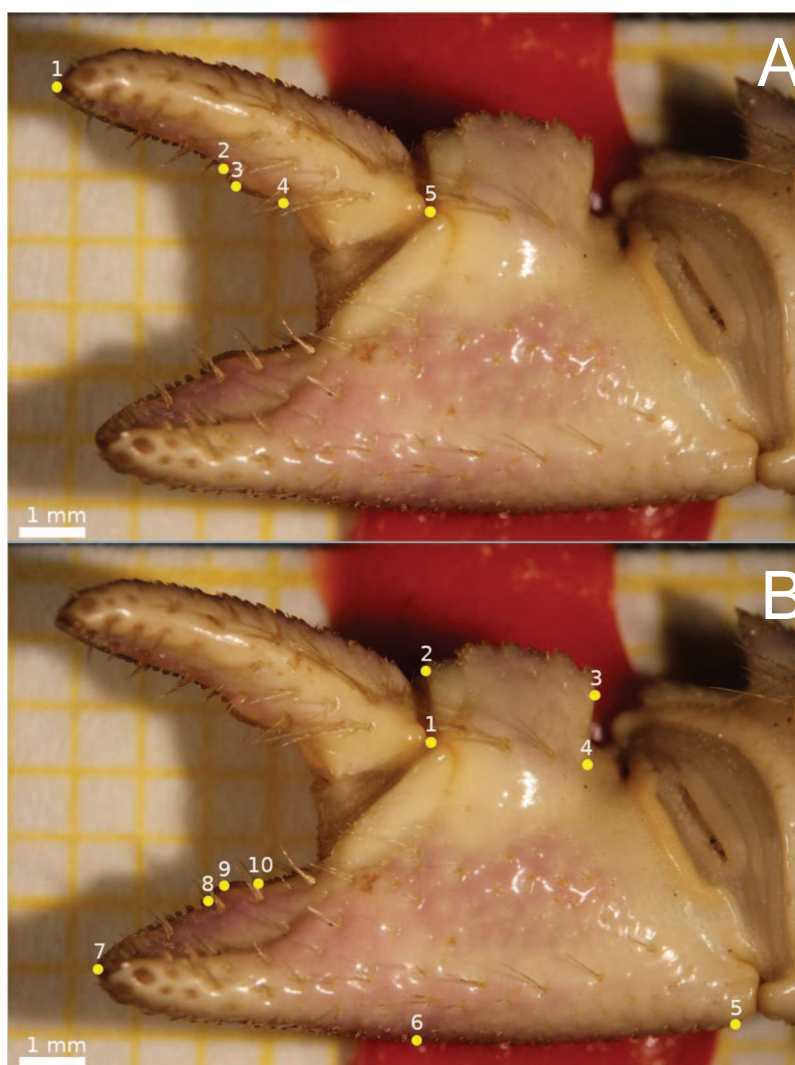


Figura 2.3 – Configuración de LM utilizada para el análisis de forma y tamaño de las quelas. A, configuración del dactilo; B, configuración del propodio.

Tabla 2.3 – Descripción de las configuraciones de LM seleccionados en las mandíbulas.

Estructura	Mandíbula izquierda	Mandíbula derecha
Diente anterior pequeño	1	1
Primer y Segundo diente medio	2-3-4-5-6	-
Cavidad posterior	7-8-9	5-6-7
Primer diente medio	-	2-3-4
Proceso molar	10	8
Región convexa	11	9

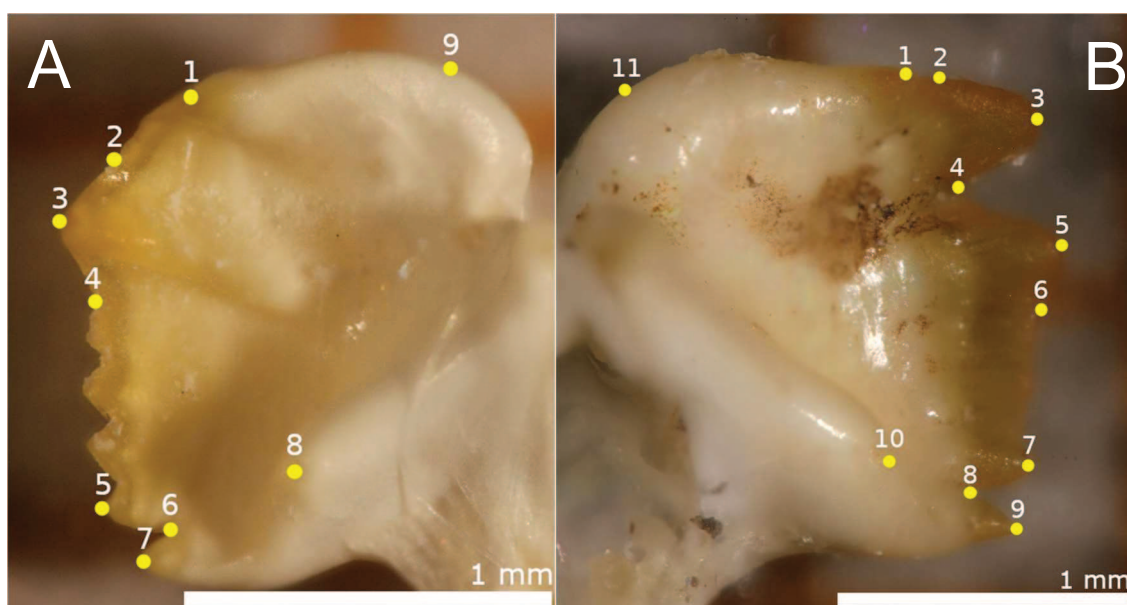


Figura 2.4 – Configuración de LM utilizada para el análisis de forma y tamaño de las mandíbulas. A, mandíbula derecha; B, mandíbula izquierda.

Tabla 2.4 – Descripción de las configuraciones de LM seleccionados en el rostro.

Estructura	LM Rostro
Punta del rostro	1
Seno orbital	2 - 12
Punta de la espina anterolateral	3 - 11
Unión entre el primer y segundo lóbulo hepático	4 - 10
Unión entre el tercer lóbulo hepático y el diente epibranchial	5 - 9
Surco cervical	6 - 8
Vértice centro-anterior de la aureola	7

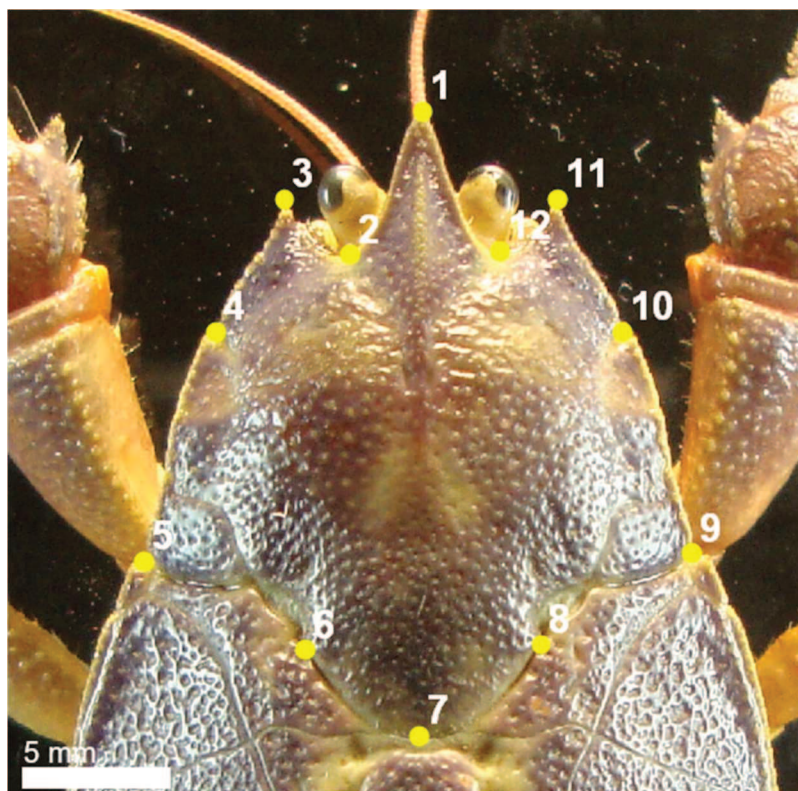


Figura 2.5 – Configuración de LM utilizada para el análisis de forma y tamaño del rostro.

Se calcularon los errores de fotografía y colocación de landmarks siguiendo el protocolo utilizado en el Capítulo 1. Los resultados mostraron que todos los errores son despreciables.

Análisis de datos

Las siete configuraciones obtenidas correspondientes a cada estructura fueron clasificadas según su especie y fueron alineadas utilizando el método de ajuste de Procrustes [7]. Debido a que la configuración de landmark utilizada para el rostro posee simetría objeto, la forma del mismo puede dividirse en una componente simétrica y otra asimétrica [80] [81]. En este trabajo se analizó solo la componente simétrica de la configuración de landmark que representa el rostro. A partir del ajuste de Procrustes se obtuvieron las configuraciones de landmark alineadas (sin los efectos de escala, rotación y posición) y el tamaño de centroide de cada configuración. Se utilizó el logaritmo de tamaño de centroide como una medida estimada del tamaño de cada estructura. Se exploraron las variaciones de forma mediante análisis de componentes principales (PCA) en cada estructura para explorar la presencia de patrones de variación de forma y tamaño (en el sentido de alometría) entre los especímenes utilizando a posteriori una visualización discriminada por especie y grupo geográfico. Se utilizaron

elipses de confianza (90%) para representar la variación de forma de cada especie y grupo. Las variaciones de forma, considerando los extremos de los ejes de las componentes principales respecto de la configuración consenso fueron representados por grillas de deformación, facilitando la visualización e identificación de las regiones variables de las configuraciones de landmarks estudiadas. Se cuantificaron las diferencias de las formas medias entre especies, utilizando análisis de variación canónica (CVA); y entre grupos, utilizando análisis discriminante (DFA) y validación cruzada. Se utilizó un análisis de clustering de las formas medias por especie de cada estructura para determinar si las similitudes de forma entre especies se corresponden con la hipótesis de grupo geográfico propuesta. El análisis de clustering es un método de análisis no supervisado que consiste en un conjunto de algoritmos que tienen como objetivo organizar un conjunto de datos en subgrupos o “clusters” homogéneos, utilizando como medida de diferenciación características propias de los datos y no hipótesis de agrupamiento a priori como las utilizadas en análisis supervisados como CVA y DFA [82]. En este caso se utilizará el método de Clustering Jerárquico Aglomerativo el cual consiste en suponer que cada punto individual es un cluster en sí mismo, luego se relaciona aquellos clusters que se encuentren más cercanos, utilizando como referencia, de distancia entre clusters, la distancia Euclidiana promedio. Como resultado de este análisis se obtiene un fenograma donde se observan las relaciones respecto de la forma entre las unidades en estudio. Estos agrupamientos no serán evaluados estadísticamente y solo serán utilizados para explorar las relaciones interespecíficas de forma [83]. La regresión multivariada, análisis de componentes principales, las grillas de deformación, y los gráficos de los resultados fueron realizados mediante un script de R. Se utilizó el programa MorphoJ versión 1.07a [8] para llevar a cabo los análisis canónicos (CVA) y discriminantes (DFA). El análisis de clustering se llevó a cabo utilizando la función *hclust()* del paquete “stats”. El fenograma resultante del análisis de clustering fue graficado con FigTree versión 1.4.4 [84]. Se utilizó la prueba T de Welch y la prueba de Krukall Wallis para evaluar si existen diferencias estadísticamente significativas de tamaño entre grupos y entre especies respectivamente.

Resultados

Rostro

Analizando los datos de forma de la componente simétrica del rostro se observa una separación de los especímenes que se corresponde con las especies pertenecientes al grupo “Pacífico” (*A. affinis*, *A. jujuyana*, *A. neuquensis*, *A. riolimayana* y *A. scamosa*) y las especies del grupo “Atlántico” (*A. platensis*, *A. singularis* y *A. uruguayana*) (PC1 explica el 62,84% de la variación de forma) (Figura 2.6 – Figura 2.7). La variación de forma del rostro en la componente principal 1 está asociada a cambios en el largo del rostro y las espinas anterolaterales. Las configuraciones ubicadas en el lado negativo del eje presentan una punta de rostro corta (LM 1-2-12), espinas anterolaterales cortas y direccionadas hacia la punta del rostro (LM 3-11), mayor largo del surco cervical (LM 6-8) respecto de las configuraciones ubicadas en el lado positivo del eje, las cuales presentan una punta de rostro más larga (LM 1-2-12), espinas anterolaterales largas y prominentes, direccionadas hacia afuera (LM 3-11), y un surco cervical más pequeño (LM 6-8) (Figura 2.8). La mayoría de los individuos presentan patrones de variación intraespecíficos similares sobre la componente principal 2 (PC2 explica el 14,32% de la variación de forma), siendo correspondiente con el ancho del rostro (Figura 2.9).

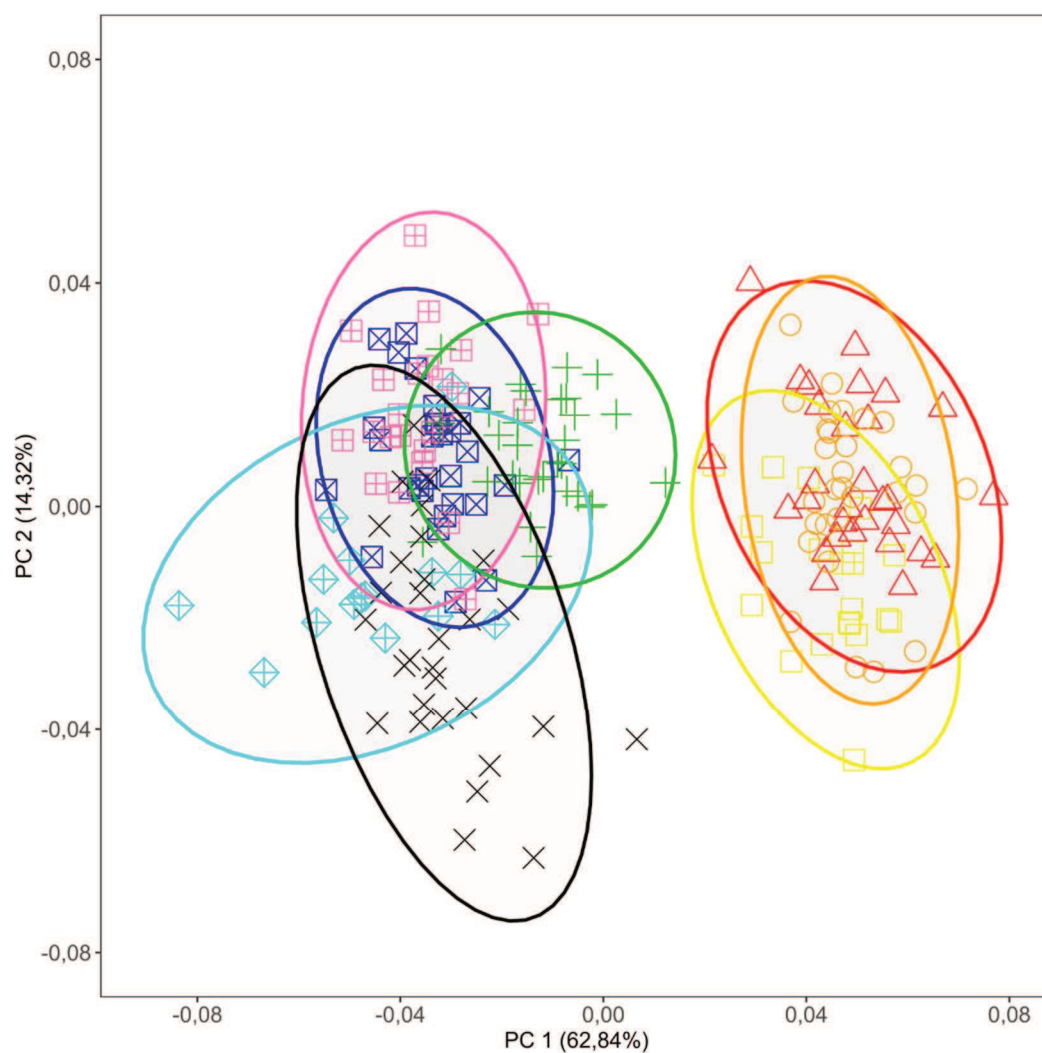


Figura 2.6 – Análisis de componentes principales sobre la forma del rostro de los especímenes de *Aegla* en estudio. *A. affinis* (azul), *A. jujuyana* (celeste), *A. neuquensis* (rosa), *A. platensis* (amarillo), *A. riolimayana* (verde), *A. scamosa* (negro), *A. singularis* (rojo) y *A. uruguayana* (naranja). Elipses de confianza al 90%.

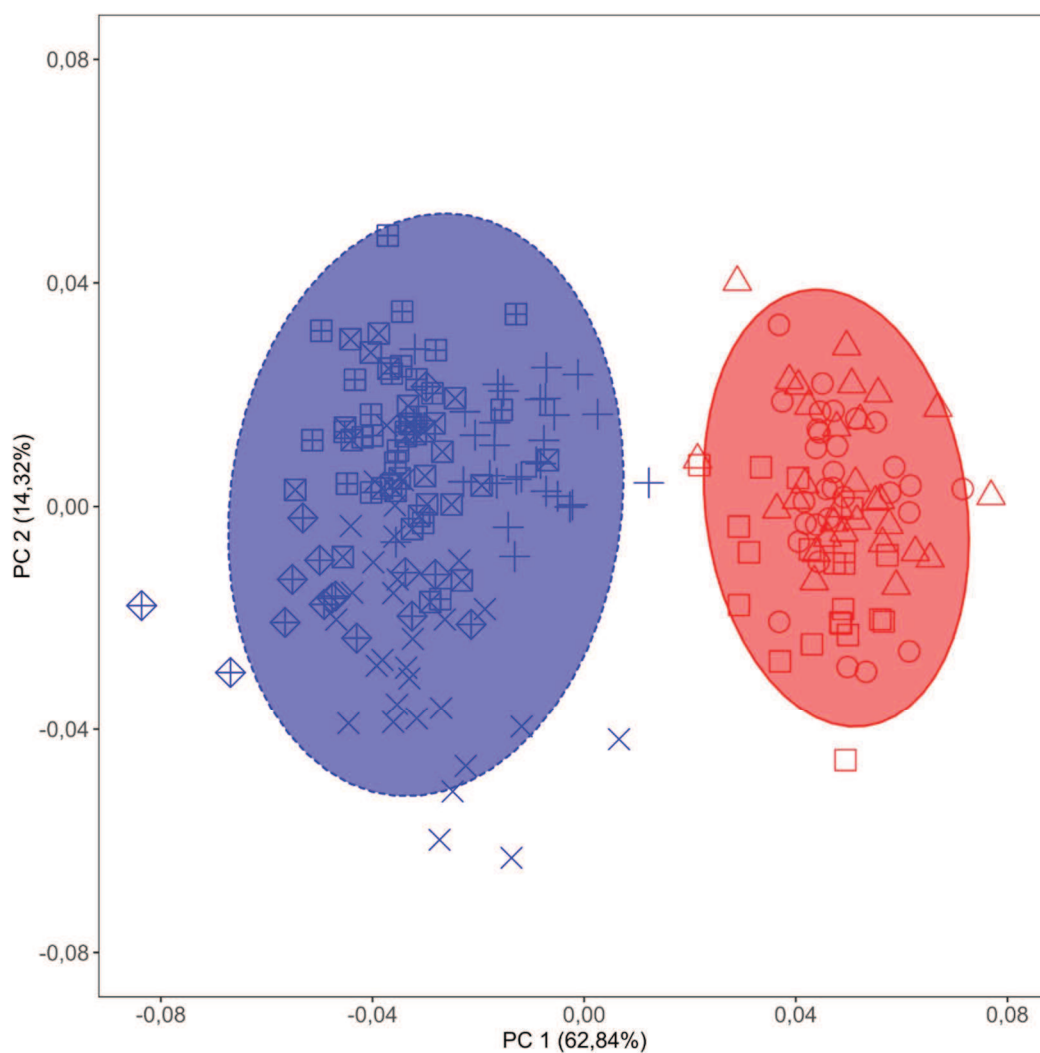
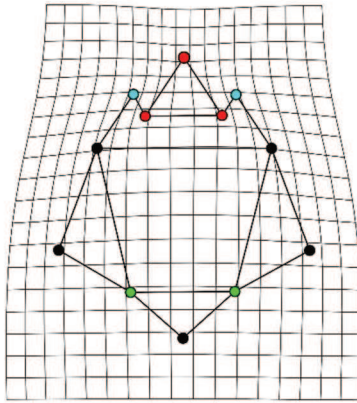


Figura 2.7 – Análisis de componentes principales representando la forma del rostro de los especímenes de *Aegla* en estudio discriminados por grupo. Cada forma representa una especie: *A. affinis* (cuadrado con una equis), *A. jujuyana* (diamante con una cruz), *A. neuquensis* (cuadrado con una cruz), *A. platensis* (cuadrado), *A. riolimayana* (cruz), *A. scamosa* (equis), *A. singularis* (triángulo), *A. uruguayana* (círculo). Elipses de confianza al 90%. Los colores de los puntos y las elipses se corresponden con el grupo al cual pertenece las especies: azul para especies del grupo “Pacífico” y rojo para especies del grupo “Atlántico”.

A



B

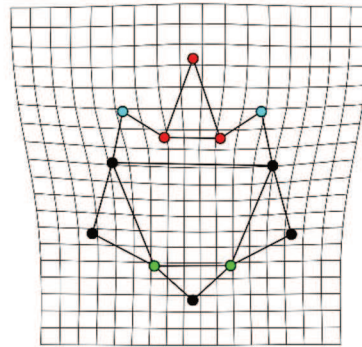
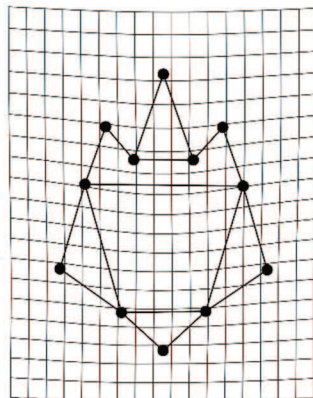


Figura 2.8 – Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 1 del rostro (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los puntos rojos se corresponden con la punta y a la base del rostro (LM 1-2-12), los puntos celestes con las espinas anterolaterales (LM 3-11), y los verdes con el surco cervical (LM 6-8).

A



B

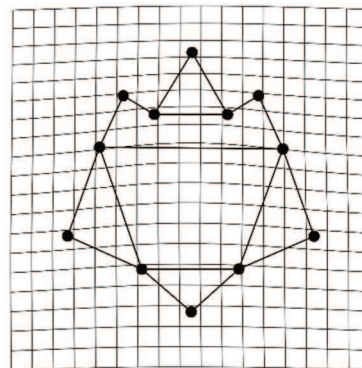


Figura 2.9 – Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 2 del rostro (A, extremo negativo; B, extremo positivo).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la forma del rostro entre las especies (CVA, comparaciones por pares) (Tabla 2.5) y entre grupos (Tabla 2.6). La prueba de validación cruzada resultó en una clasificación de la forma media del rostro por especie en su correspondiente grupo con una exactitud del 100% (Tabla 2.6).

Tabla 2.5 – Comparación de a pares obtenidos del análisis de CVA. Valor *p* correspondientes a los datos de forma del rostro discriminados por especie.

	<i>A. affinis</i>	<i>A. jujuyana</i>	<i>A. neuquensis</i>	<i>A. platensis</i>	<i>A. riolimayana</i>	<i>A. scamosa</i>	<i>A. singularis</i>
<i>A. jujuyana</i>	< 0,0001						
<i>A. neuquensis</i>	< 0,0001	< 0,0001					
<i>A. platensis</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001				
<i>A. riolimayana</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001			
<i>A. scamosa</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001		
<i>A. singularis</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	
<i>A. uruguayana</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

Tabla 2.6 – Resultados de DFA entre grupos correspondiente a los datos de forma del rostro.

Valor <i>p</i>	Clasificación correcta grupo “Atlántico”	Clasificación correcta grupo “Pacífico”	Clasificación correcta Total
< 0,0001	100%	100%	100%

El análisis de clustering presenta resultados similares a los obtenidos con los métodos de análisis supervisados. En el fenograma se puede observar que se forman 2 clusters correspondientes a los grupos “Atlántico” y “Pacífico”. Además, se distingue una separación dentro del cluster “Pacífico” entre grupos de especies, por un lado, *A. scamosa* y *A. jujuyana*, y por otro *A. affinis*, *A. neuquensis* y *A. riolimayana* (Figura 2.10).

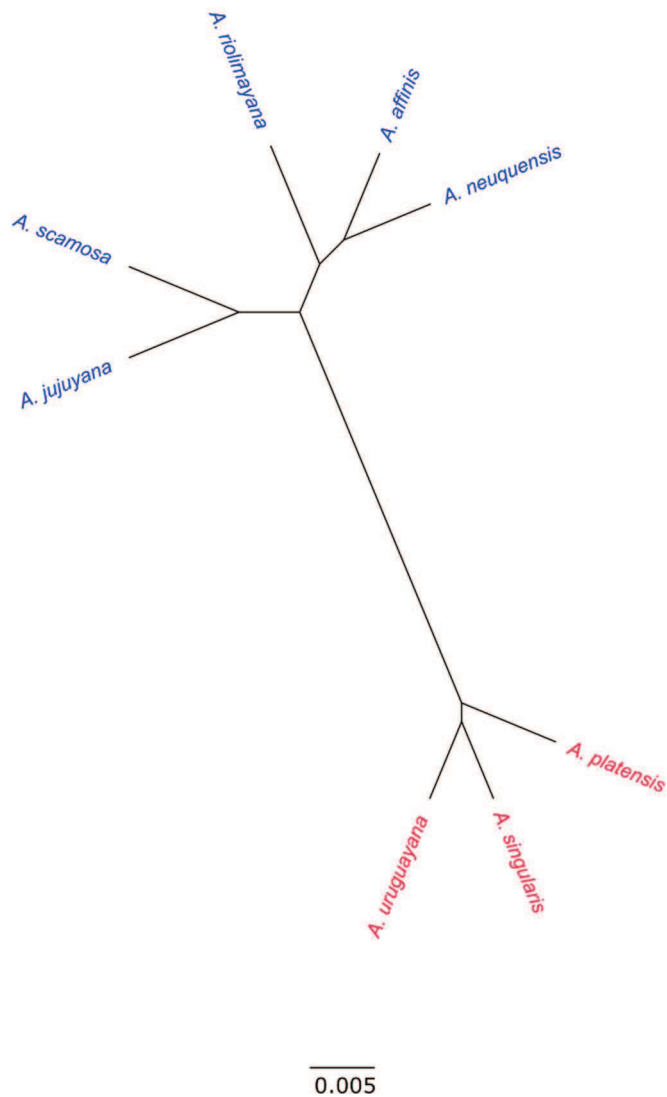


Figura 2.10– Fenograma generado por el análisis de clustering jerárquico no supervisado utilizando las formas consensos del rostro para cada especie. Las especies coloreadas en azul corresponden al grupo “Pacífico” y las coloreadas en rojo al grupo “Atlántico”.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tamaño del rostro entre las especies en estudio (Chi cuadrado = 89,28; $p < 0,001$) siendo los individuos de *A. scamosa*, *A. neuquensis*, y *A. affinis* los de mayor tamaño de rostro (Tabla 2.7, Figura 2.11 A). Se encontraron diferencias de tamaño estadísticamente significativas entre grupos ($t = -9,40$; $p < 0,001$), siendo las especies del grupo “Pacífico” las de mayor tamaño (Tabla 2.8, Figura 2.11 B).

Tabla 2.7 – Prueba de Kruskal-Wallis para tamaños de centroide del rostro discriminados por especie.

	Grupos KW	Log(cs)	Rango de medias	SD	N
<i>A. scamosa</i>	a	3,3672	168,9667	0,2178	30
<i>A. neuquensis</i>	a	3,2178	140,6667	0,2188	24
<i>A. affinis</i>	a	3,1962	138,6667	0,1931	30
<i>A. riolimayana</i>	b	3,0318	96,6333	0,2394	30
<i>A. jujuyana</i>	bc	2,9915	87,4667	0,1965	15
<i>A. platensis</i>	bc	2,9557	77,7619	0,1969	21
<i>A. uruguayana</i>	bc	2,9341	73,3000	0,1541	30
<i>A. singularis</i>	c	2,8533	50,2333	0,1316	30
Valor <i>p</i>	2,22E-16				
Chi cuadrado	89,2765				
Gl	7				

Tabla 2.8 – Prueba T para tamaños de centroide del rostro discriminados por grupo.

Valor <i>p</i>	Media Log(cs) “Atlántico”	Media Log(cs) “Pacífico”	t	Gl
2,20E-16	2,91 ± 0,1630	3,18 ± 0,2507	-9,3928	207,73

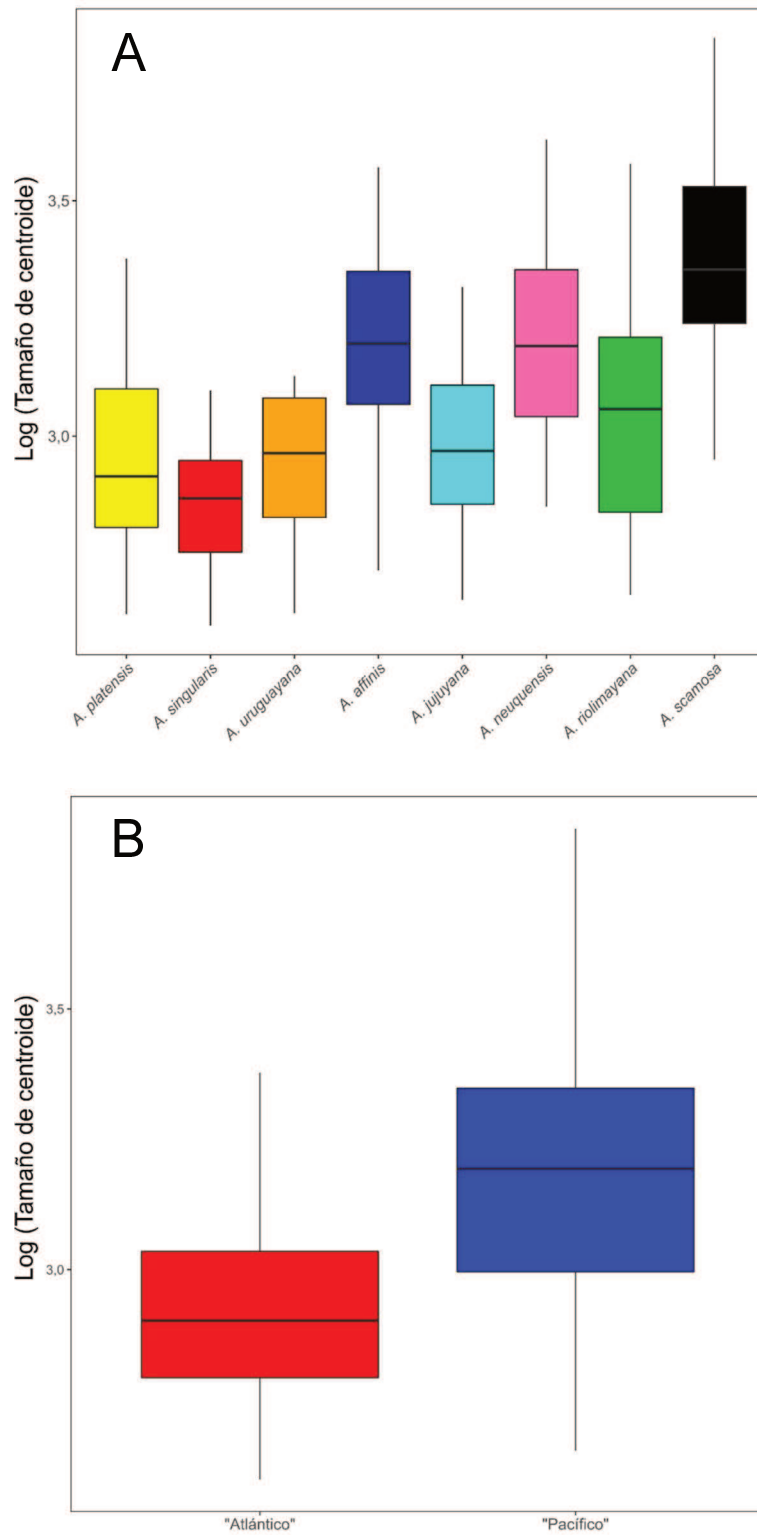


Figura 2.11– Gráfico de cajas correspondientes a los tamaños de centroide del rostro. A, discriminados por especie; B, discriminados por grupo “Atlántico” y “Pacífico”.

Propodios

La forma del propodio derecho muestra diferentes patrones de variación entre especies (Figura 2.12) y entre grupos (Figura 2.13). La variación de forma de los propodios de los especímenes del grupo “Atlántico” presenta mayor variación en la componente principal 1 y 2 respecto de los especímenes del grupo “Pacífico”. La variación de forma observada en la componente principal 1 (PC1: 30,52%) se corresponde con el alto y largo de la palma (LM: 1-4-5-6) y del dedo fijo (LM: 1-6-7-8-9). Los especímenes cuya variación de forma se ubican en el lado negativo del PC1 presentan propodios más robustos y cortos, mientras que los ubicados en el lado positivo del PC1 son más estilizados y largos (Figura 2.14). La variación de forma presente en la componente principal 2 (PC2: 21,06%) se corresponde con cambios en la posición y orientación del diente lobular del propodio (LM: 7-8-9). Los propodios de los especímenes ubicados en el lado negativo del PC2 poseen un diente lobular prominente alejado de la punta del dedo fijo, mientras que los especímenes ubicados en el lado positivo poseen un diente más plano ubicado cerca de la punta del dedo fijo (Figura 2.15).

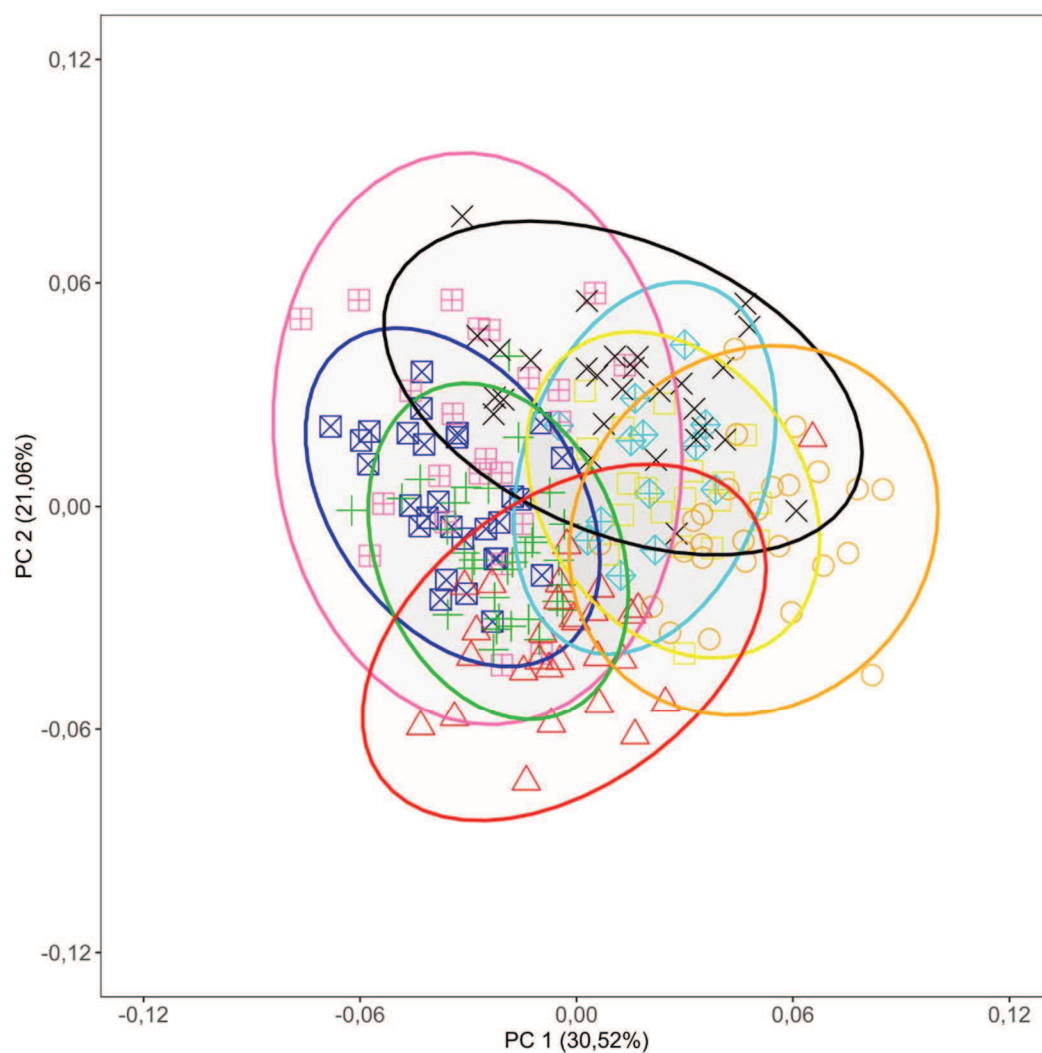


Figura 2.12 – Análisis de componentes principales sobre la forma del propodio derecho de los especímenes de *Aegla* en estudio. *A. affinis* (azul), *A. jujuyana* (celeste), *A. neuquensis* (rosa), *A. platensis* (amarillo), *A. riolimayana* (verde), *A. scamosa* (negro), *A. singularis* (rojo) y *A. uruguayana* (naranja). Elipses de confianza al 90%.

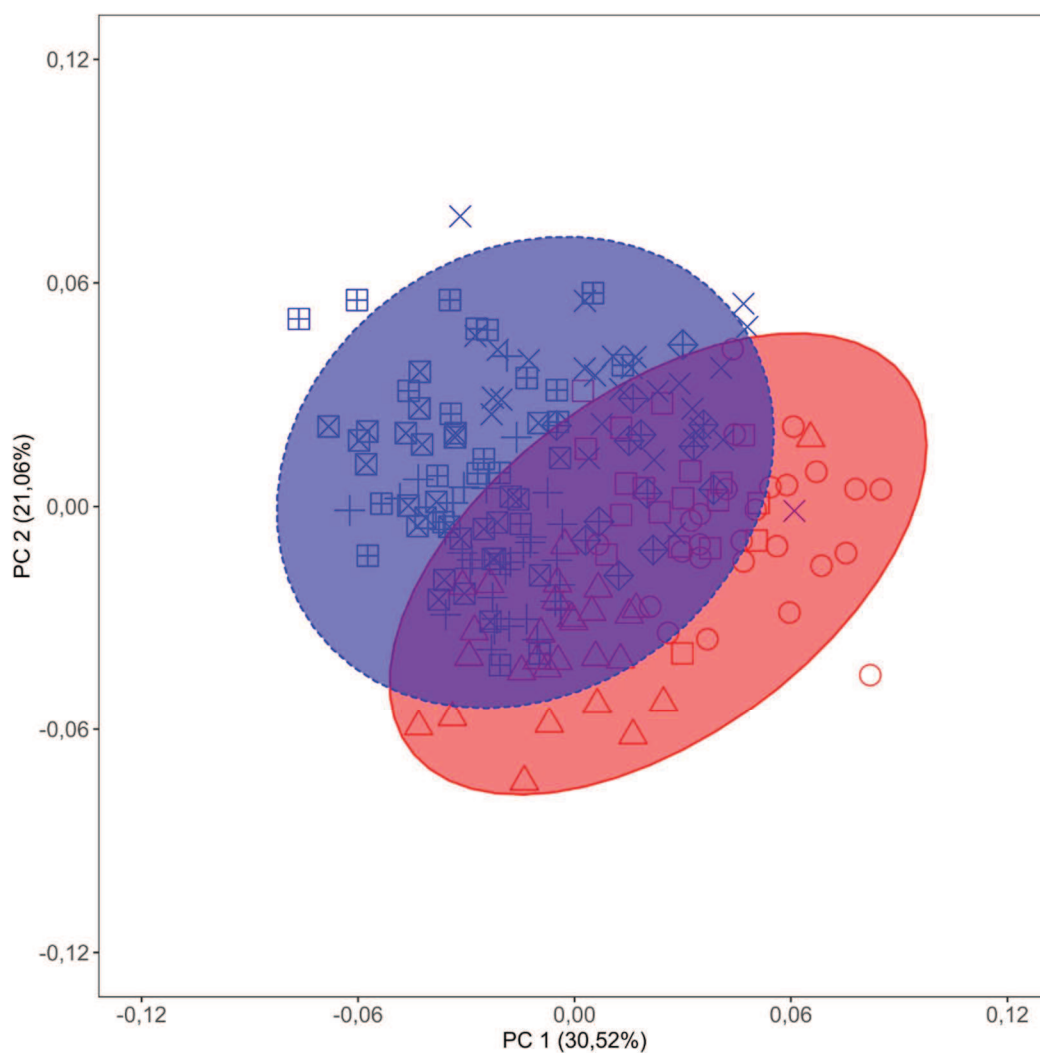
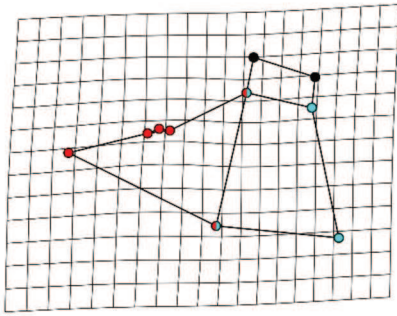


Figura 2.13 – Análisis de componentes principales sobre la forma del propodio derecho de los especímenes de *Aegla* en estudio discriminados por grupo. Cada forma representa una especie: *A. affinis* (cuadrado con una equis), *A. jujuyana* (diamante con una cruz), *A. neuquensis* (cuadrado con una cruz), *A. platensis* (cuadrado), *A. riolimayana* (cruz), *A. scamosa* (equis), *A. singularis* (triángulo), *A. uruguayana* (círculo). Elipses de confianza al 90%. Los colores de los puntos y las elipses se corresponden con el grupo al cual pertenece las especies: azul para especies del grupo “Pacífico” y rojo para especies del grupo “Atlántico”.

A



B

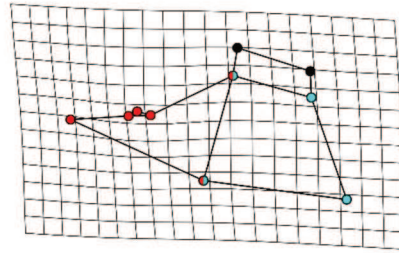
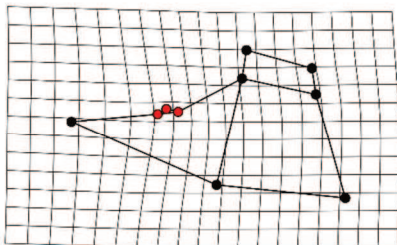


Figura 2.14 – Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 1 del propodio derecho (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los landmarks representados con puntos rojos se corresponden con el dedo fijo (LM 1-6-7-8-9-10) y los puntos celestes se corresponden con la palma (LM 1-4-5-6). Los puntos coloreados con ambos colores se corresponden con landmarks compartidos.

A



B

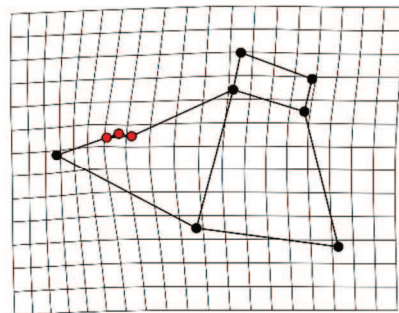


Figura 2.15 – Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 1 del propodio derecho (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los landmarks representados con puntos rojos se corresponden con el diente lobular (LM 8-9-10).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la forma del propodio derecho entre especies (Tabla 2.9) (CVA, comparaciones por pares) y entre grupos (Tabla 2.10). La prueba de validación cruzada resultó en una clasificación de la forma media de los propodios por especie en su correspondiente grupo mayor al 90% de exactitud (Tabla 2.10).

Tabla 2.9 - Comparación de a pares obtenidos del análisis de CVA. Valor *p* correspondientes a los datos de forma del propodio derecho discriminados por especie.

	<i>A. affinis</i>	<i>A. jujuyana</i>	<i>A. neuquensis</i>	<i>A. platensis</i>	<i>A. riolimayana</i>	<i>A. scamosa</i>	<i>A. singularis</i>
<i>A. jujuyana</i>	< 0,0001						
<i>A. neuquensis</i>	< 0,0001	< 0,0001					
<i>A. platensis</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001				
<i>A. riolimayana</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001			
<i>A. scamosa</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001		
<i>A. singularis</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	
<i>A. uruguayana</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

Tabla 2.10 – Resultados de DFA entre grupos correspondiente a los datos de forma del propodio derecho.

Valor <i>p</i>	Clasificación correcta grupo “Atlántico”	Clasificación correcta grupo “Pacífico”	Clasificación correcta Total
< 0,0001	94,52%	91,94%	92,89%

En el fenograma generado en el análisis de clustering de las formas medias de los propodios derecho de cada especie se observa que las relaciones de forma entre especies no se corresponden con la hipótesis de grupo propuesta (Figura 2.16).

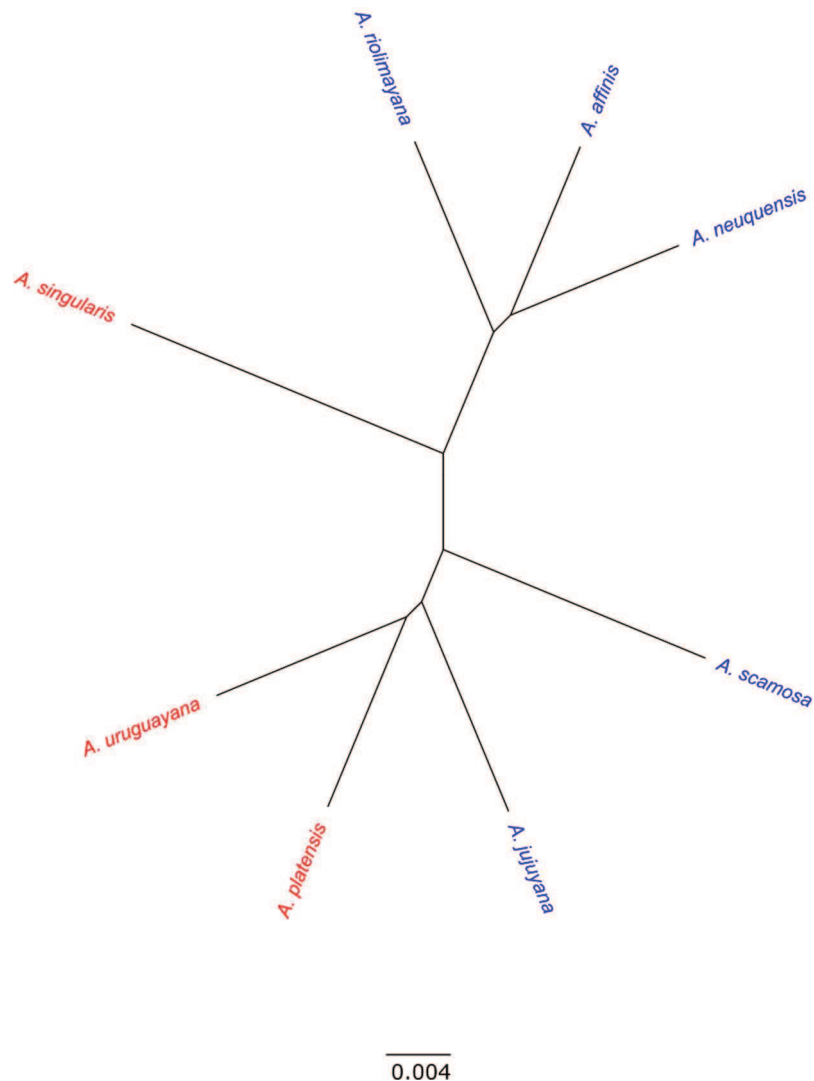


Figura 2.16 – Fenograma generado por el análisis de clustering jerárquico no supervisado utilizando las formas consensos del propodio derecho para cada especie. Las especies coloreadas en azul corresponden al grupo “Pacífico” y las coloreadas en rojo al grupo “Atlántico”.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tamaño del propodio derecho entre las especies en estudio (Chi cuadrado = 54,71; $p < 0,001$) siendo los individuos de *A. scamosa*, *A. neuquensis*, y *A. affinis* los que poseen los propodios derechos de mayor tamaño (Tabla 2.11, Figura 2.17 A). Se encontraron diferencias de tamaño estadísticamente significativas entre grupos ($t = -4,66$; $p < 0,001$), siendo las especies del grupo “Pacífico” las de mayor tamaño (Tabla 2.12, Figura 2.17 B).

Tabla 2.11 – Prueba de Kruskal-Wallis para tamaños de centroide del propodio derecho discriminados por especie.

	Grupos KW	Log(cs)	Ranking de medias	SD	N
<i>A. scamosa</i>	a	2,6667	151,8571	0,2591	28
<i>A. affinis</i>	ab	2,4991	126,6552	0,2038	29
<i>A. neuquensis</i>	abc	2,4965	116,6957	0,3169	24
<i>A. singularis</i>	bcd	2,3264	86,1071	0,2063	28
<i>A. uruguayana</i>	cd	2,2734	78,5000	0,2047	26
<i>A. riolimayana</i>	cd	2,2949	76,8710	0,2975	30
<i>A. platensis</i>	cd	2,2430	69,0000	0,1915	19
<i>A. jujuyana</i>	d	2,2012	57,5385	0,2060	13
Valor <i>p</i>	1,01E-08				
Chi cuadrado	54,7052				
Gl	7				

Tabla 2.12 – Prueba T para tamaños de centroide del propodio derecho discriminados por grupo.

Valor <i>p</i>	Media Log(cs) “Atlántico”	Media Log(cs) “Pacífico”	t	Gl
5,79E-06	2,29 ± 0,2021	2,45 ± 0,3035	-4,6643	191,99

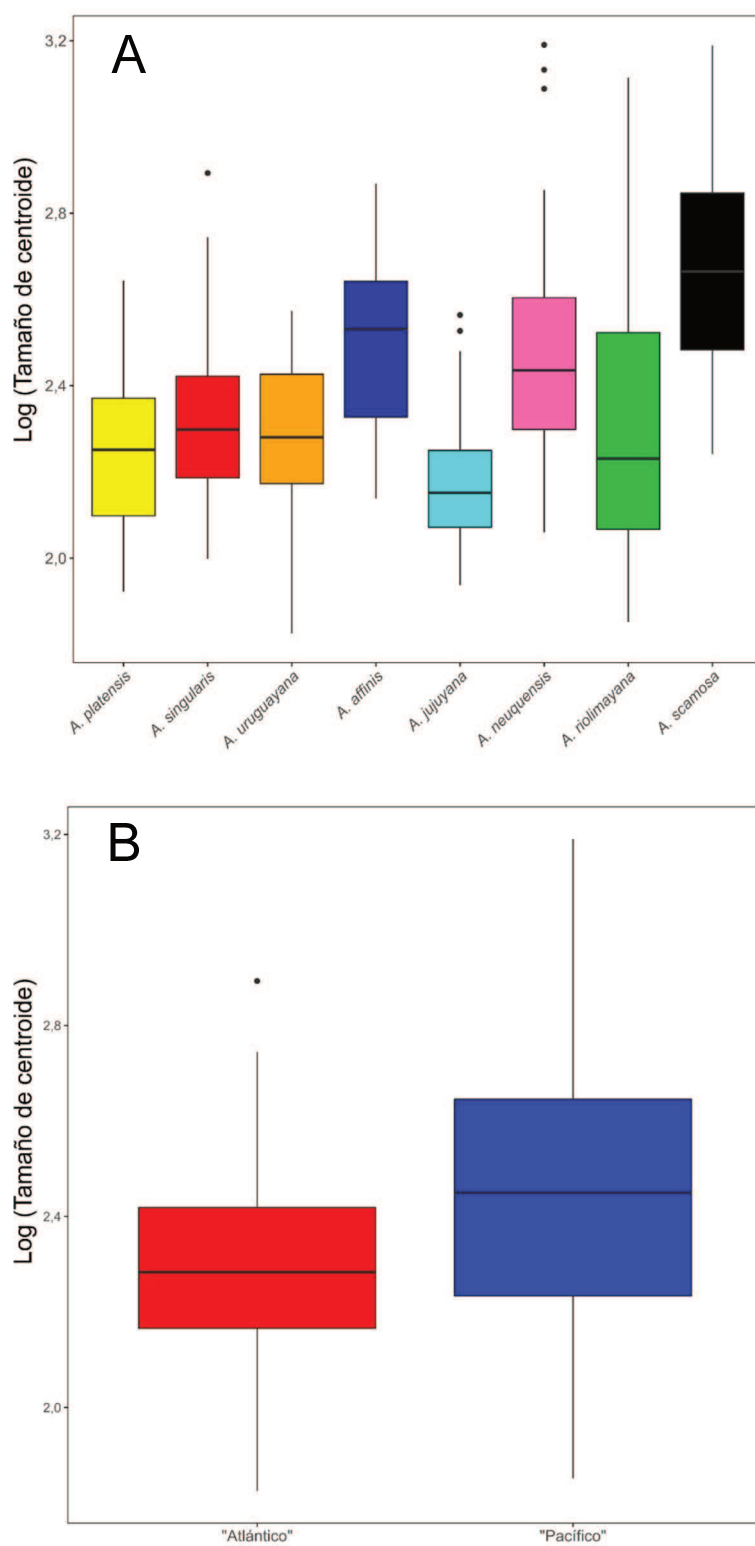


Figura 2.17 – Gráfico de cajas correspondientes a los tamaños de centroide del propodio derecho. A, discriminados por especie; B, discriminados por grupo.

Los datos de forma del propodio izquierdo muestran diferentes patrones de variación de forma entre especies (Figura 2.18) y entre grupos (Figura 2.19). La variación de forma del propodio izquierdo en la componente principal 1 (PC1: 36,25%) se corresponde principalmente a la posición y prominencia del diente lobular del propodio (LM: 7-8-9). Los propodios de los especímenes ubicados en el lado negativo del PC1 tienen un diente más prominente ubicado cerca de la punta del dedo fijo, mientras que los especímenes ubicados en el lado positivo del PC1 poseen un diente lobular aplanado alejado de la punta del dedo fijo (Figura 2.20). En la componente principal 2 (PC2: 25,2%) se observa que la variación de forma se corresponde con el alto y largo de la palma (LM: 1-4-5-6) y del dedo fijo (LM: 1-6-7-8-9). Los especímenes ubicados en el lado negativo del PC2 presentan propodios más robustos y cortos, mientras que los ubicados en el lado positivo son más estilizados y largos (Figura 2.21).

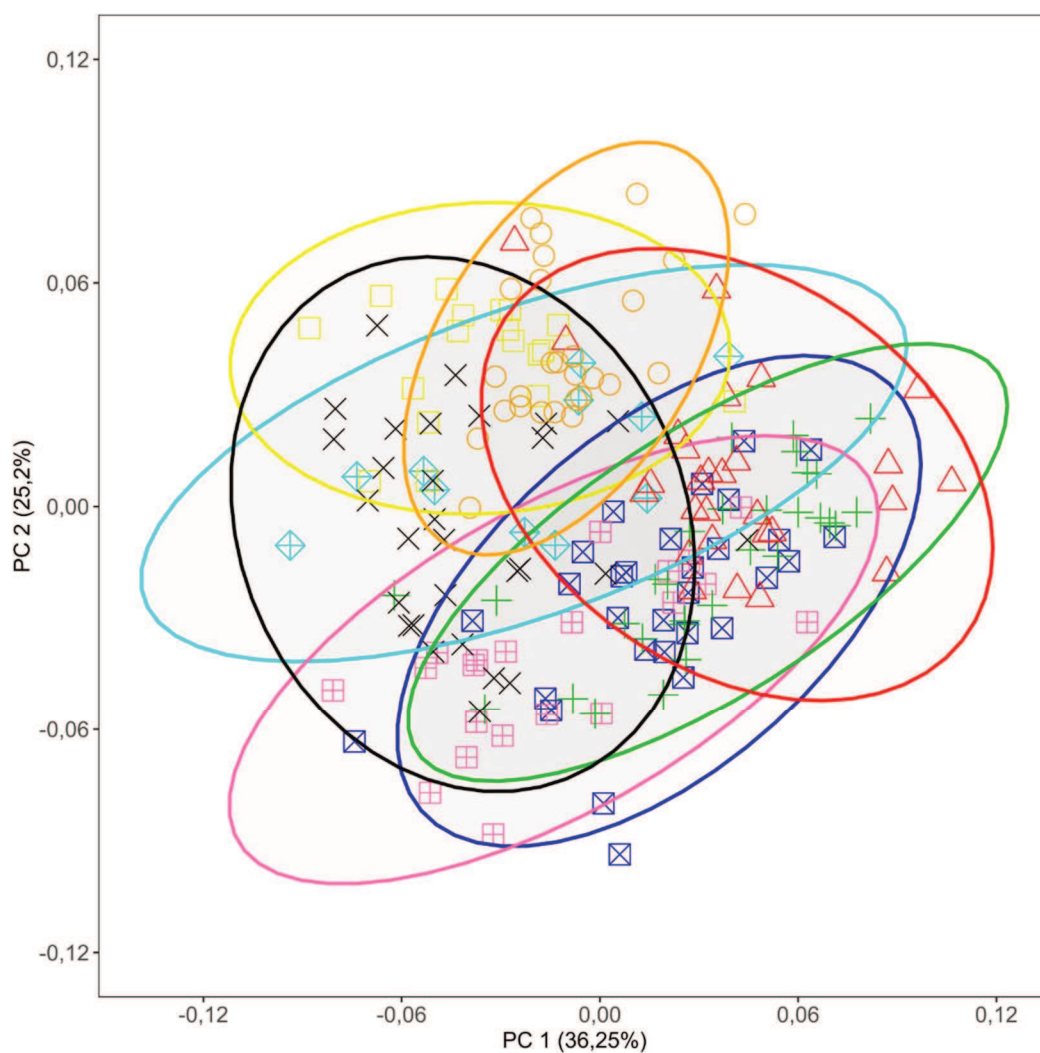


Figura 2.18 – Análisis de componentes principales sobre la forma del propodio izquierdo de los especímenes de *Aegla* en estudio. *A. affinis* (azul), *A. jujuyana* (celeste), *A. neuquensis* (rosa), *A. platensis* (amarillo), *A. riolimayana* (verde), *A. scamosa* (negro), *A. singularis* (rojo) y *A. uruguayana* (naranja). Elipses de confianza al 90%.

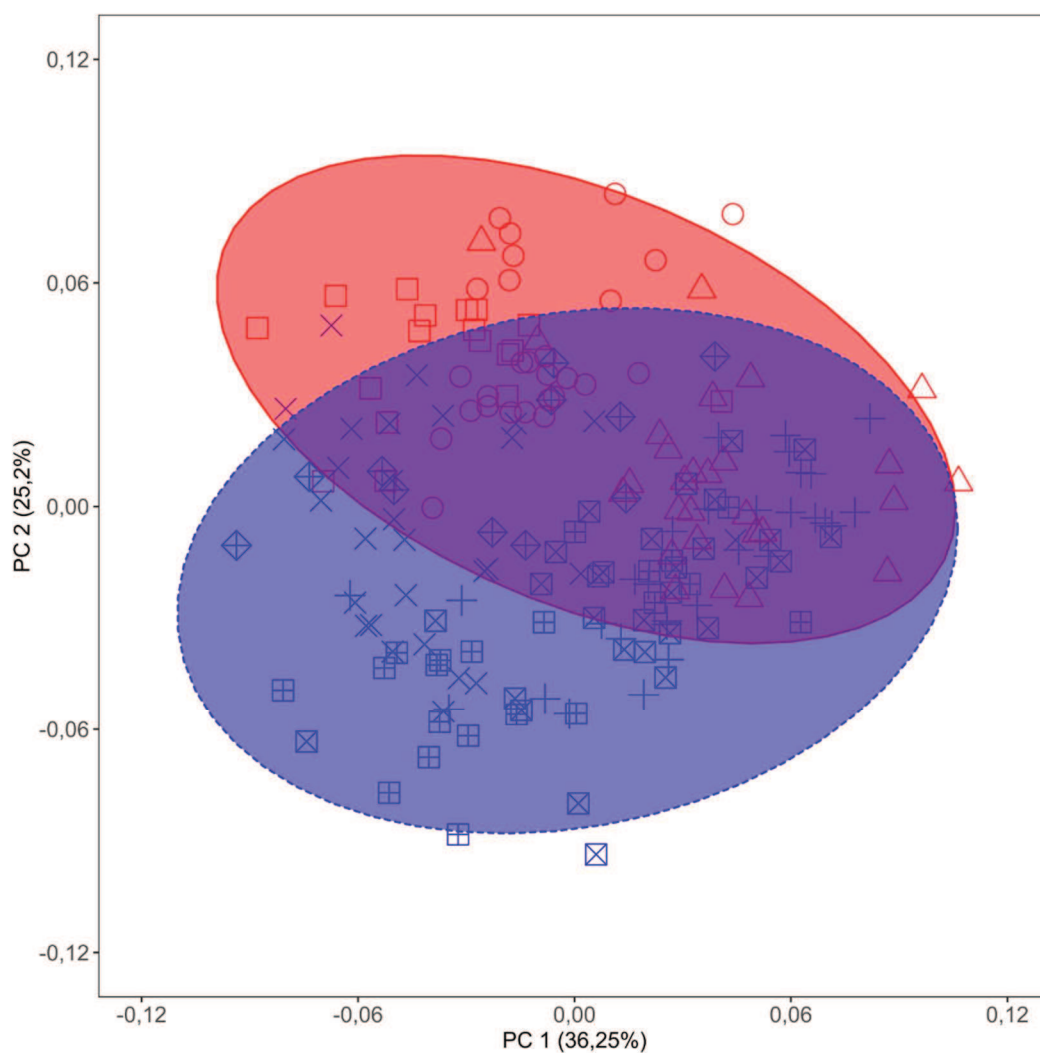


Figura 2.19 – Análisis de componentes principales sobre la forma del propodio izquierdo de los especímenes de *Aegla* en estudio discriminados por grupo. Cada forma representa una especie: *A. affinis* (cuadrado con una equis), *A. jujuyana* (diamante con una cruz), *A. neuquensis* (cuadrado con una cruz), *A. platensis* (cuadrado), *A. riolimayana* (cruz), *A. scamosa* (equis), *A. singularis* (triángulo), *A. uruguayana* (círculo). Elipses de confianza al 90%. Los colores de los puntos y las elipses se corresponden con el grupo al cual pertenece las especies: azul para especies del grupo “Pacífico” y rojo para especies del grupo “Atlántico”.

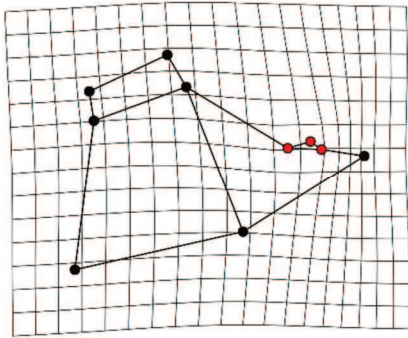
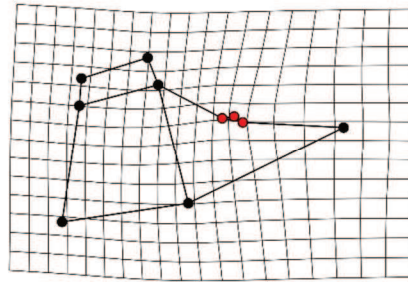
A**B**

Figura 2.20 – Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 1 del propodio izquierdo (A, extremo negativo del eje; B, extremo positivo del eje). Los landmarks representados con puntos rojos se corresponden con el diente lobular (LM 8-9-10).

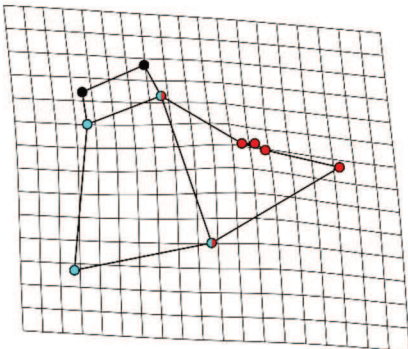
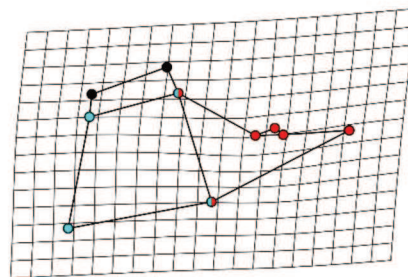
A**B**

Figura 2.21 – Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 2 del propodio izquierdo (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los landmarks representados con puntos rojos se corresponden con el dedo fijo (LM 1-6-7-8-9-10) y los puntos celestes se corresponden con la palma (LM 1-4-5-6). Los puntos coloreados con ambos colores se corresponden con landmarks compartidos.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la forma del propodio izquierdo entre especies (Tabla 2.13) (CVA, comparaciones por pares) y grupos (Tabla 2.14). La prueba de validación cruzada resultó en una clasificación de la forma media de los propodios por especie en su correspondiente grupo con alto nivel de exactitud (> 98%) (Tabla 2.14).

Tabla 2.13 – Comparación de a pares obtenidos del análisis de CVA. Valor *p* correspondientes a los datos de forma del propodio izquierdo discriminados por especie.

	<i>A. affinis</i>	<i>A. jujuyana</i>	<i>A. neuquensis</i>	<i>A. platensis</i>	<i>A. riolimayana</i>	<i>A. scamosa</i>	<i>A. singularis</i>
<i>A. jujuyana</i>	< 0,0001						
<i>A. neuquensis</i>	< 0,0001	< 0,0001					
<i>A. platensis</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001				
<i>A. riolimayana</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001			
<i>A. scamosa</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001		
<i>A. singularis</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	
<i>A. uruguayana</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

Tabla 2.14 – Resultados de DFA entre grupos correspondiente a los datos de forma del propodio izquierdo.

Valor <i>p</i>	Clasificación correcta grupo “Atlántico”	Clasificación correcta grupo “Pacífico”	Clasificación correcta Total
< 0,0001	98,63%	98,34%	98,45%

En el fenograma generado en el análisis de clustering de las formas medias de los propodios izquierdos de cada especie se observa que las relaciones de forma entre las especies no se corresponden con la hipótesis de grupo propuesta (Figura 2.22).

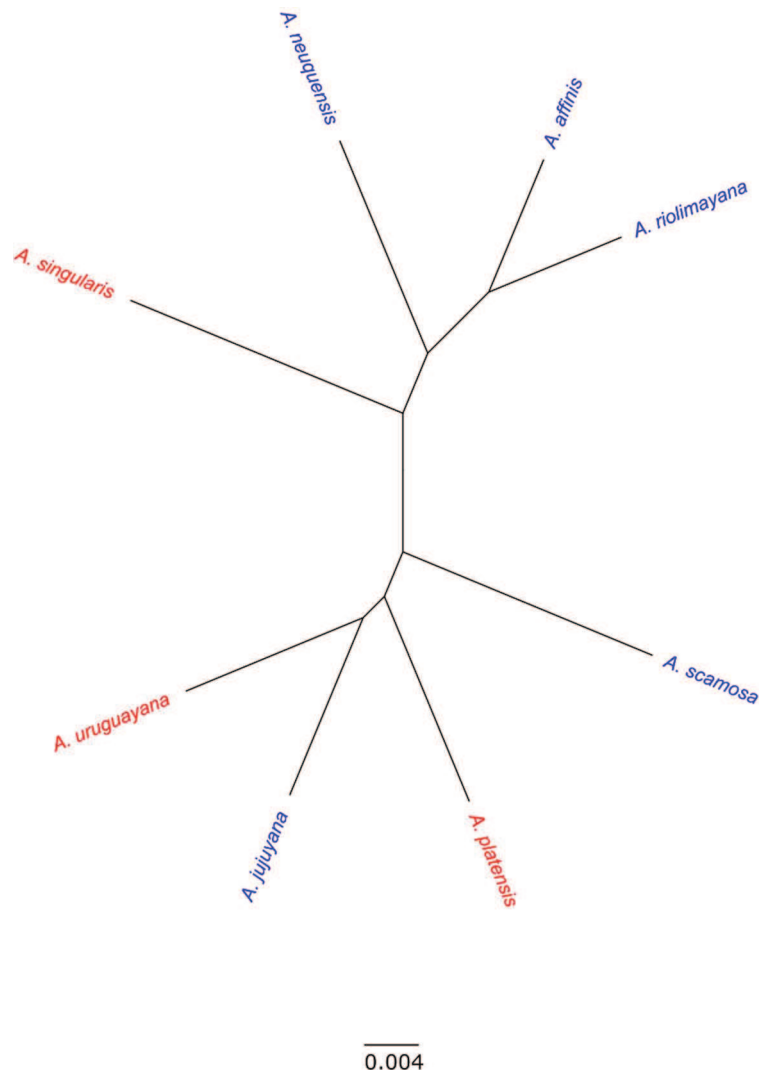


Figura 2.22 – Fenograma generado por el análisis de clustering jerárquico no supervisado utilizando las formas consensos del propodio izquierdo para cada especie. Las especies coloreadas en azul corresponden al grupo “Pacífico” y las coloreadas en rojo al grupo “Atlántico”.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tamaño del propodio izquierdo entre las especies en estudio ($\chi^2 = 47,57$; $p < 0,001$) siendo los individuos de *A. scamosa*, *A. neuquensis*, y *A. affinis* los que poseen los propodios izquierdos de mayor tamaño (Tabla 2.15, Figura 2.23 A). Se encontraron diferencias de tamaño estadísticamente significativas entre grupos ($t = -4,32$; $p < 0,001$), siendo las especies del grupo “Pacífico” las de mayor tamaño (Tabla 2.16, Figura 2.23 B).

Tabla 2.15 – Prueba de Kruskal-Wallis para tamaños de centroide del propodio izquierdo discriminados por especie.

	Grupos KW	Log(cs)	Ranking de medias	SD	N
<i>A. scamosa</i>	a	2,7797	151,1379	0,2618	29
<i>A. affinis</i>	ab	2,5463	114,1333	0,2574	30
<i>A. neuquensis</i>	ab	2,5883	113,8571	0,3310	21
<i>A. singularis</i>	b	2,4031	82,4286	0,2149	28
<i>A. platensis</i>	b	2,3675	75,9444	0,2511	18
<i>A. riolimayana</i>	b	2,3971	75,8667	0,3627	30
<i>A. uruguayana</i>	b	2,3542	75,3704	0,2265	27
<i>A. jujuyana</i>	b	2,3148	66,4546	0,3016	11
Valor p	4,34E-08				
Chi cuadrado	47,5648				
Gl	7				

Tabla 2.16 – Prueba T para tamaños de centroide del propodio izquierdo discriminados por grupo.

Valor p	Media Log(cs) “Atlántico”	Media Log(cs) “Pacífico”	t	Gl
2,45E-05	2,38 ± 0,2263	2,55 ± 0,3370	-4,3277	189,75

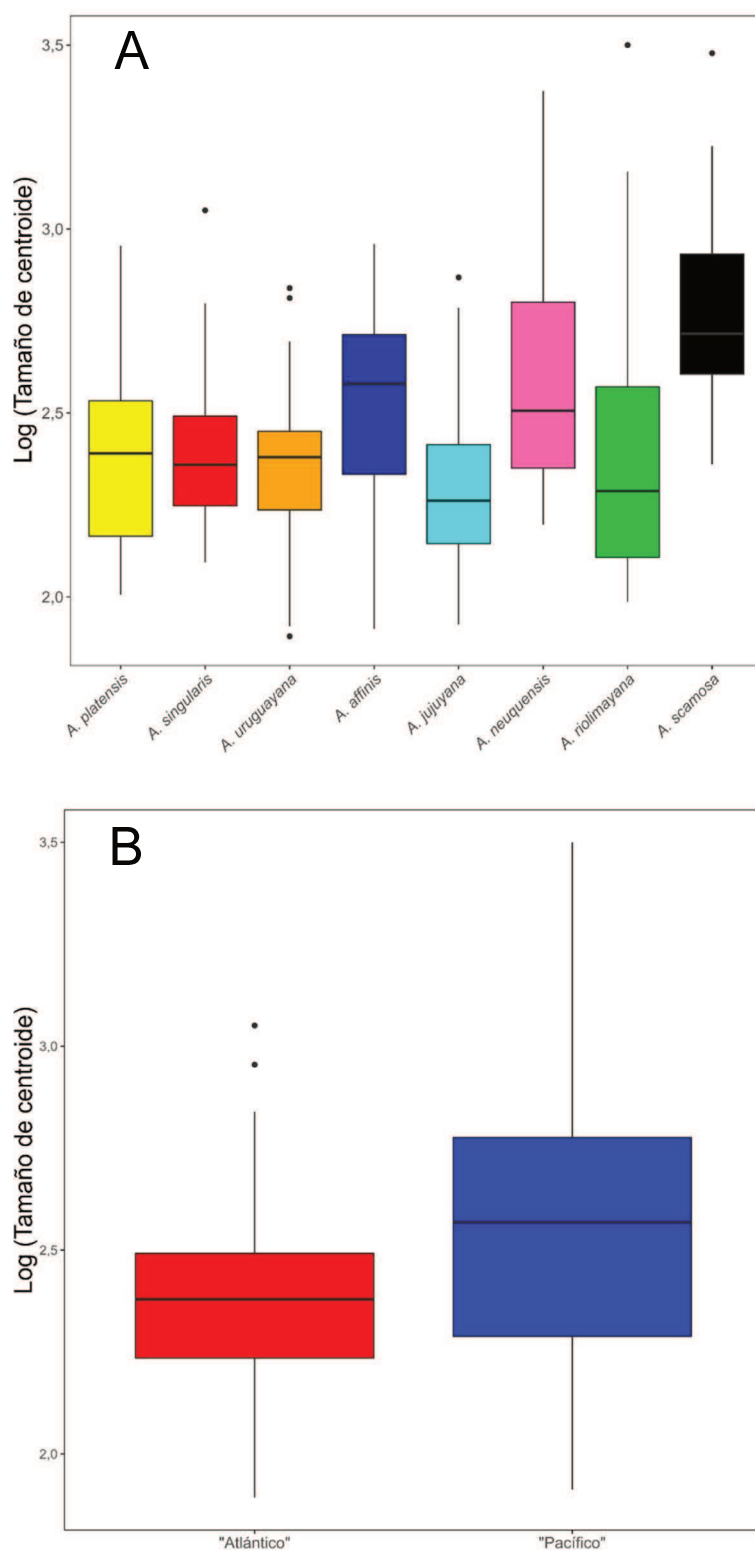


Figura 2.23 Gráfico de cajas correspondientes a los tamaños de centroide del propodio izquierdo. A, discriminados por especie; B, discriminados por grupo.

Dactilos

El análisis de la forma del dactilo derecho muestra diferentes patrones de variación y solapamiento entre las especies (Figura 2.24). Las variaciones de forma de ambos grupos muestran una misma tendencia en la componente principal 1 y la componente principal 2 (Figura 2.25). La variación de forma de la componente principal 1 (PC1: 45,03%) se corresponde con la posición del diente lobular del dáctilo (LM: 2-3-4) (Figura 2.26). Los especímenes ubicados en el lado negativo del PC1 poseen un diente lobular próximo a la punta del dáctilo (distancia entre el LM 1 y el LM 2), mientras que los especímenes ubicados en el lado positivo presentan un diente lobular próximo al punto de inserción del dáctilo (distancia entre el LM 4 y LM 5). La variación de forma en la componente principal 2 (PC2: 32,39%) se corresponde con la orientación y el ancho del diente lobular (Figura 2.27). Los especímenes ubicados en el lado negativo del PC2 presenta un diente lobular (LM 2-3-4) angosto alienado con la punta del dáctilo y el punto de inserción del este, mientras que los especímenes ubicados en el lado positivo presentan un diente lobular más ancho con su cúspide (LM 3) orientada hacia la punta del dáctilo.

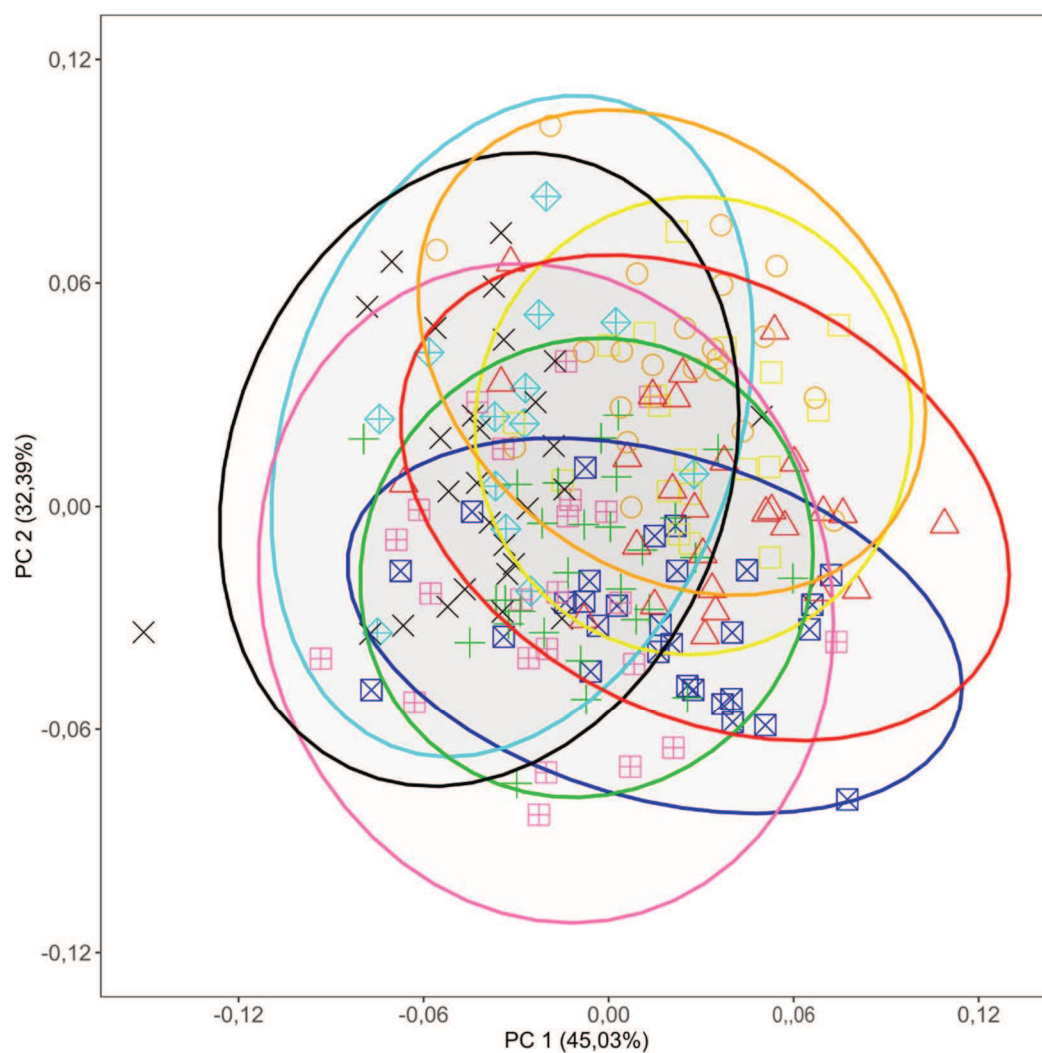


Figura 2.24 – Análisis de componentes principales sobre la forma del dactilo derecho de los especímenes de *Aegla* en estudio. *A. affinis* (azul), *A. jujuyana* (celeste), *A. neuquensis* (rosa), *A. platensis* (amarillo), *A. riolimayana* (verde), *A. scamosa* (negro), *A. singularis* (rojo) y *A. uruguayana* (naranja). Elipses de confianza al 90%.

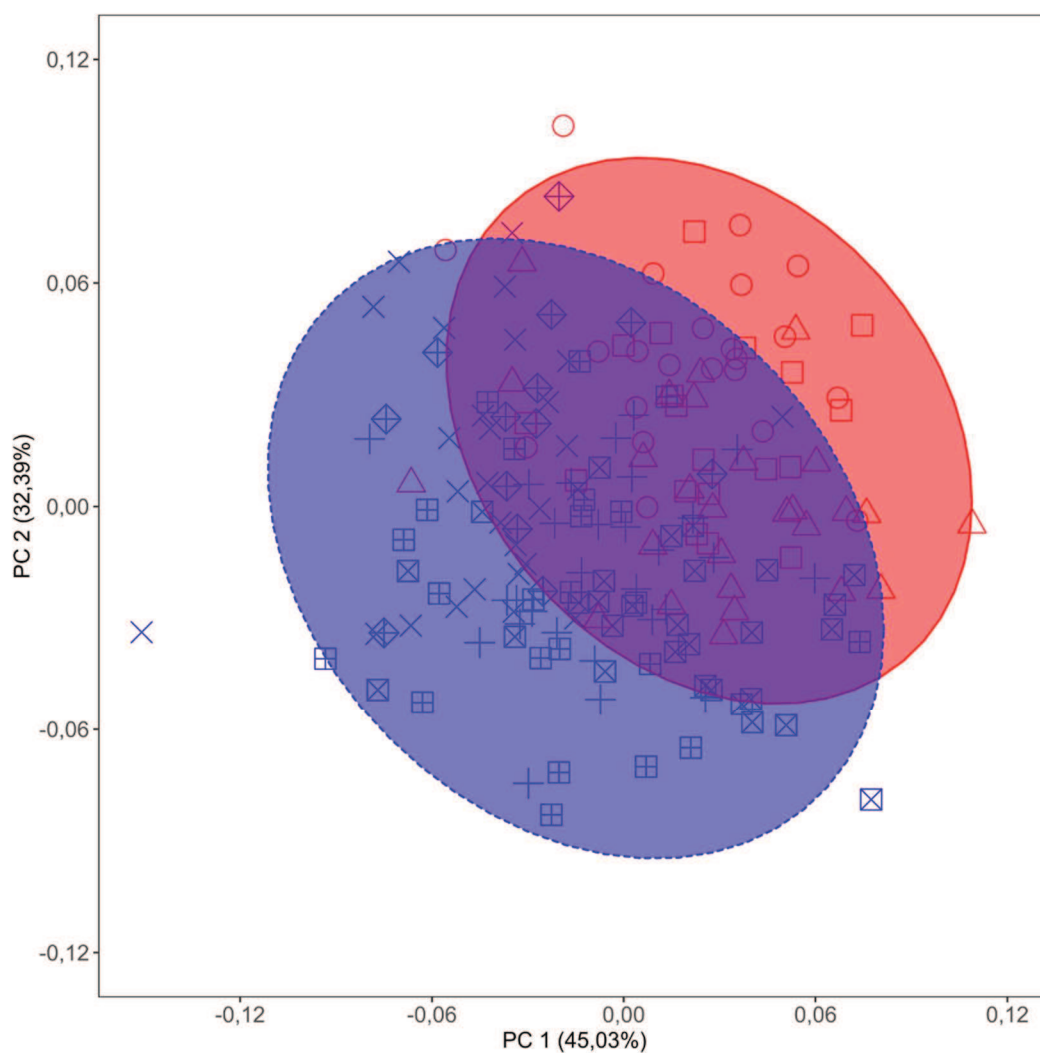
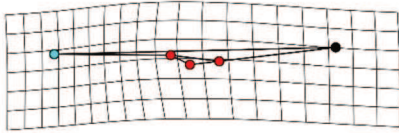


Figura 2.25 – Análisis de componentes principales representando la forma del dactilo derecho de los especímenes de *Aegla* en estudio discriminados por grupo. Cada forma representa una especie: *A. affinis* (cuadrado con una equis), *A. jujuyana* (diamante con una cruz), *A. neuquensis* (cuadrado con una cruz), *A. platensis* (cuadrado), *A. riolimayana* (cruz), *A. scamosa* (equis), *A. singularis* (triangulo), *A. uruguayana* (circulo). Elipses de confianza al 90%. Los colores de los puntos y las elipses se corresponden con el grupo al cual pertenece las especies: azul para especies del grupo “Pacífico” y rojo para especies del grupo “Atlántico”.

A



B

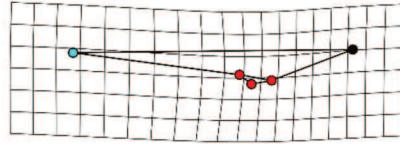
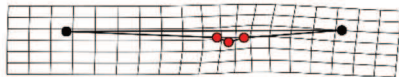


Figura 2.26 – Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 1 del dactilo derecho (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los landmarks representados con puntos celestes se corresponden con la punta del dactilo (LM 1) y los landmarks representados con puntos rojos se corresponden con el diente lobular (LM 2-3-4).

A



B

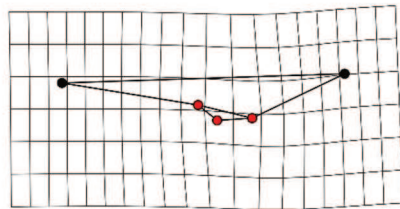


Figura 2.27 – Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 2 del dactilo derecho (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los landmarks representados con puntos rojos se corresponden con el diente lobular (LM 2-3-4).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la forma del dactilo derecho entre especies (Tabla 2.17) (CVA, comparaciones por pares) y grupos (Tabla 2.18) La prueba de validación cruzada resultó en una reclasificación de la forma media de los dactilos en su correspondiente grupo con alto nivel de exactitud ($> 90\%$) (Tabla 2.18).

Tabla 2.17 – Comparación de a pares obtenidos del análisis de CVA. Valor *p* correspondientes a los datos del dactilo derecho.

	<i>A. affinis</i>	<i>A. jujuyana</i>	<i>A. neuquensis</i>	<i>A. platensis</i>	<i>A. riolimayana</i>	<i>A. scamosa</i>	<i>A. singularis</i>
<i>A. jujuyana</i>	< 0,0001						
<i>A. neuquensis</i>	< 0,0001	0,0019					
<i>A. platensis</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001				
<i>A. riolimayana</i>	0,0003	0,0019	< 0,0001	< 0,0001			
<i>A. scamosa</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001		
<i>A. singularis</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	
<i>A. uruguayana</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

Tabla 2.18– Resultados de DFA entre grupos correspondiente a los datos de forma del propodio derecho.

Valor <i>p</i>	Clasificación correcta grupo “Atlántico”	Clasificación correcta grupo “Pacífico”	Clasificación correcta Total
< 0,0001	92,65%	92,56%	92,59%

En el fenograma generado en el análisis de clustering de las formas medias de los dactilos derecho de cada especie se observa que las relaciones de forma entre las especies son similares a las encontradas en el rostro, pero la distancia entre los grupos propuestos es menor (Figura 2.28).

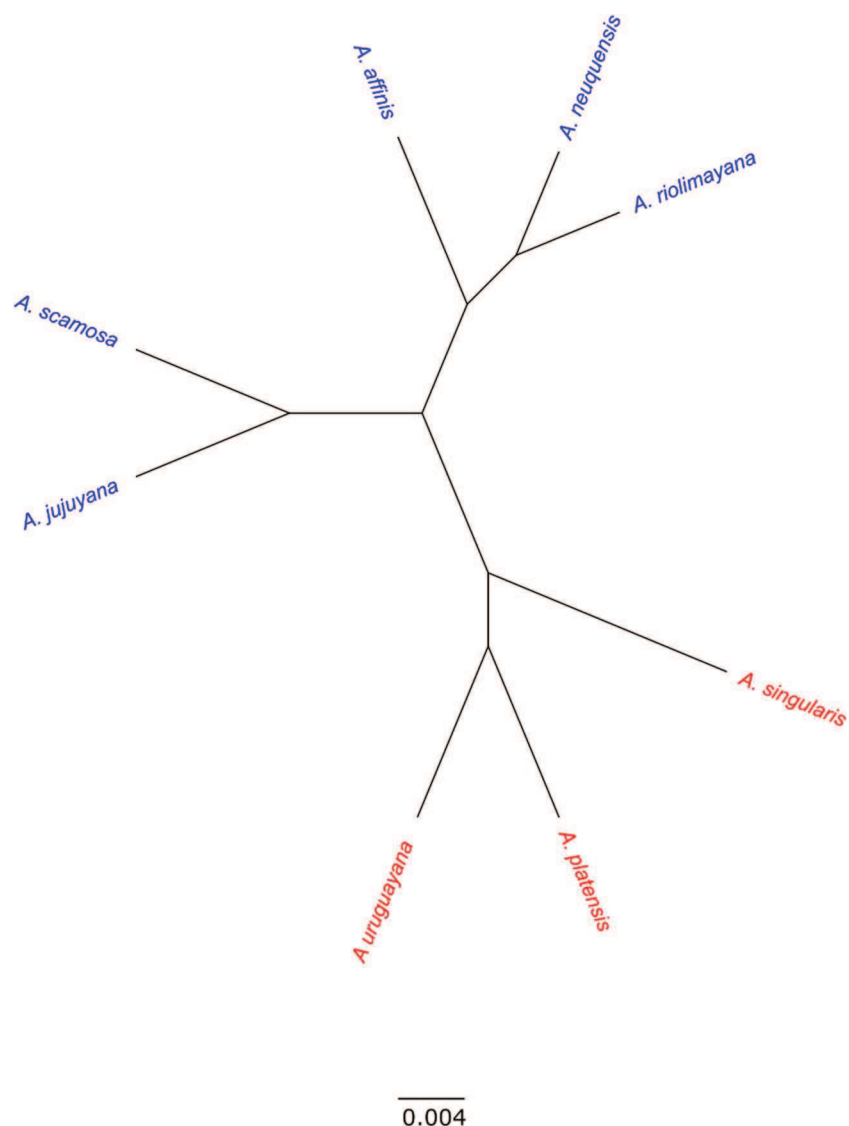


Figura 2.28 – Fenograma generado por el análisis de clustering jerárquico no supervisado utilizando las formas consensos del dactilo derecho para cada especie. Las especies coloreadas en azul corresponden al grupo “Pacífico” y las coloreadas en rojo al grupo “Atlántico”.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tamaño del dactilo derecho entre las especies en estudio (Chi cuadrado = 53,82; $p < 0,001$) siendo los individuos de *A. scamosa*, *A. neuquensis*, y *A. affinis* los que poseen los dactilos de mayor tamaño (Tabla 2.19, Figura 2.29 A). Se encontraron diferencias de tamaño estadísticamente significativas entre grupos ($t = -4,38$; $p < 0,001$), siendo las especies del grupo “Pacífico” las de mayor tamaño (Tabla 2.20, Figura 2.29 B).

Tabla 2.19 – Prueba de Kruskal-Wallis para tamaños de centroide del dactilo derecho discriminados por especie.

	Grupos KW	Log(cs)	Ranking de medias	SD	N
<i>A. scamosa</i>	a	1,7208	140,0714	0,2522	28
<i>A. affinis</i>	a	1,6201	124,8966	0,2193	29
<i>A. neuquensis</i>	ab	1,5814	111,4783	0,2876	23
<i>A. riolimayana</i>	bc	1,4411	83,6429	0,2929	28
<i>A. singularis</i>	bc	1,4117	77,9630	0,2098	27
<i>A. uruguayana</i>	bc	1,3807	73,3636	0,1474	22
<i>A. platensis</i>	c	1,3246	60,7368	0,1817	19
<i>A. jujuyana</i>	c	1,2723	48,6154	0,1999	13
Valor <i>p</i>	2.55E-09				
Chi cuadrado	53.82405				
Gl	7				

Tabla 2.20 – Prueba T para tamaños de centroide del dactilo derecho discriminados por grupo

Valor <i>p</i>	Media Log(cs) “Atlántico”	Media Log(cs) “Pacífico”	t	Gl
4,84E-07	1,38 ± 0,1845	1,56 ± 0,2885	-5,22	183,84

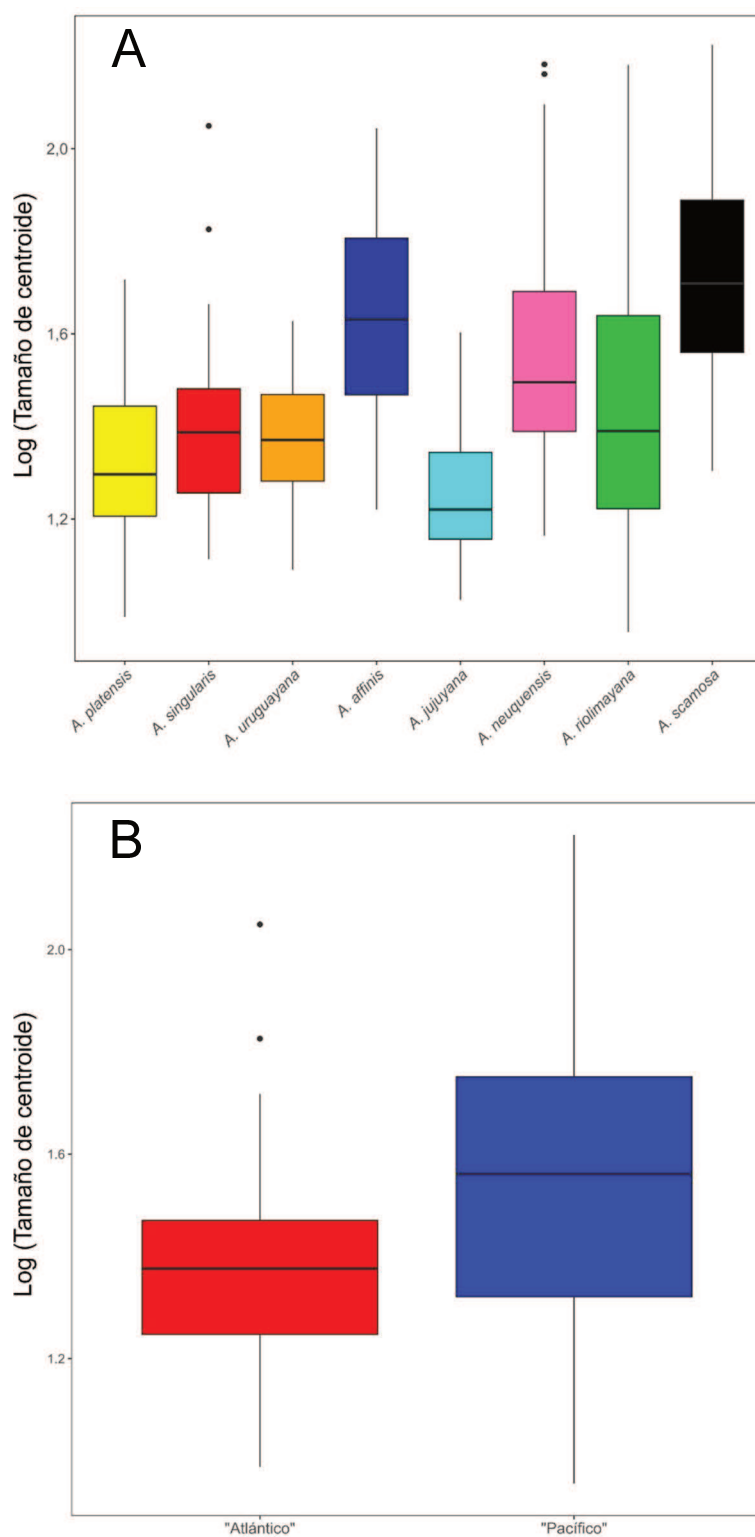


Figura 2.29 – Gráfico de cajas correspondientes a los tamaños de centroide del dactilo derecho. A, discriminados por especie; B, discriminados por grupo.

Los patrones de variación de forma observados en el dactilo izquierdo fueron similares a los del dactilo derecho en cuanto a los diversos patrones de variación entre especies (Figura 2.30) y una misma tendencia de variación de forma entre grupos (Figura 2.31). Las variaciones de forma de la componente principal 1 (PC1: 52,83%) (Figura 2.32) y componente principal 2 (PC2: 27,45%) (Figura 2.33) se corresponden con los cambios encontrados en el dactilo derecho.

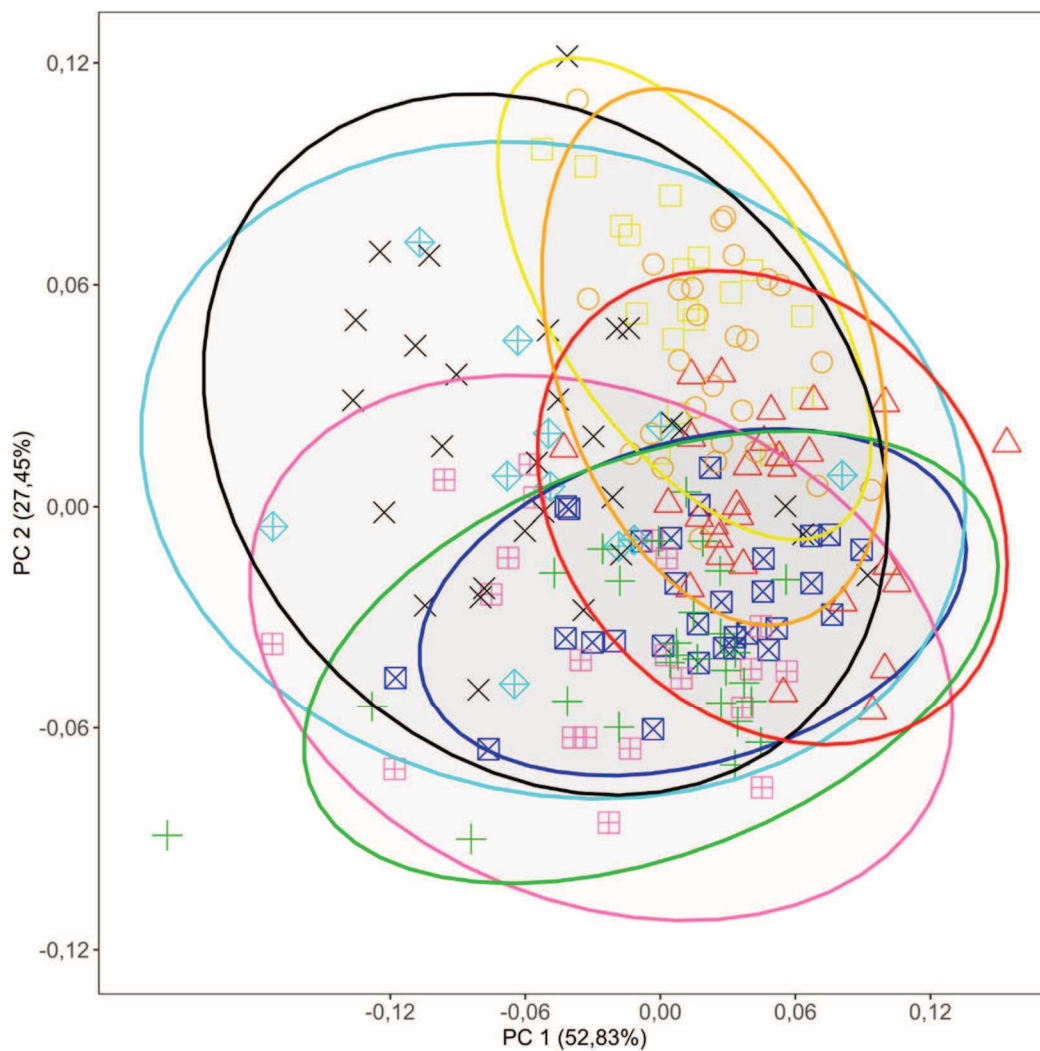


Figura 2.30 – Análisis de componentes principales sobre la forma del dactilo izquierdo de los especímenes de *Aegla* en estudio. *A. affinis* (azul), *A. jujuyana* (celeste), *A. neuquensis* (rosa), *A. platensis* (amarillo), *A. riolimayana* (verde), *A. scamosa* (negro), *A. singularis* (rojo) y *A. uruguayana* (naranja). Elipses de confianza al 90%.

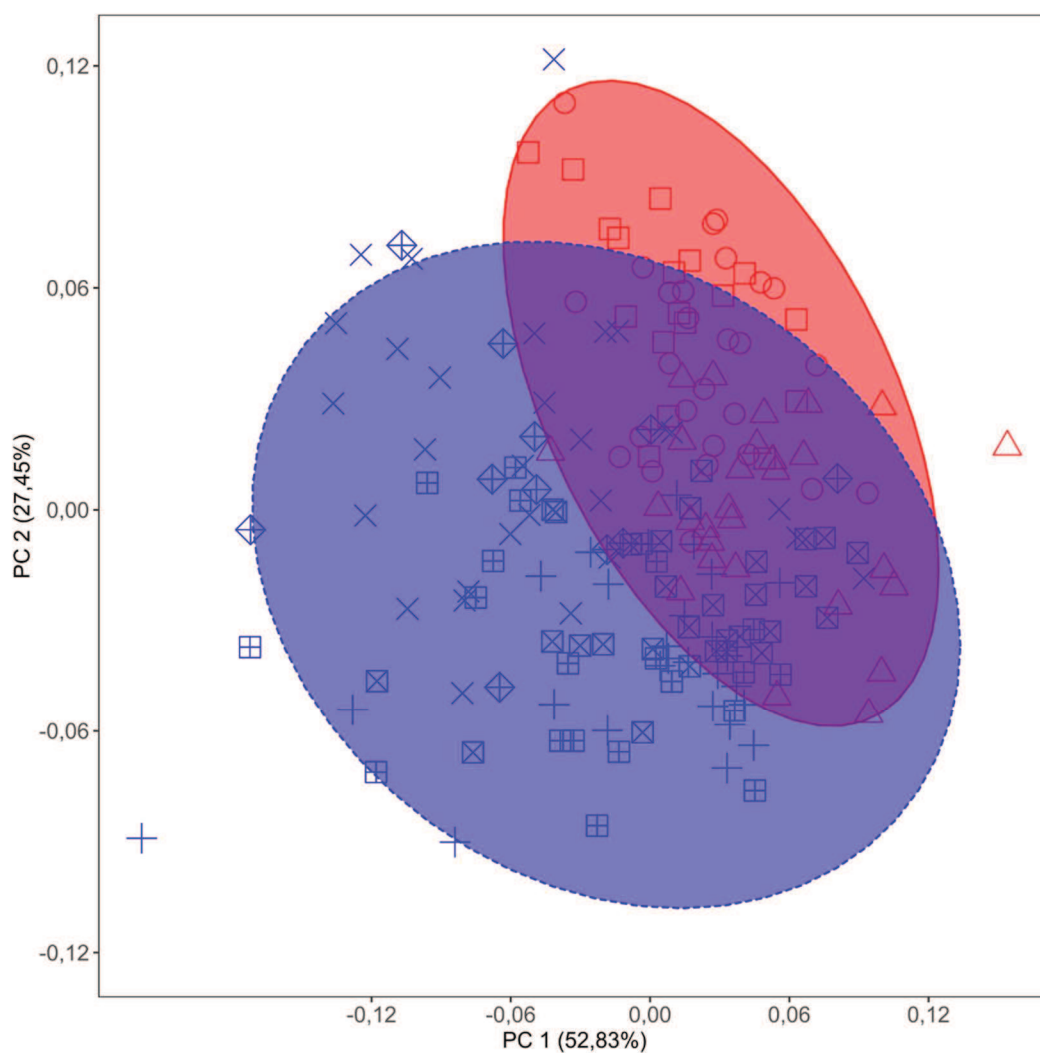
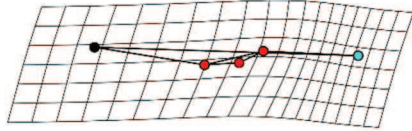


Figura 2.31 – Análisis de componentes principales sobre la forma del dactilo izquierdo de los especímenes de *Aegla* en estudio discriminados por grupo. Cada forma representa una especie: *A. affinis* (cuadrado con una equis), *A. jujuyana* (diamante con una cruz), *A. neuquensis* (cuadrado con una cruz), *A. platensis* (cuadrado), *A. riolimayana* (cruz), *A. scamosa* (equis), *A. singularis* (triángulo), *A. uruguayana* (círculo). Elipses de confianza al 90%. Los colores de los puntos y las elipses se corresponden con el grupo al cual pertenece las especies: azul para especies del grupo “Pacífico” y rojo para especies del grupo “Atlántico”.

A



B

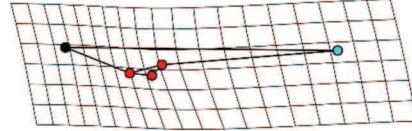
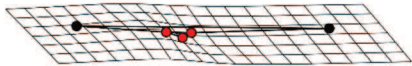


Figura 2.32 – Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 1 del dactilo izquierdo (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los landmarks representados con puntos celestes se corresponden con la punta del dactilo (LM 1) y los landmarks representados con puntos rojos se corresponden con el diente lobular (LM 2-3-4).

A



B

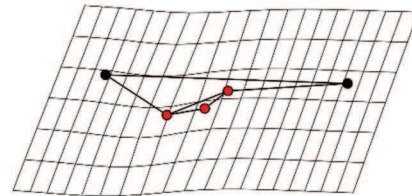


Figura 2.33 – Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 2 del dactilo izquierdo (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los landmarks representados con puntos rojos se corresponden con el diente lobular (LM 2-3-4).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la forma del dactilo izquierdo entre especies (CVA, comparaciones por pares) (Tabla 2.21) y grupos (Tabla 2.22). La prueba de validación cruzada resultó en una reclasificación de la forma media de los dactilos en su correspondiente grupo con alto nivel de exactitud (>80%) (Tabla 2.22).

Tabla 2.21 – Comparación de a pares obtenidos del análisis de CVA. Valor *p* correspondientes a los datos de forma del dactilo izquierdo discriminados por especie.

	<i>A. affinis</i>	<i>A. jujuyana</i>	<i>A. neuquensis</i>	<i>A. platensis</i>	<i>A. riolimayana</i>	<i>A. scamosa</i>	<i>A. singularis</i>
<i>A. jujuyana</i>	0,0001						
<i>A. neuquensis</i>	0,0009	0,0007					
<i>A. platensis</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001				
<i>A. riolimayana</i>	0,0017	< 0,0001	0,0113	< 0,0001			
<i>A. scamosa</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001		
<i>A. singularis</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	
<i>A. uruguayana</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0022	< 0,0001	< 0,0001

Tabla 2.22 – Resultados de DFA entre grupos correspondiente a los datos de forma del dactilo izquierdo.

Valor <i>p</i>	Clasificación correcta grupo “Atlántico”	Clasificación correcta grupo “Pacífico”	Clasificación correcta Total
< 0,0001	100%	100%	100%

En el fenograma generado en el análisis de clustering se observa que las relaciones de forma entre las especies no se corresponden con la hipótesis de grupo propuesta (Figura 2.34).

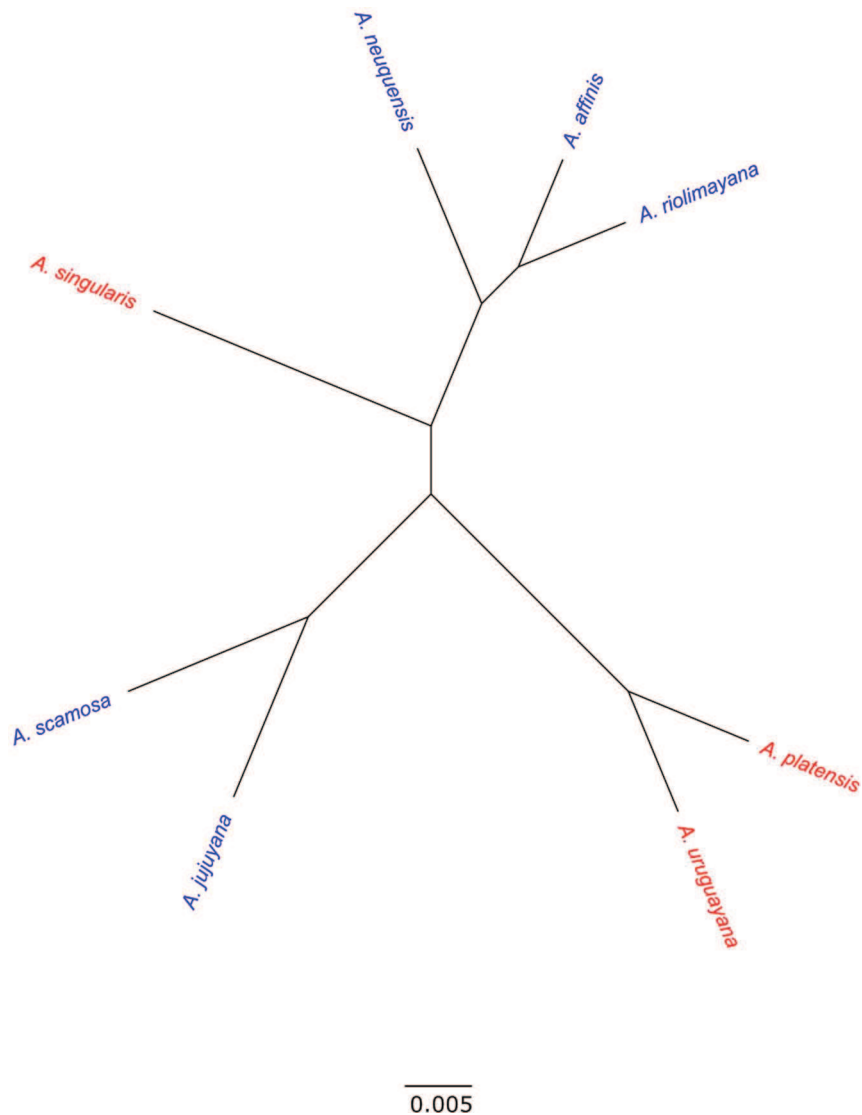


Figura 2.34 – Fenograma correspondiente al análisis de clustering jerárquico no supervisado utilizando las formas consensos del dactilo izquierdo para cada especie. Las especies coloreadas en azul corresponden al grupo “Pacífico” y las coloreadas en rojo al grupo “Atlántico”.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tamaño del dactilo izquierdo entre las especies en estudio ($\chi^2 = 51,38$; $p < 0,001$) siendo los individuos de *A. scamosa*, *A. neuquensis*, y *A. affinis* los que poseen los dactilos izquierdos de mayor tamaño (Tabla 2.23, Figura 2.35 A). Se encontraron diferencias de tamaño estadísticamente significativas entre grupos ($t = -5,15$; $p < 0,001$), siendo las especies del grupo “Pacífico” las de mayor tamaño (Tabla 2.24, Figura 2.32 B).

Tabla 2.23 – Prueba de Kruskal-Wallis para tamaños de centroide del dactilo izquierdo discriminados por especie.

	Grupos KW	Log(cs)	Ranking de medias	SD	N
<i>A. scamosa</i>	a	1,824255	145,17241	0,2450792	29
<i>A. affinis</i>	ab	1,657251	117,4	0,2567426	30
<i>A. neuquensis</i>	abc	1,665209	113,61905	0,2964514	21
<i>A. riolimayana</i>	bcd	1,533751	86,92593	0,3277514	27
<i>A. singularis</i>	bcd	1,496623	81,57143	0,2243459	28
<i>A. platensis</i>	cd	1,417272	67,55556	0,2362018	18
<i>A. uruguayana</i>	d	1,400142	65,85185	0,2242553	27
<i>A. jujuyana</i>	d	1,346279	53,90909	0,2756497	11
Valor <i>p</i>	7.73E-09				
Chi cuadrado	51,38162				
Gl	7				

Tabla 2.24 – Prueba T para tamaños de centroide del dactilo izquierdo discriminados por grupo.

Valor <i>p</i>	Media Log(cs) “Atlántico”	Media Log(cs) “Pacífico”	t	Gl
6,63E-07	1,44 ± 0,2284	1,64 ± 0,3089	-5,15	182,96

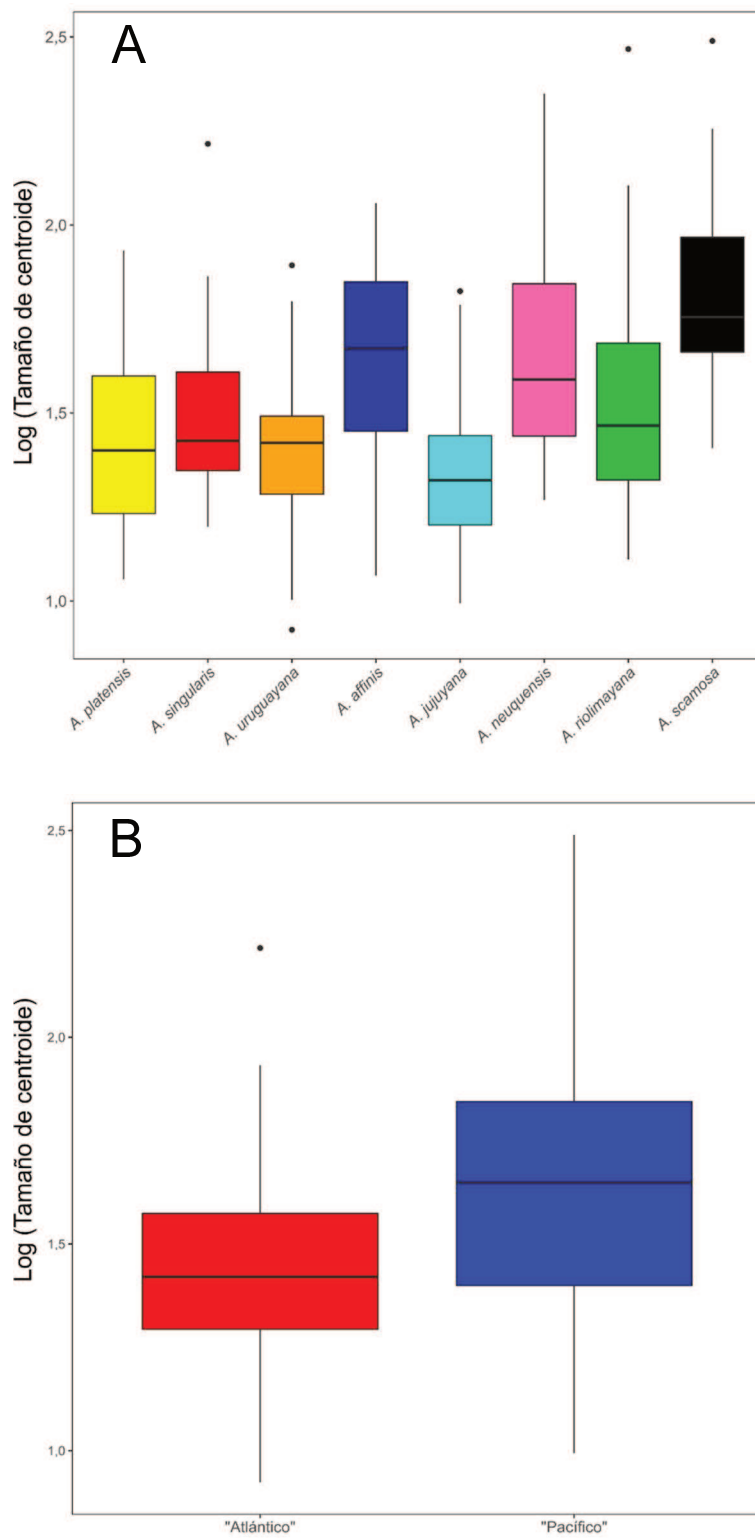


Figura 2.35– Gráfico de cajas correspondientes a los tamaños de centroide del dactilo izquierdo. A, discriminados por especie; B, discriminados por grupo.

Mandíbulas

El análisis de la variación de forma de la mandíbula derecha muestra diversos patrones de variación para cada especie (Figura 2.36) y no se observan tendencias de variación entre los grupos (Figura 2.37). La variación de forma correspondiente a la componente principal 1 (PC1: 30,07%) se debe mayormente a la distancia del diente anterior pequeño (LM: 1) respecto del diente medio (LM: 2-3-4), y al tamaño del diente medio. Los especímenes ubicados en lado negativo del PC1 poseen dientes medios más romos y más cercanos al diente anterior pequeño, mientras que los especímenes ubicados en el lado positivo del PC1 poseen dientes medios más prominentes y más alejados del diente anterior pequeño (Figura 2.38). La variación de la componente principal 2 (PC2: 19,97%) se corresponde con la alineación del diente medio respecto del diente anterior pequeño. Las mandíbulas de los especímenes ubicados en lado negativo de la PC2 presentan un diente anterior pequeño ubicado por detrás de la base del diente medio, mientras que los especímenes ubicados en el lado positivo poseen un diente pequeño alineado con el diente medio (Figura 2.39).

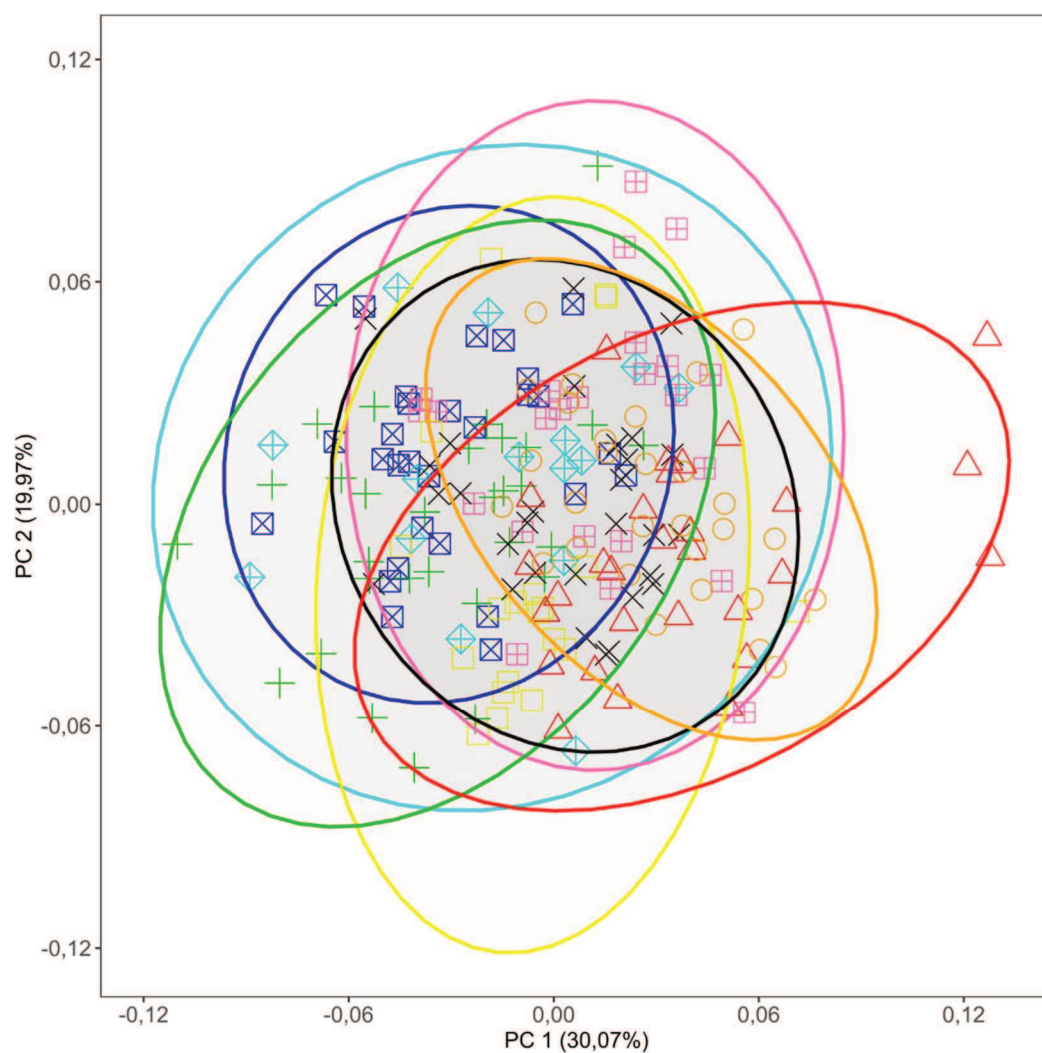


Figura 2.36 – Análisis de componentes principales sobre la forma de la mandíbula derecha de los especímenes de *Aegla* en estudio. *A. affinis* (azul), *A. jujuyana* (celeste), *A. neuquensis* (rosa), *A. platensis* (amarillo), *A. riolimayana* (verde), *A. scamosa* (negro), *A. singularis* (rojo) y *A. uruguayana* (naranja). Elipses de confianza al 90%.

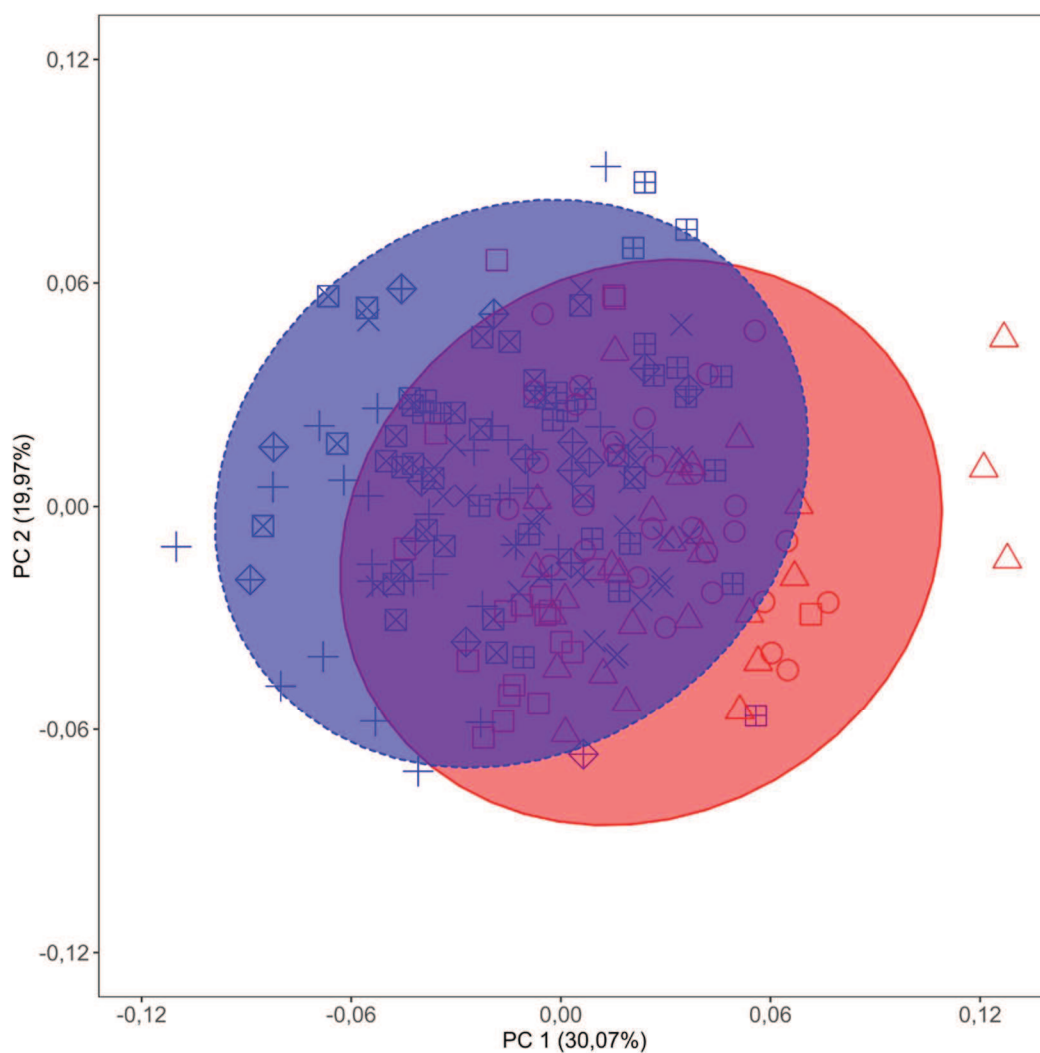


Figura 2.37 Análisis de componentes principales sobre la forma de la mandíbula derecha de los especímenes de *Aegla* en estudio discriminados por grupo. Cada forma representa una especie: *A. affinis* (cuadrado con una equis), *A. jujuyana* (diamante con una cruz), *A. neuquensis* (cuadrado con una cruz), *A. platensis* (cuadrado), *A. riolimayana* (cruz), *A. scamosa* (equis), *A. singularis* (triángulo), *A. uruguayana* (círculo). Elipses de confianza al 90%. Los colores de los puntos y las elipses se corresponden con el grupo al cual pertenece las especies: azul para especies del grupo “Pacífico” y rojo para especies del grupo “Atlántico”.

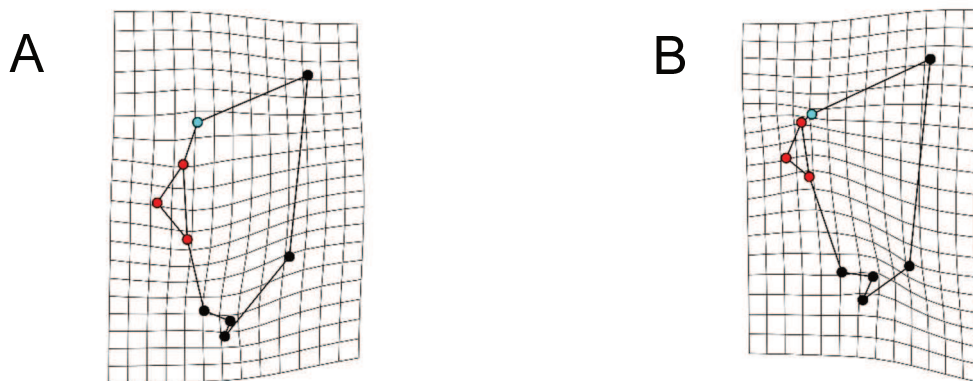


Figura 2.38 – Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 1 de la mandíbula derecha (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los landmarks representados con puntos celestes se corresponden con el diente anterior pequeño (LM 1) y los landmarks representados con puntos rojos se corresponden con el diente medio (LM 2-3-4).

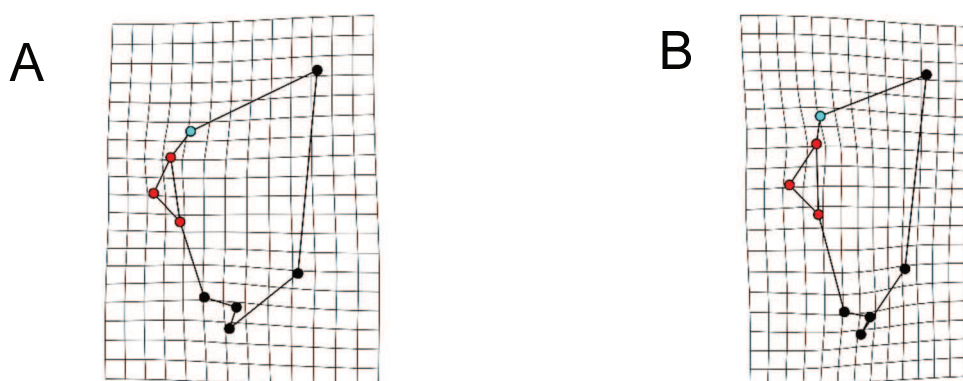


Figura 2.39 – Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 2 de la mandíbula derecha (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los landmarks representados con puntos celestes se corresponden con el diente anterior pequeño (LM 1) y los landmarks representados con puntos rojos se corresponden con el diente medio (LM 2-3-4).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la forma de la mandíbula derecha entre especies (Tabla 2.25) (CVA, comparaciones por pares) y grupos (Tabla 2.26). La prueba de validación cruzada resultó en una clasificación de la forma media de las mandíbulas derecha por especie en su correspondiente grupo con alto nivel de exactitud (> 80%) (Tabla 2.26).

Tabla 2.25 – Comparación de a pares obtenidos del análisis de CVA. Valor *p* correspondientes a los datos de forma de la mandíbula derecha discriminados por especie.

	<i>A. affinis</i>	<i>A. jujuyana</i>	<i>A. neuquensis</i>	<i>A. platensis</i>	<i>A. riolimayana</i>	<i>A. scamosa</i>	<i>A. singularis</i>
<i>A. jujuyana</i>	< 0,0001						
<i>A. neuquensis</i>	< 0,0001	< 0,0001					
<i>A. platensis</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001				
<i>A. riolimayana</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001			
<i>A. scamosa</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001		
<i>A. singularis</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	
<i>A. uruguayana</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

Tabla 2.26 – Resultados de DFA entre grupos correspondiente a los datos de forma de la mandíbula derecha.

Valor <i>p</i>	Clasificación correcta grupo “Atlántico”	Clasificación correcta grupo “Pacífico”	Clasificación correcta Total
< 0,0001	87,18%	88,98%	88,29%

El en fenograma generado en el análisis clustering se observa que las relaciones de forma entre las especies no se corresponden con la hipótesis de grupo propuesta (Figura 2.40).

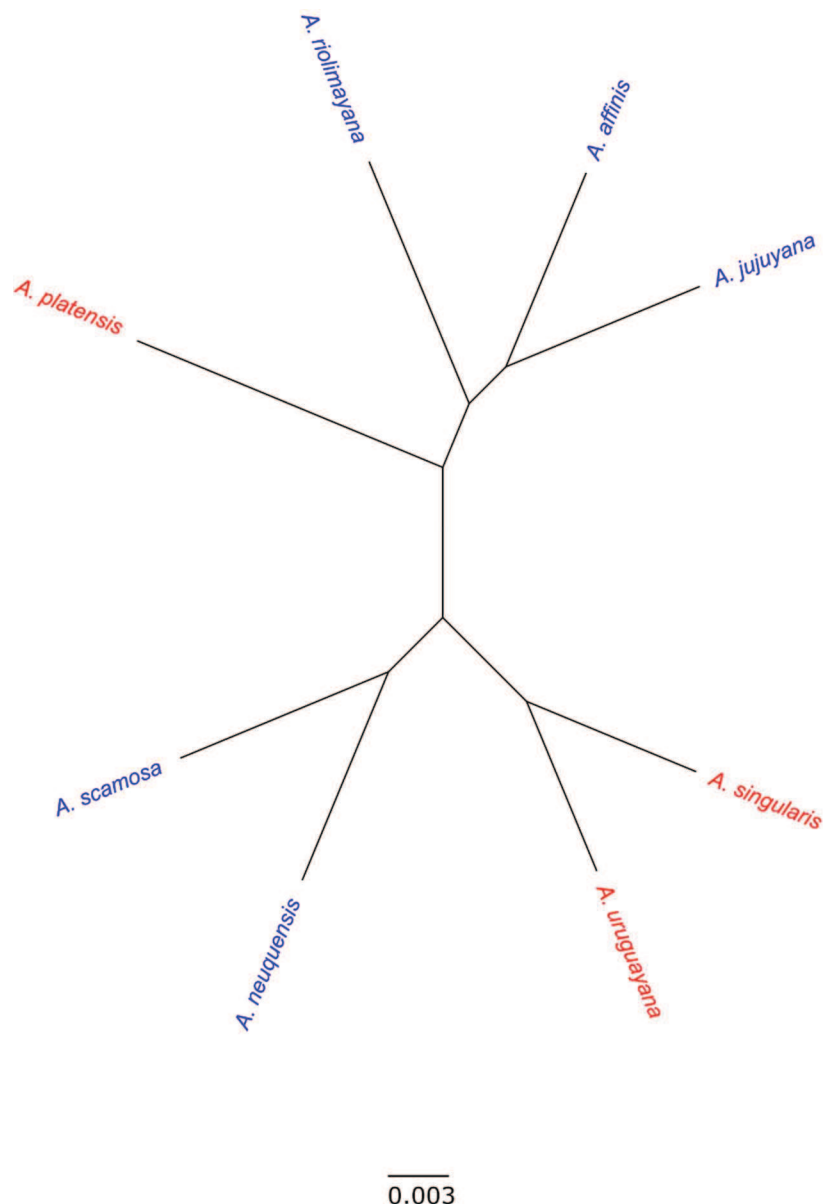


Figura 2.40 – Fenograma generado por el análisis de clustering jerárquico no supervisado utilizando las formas consensos de la mandíbula derecha para cada especie. Las especies coloreadas en azul corresponden al grupo “Pacífico” y las coloreadas en rojo al grupo “Atlántico”.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tamaño de la mandíbula derecha entre las especies en estudio ($\chi^2 = 51,38$; $p < 0,001$) siendo los individuos de *A. scamosa*, *A. neuquensis*, y *A. affinis* los que poseen mandíbulas derechas más grandes (Tabla 2.27, Figura 2.41 A). Se encontraron diferencias de tamaño estadísticamente significativas entre grupos ($t = -5,15$; $p < 0,001$), siendo las especies del grupo “Pacífico” las de mayor tamaño (Tabla 2.28, Figura 2.41 B).

Tabla 2.27 – Prueba de Kruskal-Wallis para tamaños de centroide de la mandíbula derecha discriminados por especie.

	Grupos KW	Log(cs)	Ranking de medias	SD	N
<i>A. scamosa</i>	a	1,0063101	165,51724	0,153183	29
<i>A. neuquensis</i>	a	0,9309634	147,625	0,1958336	24
<i>A. affinis</i>	a	0,8846857	140,17241	0,1751787	29
<i>A. riolimayana</i>	b	0,7166096	97,06667	0,2124268	30
<i>A. jujuyana</i>	bv	0,6657432	85,13333	0,1947666	15
<i>A. platensis</i>	bv	0,6293271	75	0,1546677	20
<i>A. uruguayana</i>	c	0,5408429	53,27586	0,141889	29
<i>A. singularis</i>	c	0,5406972	50,7931	0,1273205	29
Valor p	<0,1E-16				
Chi cuadrado	106,1265				
Gl	7				

Tabla 2.28 – Prueba T para tamaños de centroide de la mandíbula derecha discriminados por grupo.

Valor p	Media Log(cs) “Atlántico”	Media Log(cs) “Pacífico”	t	Gl
2,20E-16	0,56 ± 0,1436	0,86 ± 0,2214	-11,454	202,36

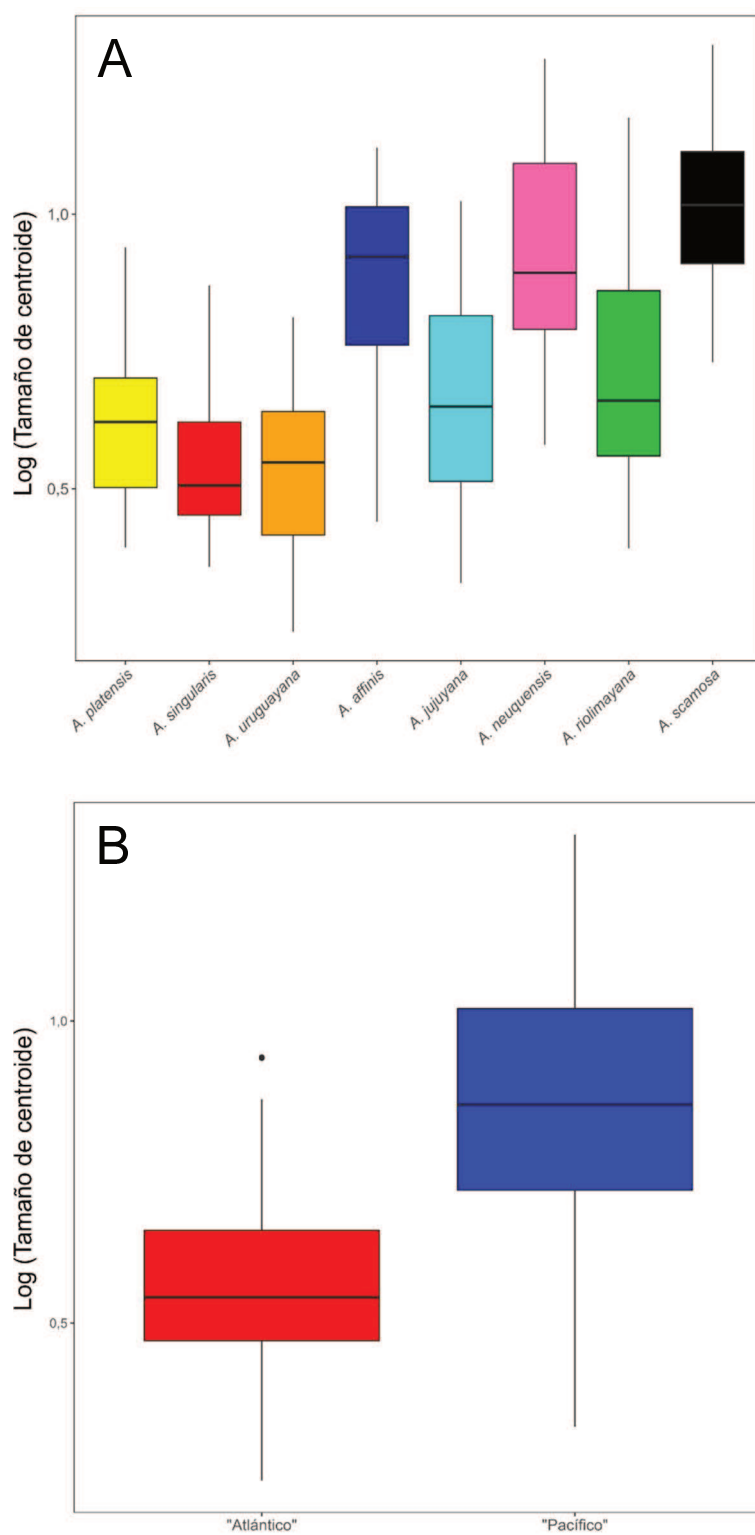


Figura 2.41– Gráfico de cajas correspondientes a los tamaños de centroide de la mandíbula derecha. A, discriminados por especie; B, discriminados por grupo.

Al igual que la mandíbula derecha, la mandíbula izquierda muestra diversos patrones de variación para cada especie (Figura 2.42) y no presentan una separación clara entre grupos, ni diferentes tendencias de variación entre los mismos (Figura 2.43). La variación de forma correspondiente a la componente principal 1 (PC1: 26,77%) se debe a la distancia del proceso molar (LM 10) respecto de la cavidad posterior (LM 7-8-9). Los especímenes ubicados en lado negativo del PC1 presentan un proceso molar alejado de la cavidad posterior, mientras que los especímenes ubicados en el lado positivo poseen un proceso molar cercano a la cavidad posterior (Figura 2.44). La variación de la componente principal 2 (PC2: 24,23%) se corresponde con la posición del diente anterior pequeño (LM 1) y del proceso molar respecto (LM 10). Las mandíbulas de los especímenes ubicados en lado negativo del PC2 poseen un diente anterior pequeño ubicado a un lado del primer diente medio y un proceso molar cercano a la cavidad posterior, mientras que los especímenes ubicados del lado positivo poseen un diente anterior pequeño ubicado sobre el primer diente medio y un proceso molar ubicado a la altura del segundo diente medio (LM 4-5-6) (Figura 2.45).

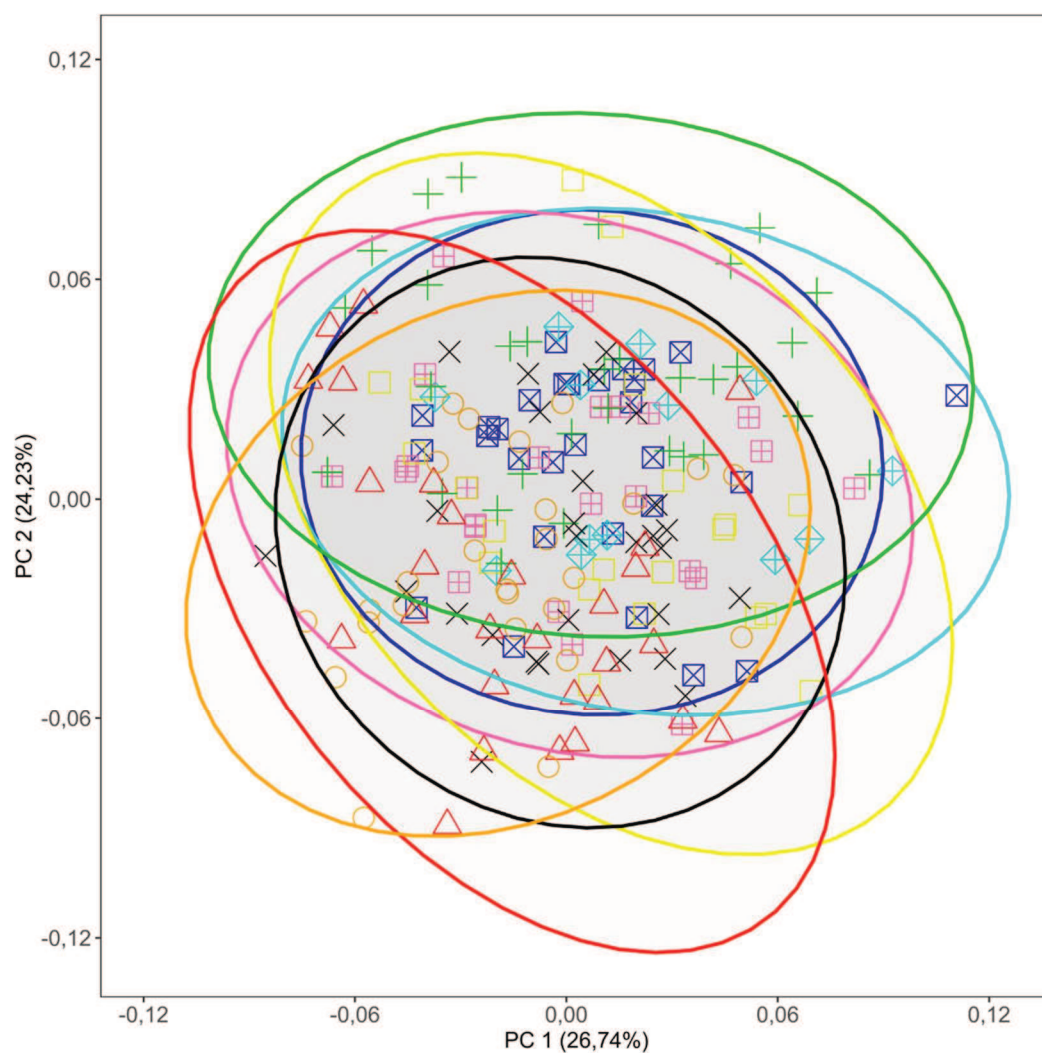


Figura 2.42 – Análisis de componentes principales sobre la forma de la mandíbula izquierda de los especímenes de *Aegla* en estudio. *A. affinis* (azul), *A. jujuyana* (celeste), *A. neuquensis* (rosa), *A. platensis* (amarillo), *A. riolimayana* (verde), *A. scamosa* (negro), *A. singularis* (rojo) y *A. uruguayana* (naranja). Elipses de confianza al 90%.

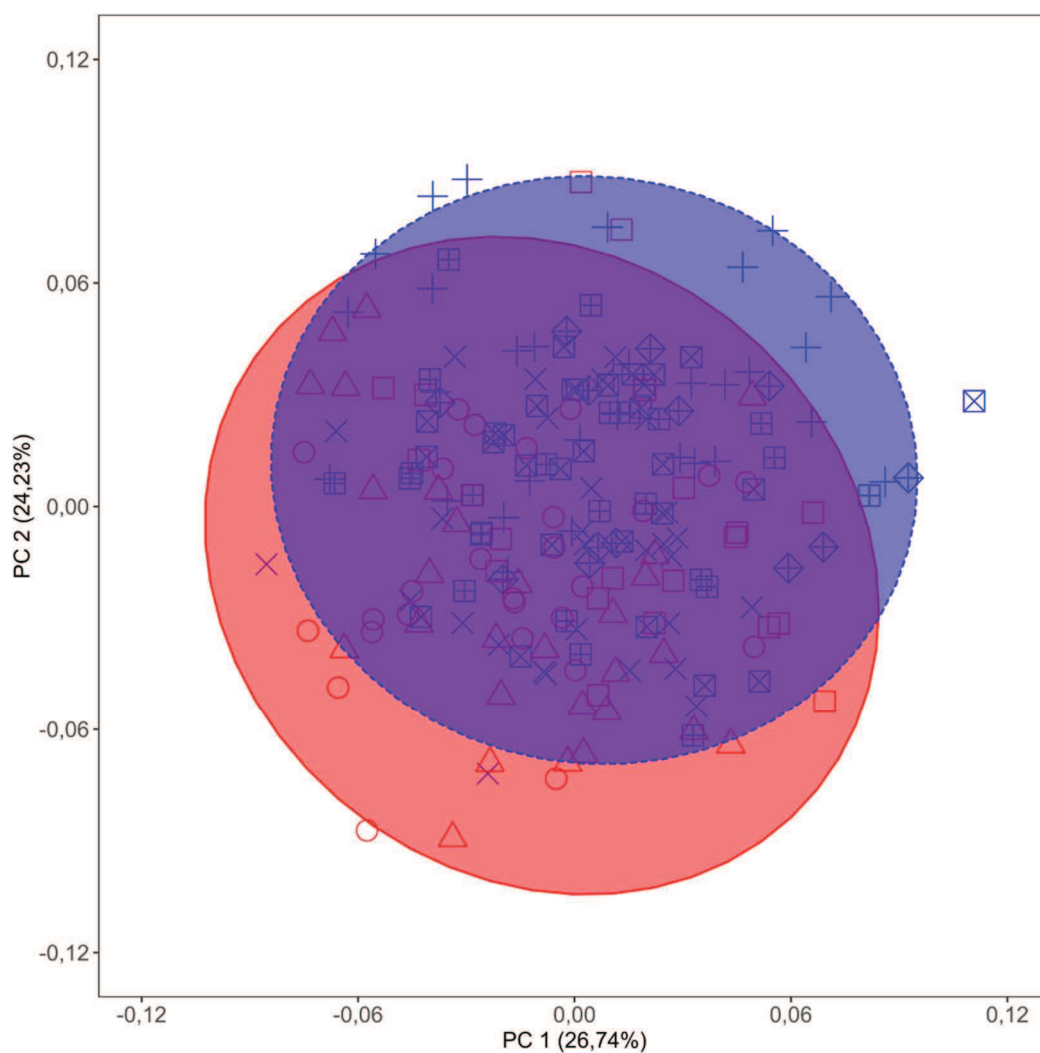


Figura 2.43 – Análisis de componentes principales sobre la forma de la mandíbula izquierda de los especímenes de *Aegla* en estudio discriminados por grupo. Cada forma representa una especie: *A. affinis* (cuadrado con una equis), *A. jujuyana* (diamante con una cruz), *A. neuquensis* (cuadrado con una cruz), *A. platensis* (cuadrado), *A. riolimayana* (cruz), *A. scamosa* (equis), *A. singularis* (triángulo), *A. uruguayana* (círculo). Los colores de los puntos y las elipses se corresponden con el grupo al cual pertenece las especies: azul para especies del grupo “Pacífico” y rojo para especies del grupo “Atlántico”.

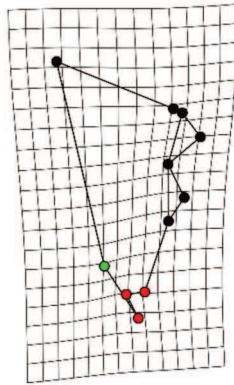
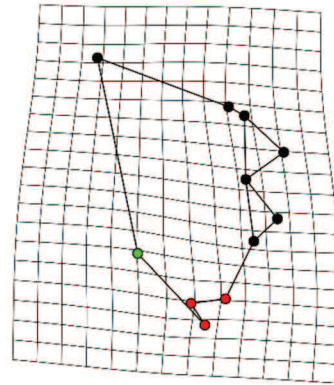
A**B**

Figura 2.44 – Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 1 de la mandíbula izquierda (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los landmarks representados con puntos rojos se corresponden con la cavidad posterior (LM 7-8-9) y los landmarks representados con puntos verdes se corresponden con el proceso molar (LM 10).

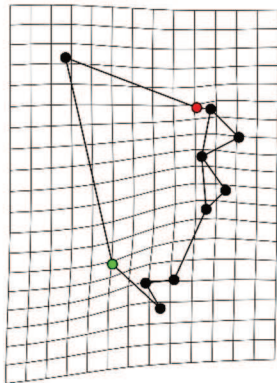
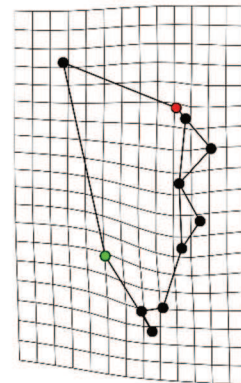
A**B**

Figura 2.45 – Grillas de deformación correspondientes a los extremos de variación de la componente principal 2 de la mandíbula izquierda (A, extremo negativo; B, extremo positivo). Los landmarks representados con puntos rojos se corresponden con el diente anterior pequeño (LM 1) y los landmarks representados con puntos verdes se corresponden con el proceso molar (LM 10).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la forma del propodio derecho entre especies (CVA, comparaciones por pares) (Tabla 2.29) y grupo (Tabla 2.30). Las mandíbulas izquierdas obtuvieron el porcentaje reclasificación correcta en la prueba de validación cruzada más bajo respecto del resto de las estructuras analizadas (<80%) (Tabla 2.30).

Tabla 2.29 – Comparación de a pares obtenidos del análisis de CVA. Valor *p* correspondientes a los datos de forma de la mandíbula izquierda discriminados por especie.

	<i>A. affinis</i>	<i>A. jujuyana</i>	<i>A. neuquensis</i>	<i>A. platensis</i>	<i>A. riolimayana</i>	<i>A. scamosa</i>	<i>A. singularis</i>
<i>A. jujuyana</i>	< 0,0001						
<i>A. neuquensis</i>	< 0,0001	< 0,0001					
<i>A. platensis</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001				
<i>A. riolimayana</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001			
<i>A. scamosa</i>	< 0,0001	< 0,0001	0,0006	< 0,0001	< 0,0001		
<i>A. singularis</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	
<i>A. uruguayana</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0145

Tabla 2.30 –Resultados de DFA entre grupos correspondiente a los datos de forma de mandíbula izquierda.

Valor <i>p</i>	Clasificación correcta grupo “Atlántico”	Clasificación correcta grupo “Pacífico”	Clasificación correcta Total
< 0,0001	76,32%	81,74%	79,70%

En el fenograma generado en el análisis clustering se observa que las relaciones de forma entre las especies no se corresponden con la hipótesis de grupo propuesta (Figura 2.46).

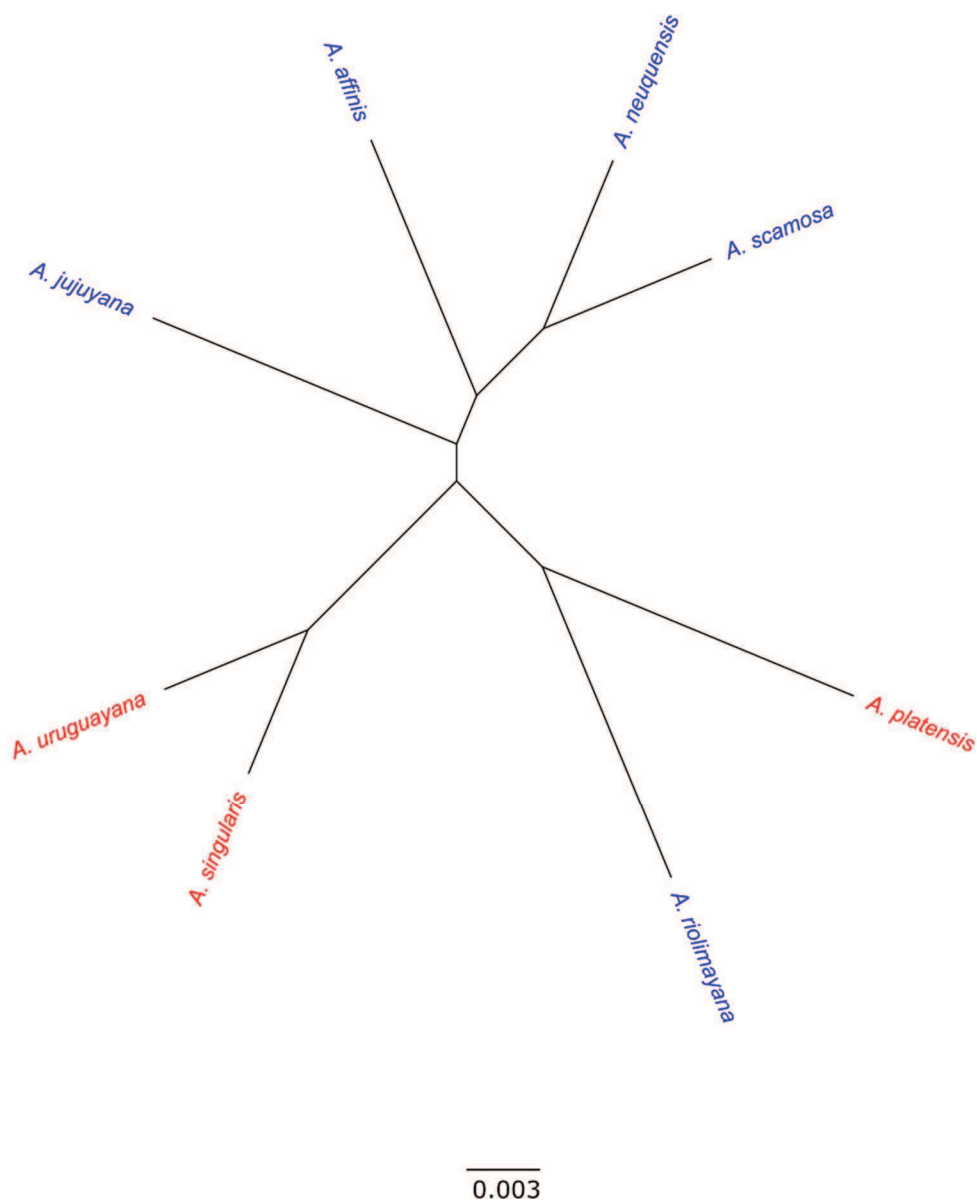


Figura 2.46 – Fenograma generado por el análisis de clustering jerárquico no supervisado utilizando las formas consensos de la mandíbula izquierda para cada especie. Las especies coloreadas en azul corresponden al grupo “Pacífico” y las coloreadas en rojo al grupo “Atlántico”.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tamaño de la mandíbula izquierda entre las especies en estudio (Chi cuadrado= 100,68; $p < 0,001$) siendo los individuos de *A. scamosa*, *A. neuquensis*, y *A. affinis* los que poseen la mandíbula izquierda de mayor tamaño (Tabla 2.31, Figura 2.47 A). Se encontraron diferencias de tamaño estadísticamente significativas entre grupos ($t = -10.44$; $p < 0,001$), siendo las especies del grupo “Pacífico” las de mayor tamaño (Tabla 2.32, Figura 2.47 B).

Tabla 2.31 – Prueba de Kruskal-Wallis para tamaños de centroide de la mandíbula izquierda discriminados por especie.

	Grupos KW	Log(cs)	Ranking de medias	SD	N
<i>A. scamosa</i>	a	1,0034863	162,03448	0,1462456	29
<i>A. neuquensis</i>	a	0,9276459	143,91667	0,1792782	25
<i>A. affinis</i>	a	0,8979584	138,82759	0,1819372	29
<i>A. riolimayana</i>	b	0,7176846	93,70968	0,2140413	30
<i>A. jujuyana</i>	bc	0,6678608	80,84615	0,2047051	13
<i>A. platensis</i>	bc	0,6399683	74,2381	0,1476663	21
<i>A. uruguayana</i>	c	0,5381276	51,77778	0,1582303	27
<i>A. singularis</i>	c	0,5526348	50,39286	0,1245526	28
Valor <i>p</i>	<0,1E-16				
Chi cuadrado	103,2365				
Gl	7				

Tabla 2.32 – Prueba T para tamaños de centroide de la mandíbula izquierda discriminados por grupo.

Valor <i>p</i>	Media Log(cs) “Atlántico”	Media Log(cs) “Pacífico”	t	Gl
2,20E-16	0,57 ± 0,1481	0,86 ± 0,2191	-11,14	181,25

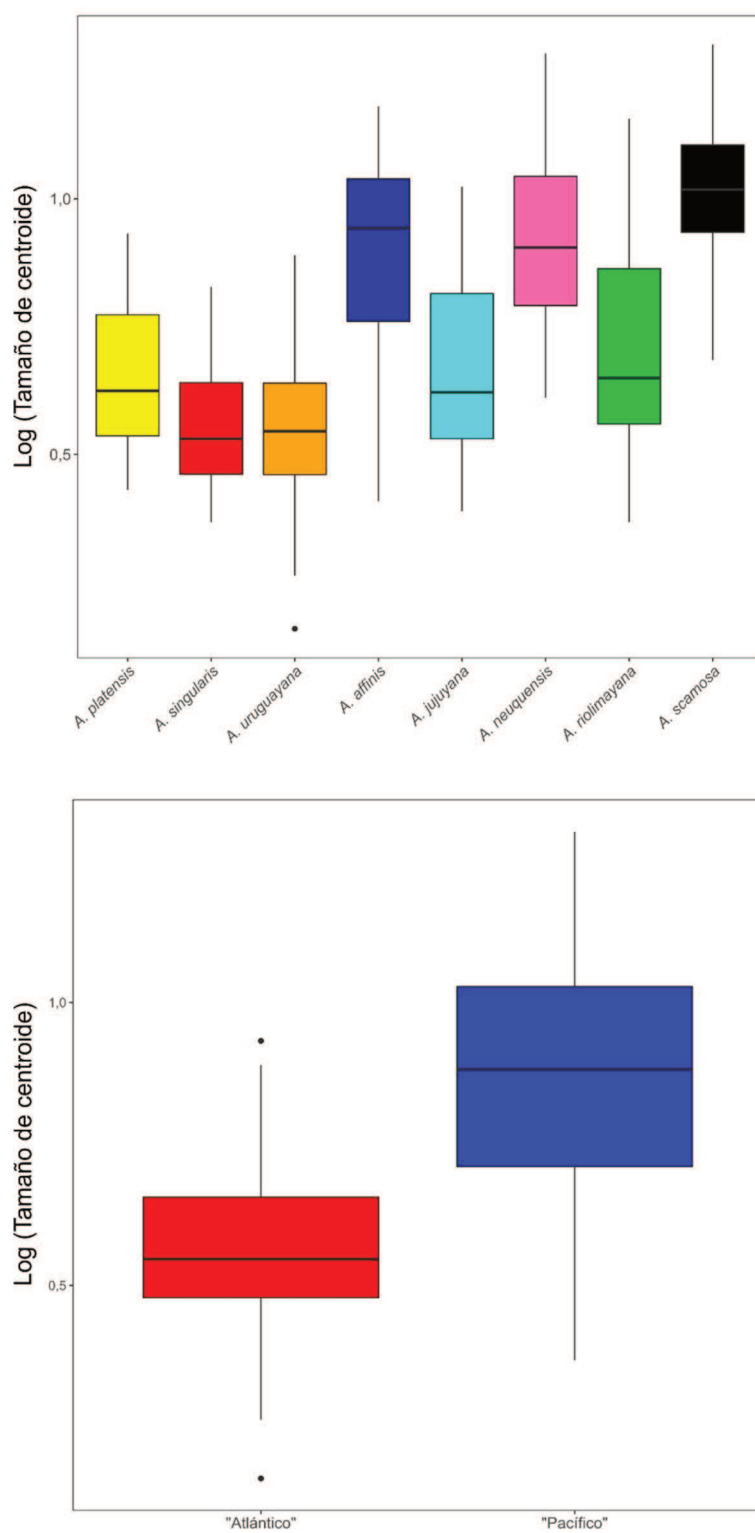


Figura 2.47 – Gráfico de cajas correspondientes a los tamaños de centroide a la mandíbula izquierda. A, discriminados por especie; B, discriminados por grupo.

Discusión

Se encontraron diferencias en la forma y tamaño entre las especies estudiadas y entre los grupos “Atlántico” y “Pacífico” en todas las estructuras analizadas. Los análisis de morfometría geométrica, considerando la forma del rostro, revelaron una diferencia en los senos orbitales entre los grupos coincidiendo con la caracterización presentada por Schmitt [25] y otros autores [29] tomada para este estudio, diferenciándose las especies analizadas de acuerdo con dos grupos geográficos, rostro “Atlántico” (*A. platensis*, *A. singularis* y *A. uruguayana*) y rostro “Pacífico” (*A. neuquensis*, *A. scamosa* y *A. riolimayana*), con frente más ancha y rostro más largo en el primer grupo y características opuestas en el segundo (Figura 2.8-2.9).

Para Schmitt [25] *A. affinis* y *A. jujuyana* poseían características de forma de ambos grupos, caracterizándolas como rostro intermedio. Sin embargo, los resultados del presente trabajo muestran que la forma del rostro de ambas especies es similar a las del grupo “Pacífico” (Figura 5-8). Con respecto a *A. riolimayana* y *A. scamosa* se ha observado que poseen patrones diferentes de variación de forma en el rostro, a pesar de que se las menciona como muy semejantes [27]. Las similitudes de forma entre las especies “Atlánticas” podrían deberse a que mantienen en la actualidad la misma zona de distribución [37]. Las especies de la cuenca del Plata ocupan gran variedad de ambientes con características muy diferentes, sugiriendo que el flujo génico ocurriría entre las poblaciones cercanas, limitando así la selección local [85]. Esto también fue sostenido por Bond-Buckup y Buckup [24], haciendo hincapié en las semejanzas del cefalotórax y del rostro, entre otros caracteres. Esta interpretación se vería respaldada por evidencias moleculares que muestran que estas son especies hermanas [30]. En este punto las migraciones entre poblaciones locales favorecer a la plasticidad [86]. En un modelo metapoblacional, la plasticidad está favorecida sobre la especialización (con relación a un ambiente) en ambientes de amplio rango de condiciones, vale decir que en especies con gran capacidad de dispersión es más probable que los individuos sean “plásticos” -en lugar de especialistas- ante diferentes escenarios [87]. Por otro lado, las especies del grupo “Pacífico” son de distribución andina, siendo los ambientes donde se encuentran de características bióticas y abióticas diferentes -en las ecorregiones de altos Andes y monte de llanuras y mesetas (*A. scamosa*); en las ecorregiones de bosque y estepa patagónica (*A. riolimayana*)- y el área de distribución más acotada respecto a las especies “Atlánticas”. Además, los ambientes donde se encuentran estas especies son considerados sistemas más estables que los ambientes que ocupan las especies

del grupo “Atlántico” [88]. Interespecíficamente las variaciones en la forma del cefalotórax -o de partes de éste- han sido explicadas mediante diferentes causas. Ringuelet [29], en primer término y como evidencia de su hipótesis de colonización, propone la adaptación como fundamento de las diferencias morfológicas, planteado que la tendencia a la reducción de la ornamentación, largo del rostro y ancho de la frente representaría una adaptación a la vida entre las rocas o la arena en ríos o arroyos donde viven estas especies. A pesar de ello se observa que, por ejemplo, *A. uruguayana* y *A. platensis* -ambas de amplia distribución- habitan en sitios con características similares en la provincia de Córdoba las primeras y en Tucumán las segundas [89].

El análisis de forma de los propodios y dactilos derecho e izquierdo reveló que no poseen patrones de variación similares entre sí (heteroquelia). En trabajos anteriores donde se utilizó morfometría geométrica para analizar la forma de los propodios crustáceos del género *Uca* se encontró que la variación interespecífica era menos que la esperada, sin embargo, consideran que esto puede ser efecto de la cantidad de landmarks utilizadas para describir la forma de los propodios [43]. En este trabajo se encontraron diferencias significativas en la forma de ambos propodios entre especies y entre grupos. La prueba de validación cruzada del análisis discriminante (DFA) presentó un alto porcentaje de reclasificación correcta (>90%) entre grupos para ambos propodios. Las especies pertenecientes al grupo “Atlántico” poseen mayor variación en el ancho de la palma, resultado encontrado también en el género *Uca* [43], y la posición del diente lobular en el propodio derecho, y solo en la posición del diente lobular en el propodio izquierdo. Los fenogramas correspondientes al análisis de clustering para ambos propodios mostraron patrones de agrupamientos similares entre sí, pero diferentes a los obtenidos en los análisis del rostro.

Se ha logrado discriminar especies en otros decápodos analizando la forma de los dactilos a partir de análisis de contornos, por lo tanto, se considera importante la caracterización de forma de los mismos [44]. Se encontraron diferencias entre especies y entre grupos, con valores altos de reclasificación correcta (~90%). El fenograma correspondiente al análisis de clustering del dactilo derecho resultó en un agrupamiento similar al obtenido con los datos de rostro, separando las especies del grupo “Atlántico” de las especies del grupo “Pacífico” aunque que con una distancia considerablemente menor entre grupos (Figura 2.28). El fenograma correspondiente al dactilo izquierdo mostró un agrupamiento de especies similar al obtenido al analizar los propodios (Figura 2.34).

Algunos autores consideran la forma de las mandíbulas como un carácter adecuado para identificar relaciones filogenéticas entre taxones de decápodos [45] [46] [47]. Al analizar la forma de ambas mandíbulas se encontraron diferencias entre especies y grupos. Sin embargo, la mandíbula izquierda fue la estructura de menor porcentaje de clasificación correcta en el análisis de validación cruzada entre las especies, sugiriendo que la variación de forma con relación a las especies es menor a la esperada. Los fenogramas obtenidos del análisis de clustering muestran que las formas medias de ambas mandíbulas no se diferencian como el resto de las estructuras (Figura 2.40-2.46). Considerando las evidencias respecto de la dieta de estos cangrejos la cual no presenta diferencias entre especies, siendo caracterizados los aeglidos como omnívoros [90] [91] [92] [93], podemos afirmar, en coincidencia con otros autores, que la mandíbula no presenta información taxonómica en *Aegla* [26] [94].

En trabajos previos se han realizado comparaciones interespecíficas de tamaño en especies de *Aegla* pertenecientes a un mismo grupo según el criterio tomado en este capítulo. Giri & Collins [62] no encontraron diferencias en el tamaño de caparazón entre especímenes de *A. platensis* y *A. uruguayana* (ambas especies pertenecientes al grupo “Atlántico”), mientras que Giri & Loy [39] encontraron diferencias de tamaño de caparazón entre especímenes de *A. neuquensis* y *A. riolimayana* (ambas especies pertenecientes al grupo “Pacífico”), aunque solo en los especímenes hembra, siendo este resultado congruente con lo reportado por Ringuelet [95]. En el caso del rostro y mandíbulas, los especímenes que poseían un tamaño mayor al resto eran los pertenecientes a especies del grupo “Pacífico”, mientras que los más pequeños fueron los especímenes pertenecientes al grupo “Atlántico”. Los resultados de las comparaciones de tamaños de rostro correspondiente a *A. platensis* - *A. uruguayana* y *A. neuquensis* - *A. riolimayana*, concuerdan con los resultados de Giri & Collins [62] y Giri & Loy [39]. En estudios previos de las variaciones de tamaño rostro en especies marinas de camarones se concluyó que el tamaño estaba relacionado con estrategias de escape a depredadores, donde las especies de camarones bentónicos poseían rostros medio-corto se enterraban en el sustrato para ponerse a salvo, concluyendo que el tamaño del rostro de una especie es una respuesta a su hábitat [96]. Estos camarones bentónicos no presentan sistema de escape de nado hacia atrás, como otras especies nectónicas o pelágicas, siendo este un comportamiento característico en los aeglidos, por lo tanto, no podríamos relacionar de manera directa esta información. En el caso de los quelípedos, esta relación de tamaño entre grupos no se da de igual manera que con el rostro y las mandíbulas. Al analizar el tamaño de centroide de los propodios y dactilos encontramos que los especímenes del grupo “Pacífico” poseen los quelípedos de mayor

tamaño, sin embargo, los más pequeños pertenecen a los especímenes de *A. jujuyana*, siendo también esta una especie del grupo “Pacífico”.

A partir de los resultados obtenidos podemos concluir que: (1) Existen diferencias significativas en la forma del rostro entre especies y entre los grupos “Atlántico” y “Pacífico”; (2) El patrón de variación de forma del rostro se corresponde con la hipótesis de grupo geográfico propuesta por Schmitt [42]; (3) Los análisis estadísticos realizados sobre el tamaño de centroide de todas las estructuras revelaron que existen diferencias significativas entre especies y grupos.

Capítulo 3: Análisis evolutivo de las relaciones morfológicas en especies del género *Aegla*

Introducción

Las especies están relacionadas históricamente por descender de un ancestro común, debido a esto, los caracteres o rasgos de estas especies están influenciados no solo por eventos independientes de cada especie, sino que también están sujetos a fuerzas evolutivas que ocurrieron antes que se diversificaran, haciendo que existan similitudes fenotípicas entre las especies. Como consecuencia de esto, los procedimientos estadísticos utilizados para evaluar la covariación de rasgos entre especies deben considerar sus relaciones evolutivas [97]. Se han desarrollado nuevas aproximaciones estadísticas que permiten analizar datos de biología comparativa teniendo en cuenta las relaciones filogenéticas entre especies. A partir de esto podemos definir los métodos filogenéticos comparativos como el estudio analítico de las especies, poblaciones e individuos en un contexto histórico que tiene como objetivo dilucidar los mecanismos que dan origen a la diversidad de la vida [98]. El desarrollo de métodos comparativos filogenéticos comenzó durante la década de los 80, donde se publicaron métodos para calcular contrastes filogenéticos independientes (*phylogenetically independent contrast* o PICM) [99] o la utilización de mínimos cuadrados generalizados para realizar una regresión teniendo en cuenta la filogenia (PGLS) [100]. Estos métodos permiten evaluar la asociación entre un rasgo (variable respuesta o dependiente) y alguna variable, como el tamaño, otro rasgo o algún factor clasificador. Durante los 90, continuando con los desarrollos de la década anterior, se publicaron métodos para separar la varianza de un rasgo en una componente ambiental y una componente filogenética [101] y nuevas herramientas para analizar caracteres discretos [102] [103]. Estos métodos permitieron integrar mayor evidencia combinando información proveniente de diferentes áreas de estudio, accediendo así a una evaluación integral, en este caso, de los procesos evolutivos estudiados. Diversos trabajos han aplicado métodos comparativos para estudiar caracteres continuos y discretos en un contexto filogenético, desde el análisis de la aparición de nuevos rasgos fenotípicos [104], cambios en los modos evolutivos y adaptación a diferentes óptimos [105] [106] [107], hasta reconstrucción de caracteres ancestrales [108].

Por otra parte, las tasas de variación fenotípica han sido estudiadas para analizar la dinámica con la que las variaciones fenotípicas se han acumulado generando diversidad de formas [109] [110]. Cambios en las tasas de variación fenotípica están relacionados con cambios de nicho ecológico [111] y también pueden afectar la diversidad y disparidad de los rasgos [109] [112]. Existe evidencia que sugiere que las tasas de variación fenotípica varían entre linajes [109] [111], y en diferentes rasgos de un mismo linaje, particularmente cuando estos rasgos están influenciados por diferentes presiones selectivas [113] [114]. Existen diferentes hipótesis sobre qué factores son los que influyen estas diferencias en las tasas de variación fenotípica [115], por ejemplo, el tamaño corporal [116], la competencia interespecífica [117] [118], y la especialización ecológica [119]. Las tasas de variación fenotípica pueden cuantificarse y ser utilizadas para identificar diferencias entre individuos de diferentes grupos o clados [120] [121] [122], como así también identificar diferencias entre diferentes rasgos de un mismo individuo [123].

En este capítulo se utilizarán métodos comparativos filogenéticos con el objetivo de evaluar variaciones de forma, tamaño y caracterizar dinámicas evolutivas de diferentes rasgos fenotípicos de especies del género *Aegla*.

Materiales y Métodos

Recolección de datos:

Se utilizó la información de morfometría geométrica de los 7 rasgos fenotípicos correspondientes y las 8 especies del género *Aegla* (*A. affinis*, *A. jujuyana*, *A. scamosa*, *A. riolimayana*, *A. neuquensis*, *A. platensis*, *A. uruguayana*, *A. singularis*) obtenidos en el capítulo anterior (Cap. 2). Primeramente, las configuraciones de LM correspondientes a cada estructura fueron alineadas utilizando el método de “ajuste de Procrustes” [7], eliminando los efectos de escala, rotación y posición de las configuraciones. Este ajuste se realizó para cada conjunto de datos separados por especie y por estructura. A partir del ajuste de Procrustes se obtuvieron las configuraciones de landmark alineadas (sin los efectos de escala, rotación y posición) y el tamaño de centroide de cada configuración, el cual se utiliza como una medida estimada del tamaño de cada estructura. Para utilizar técnicas de análisis filogenéticos comparativos es necesario disponer de información filogenética de las especies en estudio. Para ello se decidió utilizar la inferencia filogenética del género *Aegla* propuesta por Pérez-Losada [124],

debido a que es la filogenia más reciente que incluye las relaciones del mayor número de especies (78) conocida hasta la fecha. Se realizó una *poda* del árbol filogenético completo para dejar solo las especies en estudio.

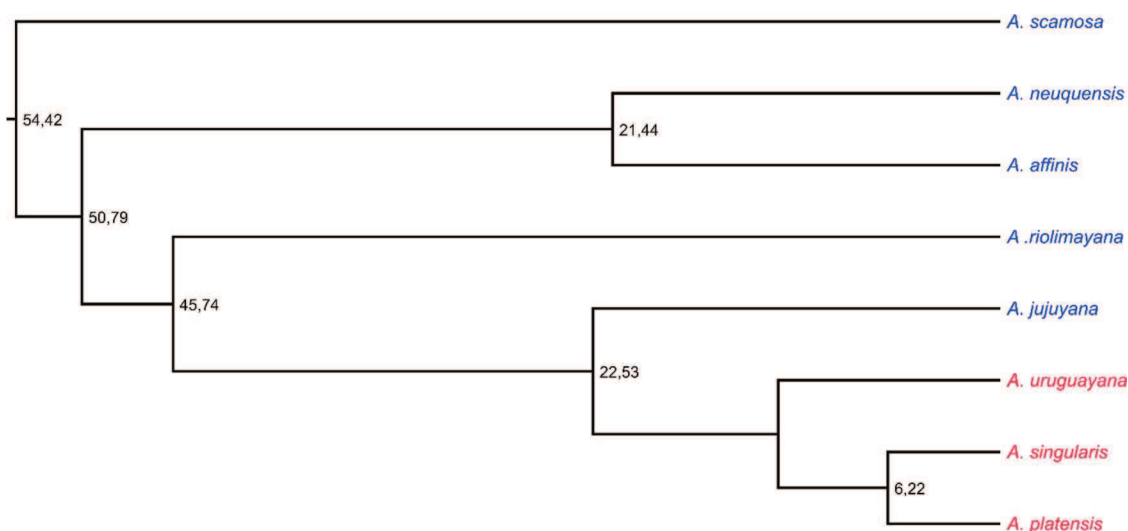


Figura 3.1– Filogenia calibrada de 8 especies del género *Aegla*. Las especies coloreadas con azul pertenecen al grupo “Pacífico” y las coloreadas con rojo al grupo “Atlántico”. Los números representan los tiempos estimados de divergencia en millones de años.

Se utilizaron datos temporales de divergencia de clados provenientes de trabajos previos [30] para realizar la calibración del árbol filogenético. Esta calibración fue realizada con la función *chronos()* del paquete de R *ape* [125] (Figura 3.1).

Análisis de datos

Para analizar si existe una relación entre la forma y tamaño del rostro, propodios, dácilios y mandíbulas con los grupos geográficos “Atlántico” y “Pacífico”, asignado a cada una de las especies de *Aegla*, se utilizó el análisis de mínimos cuadrados generalizados filogenéticos (PGLS). Esta regresión es un método no paramétrico que representa los cambios de la variable dependiente utilizando matrices de varianzas-covarianzas teniendo en cuenta las relaciones filogenéticas entre las especies analizadas. Debido a que la manera de representar la forma de los rasgos es a través de datos multivariados existen dificultades en la implementación de análisis como PGLS, dado que a medida que se incrementa el número de dimensiones con las que se representa la forma de un rasgo, la cantidad de parámetros a estimar se incrementa haciendo que disminuya la capacidad de detectar patrones. Adams [126] propuso un método de análisis multivariado para PGLS basado en distancias, equivalente a la

aproximación basada en covarianzas, con el cual podía analizar datos multivariados utilizando PGLS sin perder poder estadístico. Se utilizará la función *procD.pgls()* del paquete *geomorph* [10], la cual utiliza permite evaluar hipótesis de relación entre coordenadas de Procrustes alineadas (representando la forma de los especímenes) y otras variables, en un contexto filogenético y utilizando permutaciones para analizar la significancia de los resultados. Se utilizará un modelo de regresión para evaluar la relación que tiene la forma de los caracteres morfológicos en estudio con el tamaño y el grupo asignado. Además, se utilizará otro modelo de regresión para analizar si existe una relación entre tamaño de los caracteres y el grupo asignado. Para el análisis del tamaño en un contexto filogenético se utilizó el valor medio del logaritmo de los tamaños de los individuos para representar el tamaño promedio de cada especie y se analizó con la misma función *procD.pgls()* debido a que también permite analizar datos univariados. Los resultados serán comparados con los obtenidos por los métodos de análisis de morfometría geométrica utilizados en el capítulo 2 de esta tesis. Se realizó el cálculo y comparación de las tasas de variación fenotípica estimada entre grupos de especies en cada uno de los rasgos de forma en estudio según el método propuesto por Adams [127]. Este método basado en distancias es adecuado para el análisis de datos multivariados (como los datos de morfometría geométrica) cuya variación evolutiva se da un espacio multivariado. Bajo el supuesto de que la variación de rasgos se ajusta a un modelo evolutivo de movimiento Browniano (*Brownian motion*), se realiza una proyección de los datos sobre la filogenia de las especies analizadas. A partir de estos datos transformados se calculan la distancia euclideana de cada especie (representada por su dato multivariado transformado) respecto del origen de la filogenia. La sumatoria de los cuadrados de estas distancias dividida por la dimensión de los datos multivariados analizados es igual a la tasa de variación evolutiva de ese rasgo en particular.

Resultados

Análisis PGLS

Los resultados del análisis de PGLS revelaron que la variación en la forma consenso del rostro de las especies de *Aegla* en estudio está relacionada en un 52,06% con el grupo al que pertenecen ($Z = 2,68$; $p < 0,05$) y un 20,74% relacionada con el tamaño ($Z = 1,74$; $p < 0,05$) (Tabla 3.1). No se encontraron relaciones estadísticamente significativas entre la forma de los propodios (Tabla 3.2 – 3.3), dáctilos (Tabla 3.4 – 3.5) y mandíbulas (Tabla 3.6 – 3.7) con el grupo asignado a cada especie. Al analizar los

tamaños de centroide de cada estructura utilizando PGLS no se encontró una relación significativa del tamaño con el grupo asignado (“Atlántico” o “Pacífico”) a cada especie (Tabla 3.8).

Tabla 3.1 – Análisis de PGLS para las formas medias del rostro.

	GI	R²	F	Z	Valor <i>p</i>
Log (cs)	1	0,23403	4,5118	1,9065	0,037
Grupo	1	0,50661	9,7666	2,927	0,002
Residuos	5	0,25936			
Total	7				

Tabla 3.2 – Análisis de PGLS para las formas medias del propodio derecho.

	GI	R²	F	Z	Valor <i>p</i>
Log (cs)	1	0,1589	1,0150	0,2619	0,3920
Grupo	1	0,5818	0,3716	-0,8261	0,8190
Residuos	5	0,7829			
Total	7				

Tabla 3.3 – Análisis de PGLS para las formas medias del propodio izquierdo.

	GI	R²	F	Z	Valor <i>p</i>
Log (cs)	1	0,0474	0,2615	-0,9319	0,8270
Grupo	1	0,0468	0,2583	-0,9345	0,8000
Residuos	5	0,9058			
Total	7				

Tabla 3.4 – Análisis de PGLS para las formas medias del dactilo derecho.

	GI	R²	F	Z	Valor <i>p</i>
Log (cs)	1	0,1008	0,7780	-0,0219	0,5610
Grupo	1	0,2516	1,9424	1,0543	0,1380
Residuos	5	0,6476			
Total	7				

Tabla 3.5 – Análisis de PGLS para las formas medias del dactilo izquierdo.

	GI	R²	F	Z	Valor <i>p</i>
Log (cs)	1	0,1012	0,7710	-0,0448	0,5490
Grupo	1	0,2425	1,8470	0,9212	0,1890
Residuos	5	0,6563			
Total	7				

Tabla 3.6 – Análisis de PGLS para las formas medias de la mandíbula derecha.

	Gl	R²	F	Z	Valor <i>p</i>
Log (cs)	1	0,1406	0,9513	0,2470	0,3880
Grupo	1	0,1204	0,8144	0,0341	0,4740
Residuos	5	0,7390			
Total	7				

Tabla 3.7 – Análisis de PGLS para las formas medias de la mandíbula izquierda.

	Gl	R²	F	Z	Valor <i>p</i>
Log (cs)	1	0,1717	1,1841	0,4698	0,3190
Grupo	1	0,1035	0,7140	-0,0756	0,5060
Residuos	5	0,7248			
Total	7				

Tabla 3.8 – Análisis de PGLS para los tamaños promedio de los caracteres discriminados por grupos (“Atlántico” y “Pacífico”).

	Rostro	Propodio derecho	Propodio izquierdo	Dactilo derecho	Dactilo izquierdo	Mandíbula derecha	Mandíbula izquierda
Valor <i>p</i>	0,2610	0,9000	0,6720	0,9140	0,7620	0,1370	0,1400
R²	0,2165	0,0050	0,0333	0,0022	0,0144	0,3212	0,3200
F	1,6584	0,0299	0,2069	0,0134	0,0876	2,8391	2,8234
Z	0,7029	-1,1251	-0,2429	-1,3551	-0,4929	0,9225	0,9464

Cálculo de tasas de variación fenotípica

Las tasas de variación de forma calculadas para el grupo “Atlántico” fueron mayores a las calculadas para el grupo “Pacífico” en todas las estructuras analizadas (Tabla 3.9). Se puede observar que las tasas del grupo “Atlántico” varían más entre estructuras mientras que las tasas del grupo “Pacífico” poseen valores más homogéneos entre estructuras (Figura 3.2).

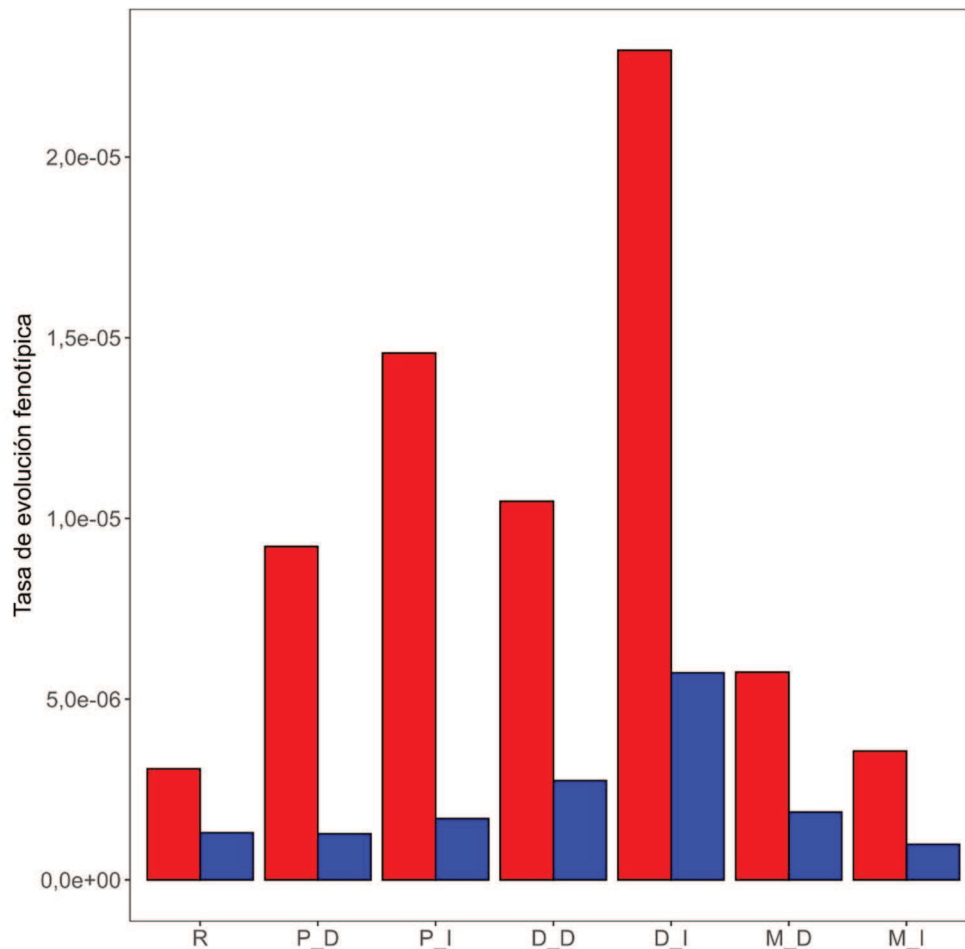


Figura 3.2 – Tasas de variación fenotípicas calculadas para los grupos “Atlántico” (barras rojas) y “Pacífico” (barras azules). Cada par de barras corresponde a uno de los siete rasgos en estudio: rostro (R); propodio derecho (P_D); propodio izquierdo (P_I); dactilo derecho (D_D); dactilo izquierdo (D_I); mandíbula derecha (M_D); mandíbula izquierda (M_I).

La comparación de las tasas de variación correspondientes a la variación de forma del rostro entre grupos reveló que la tasa para el grupo “Atlántico” es 2,36 veces mayor a la calculada del grupo “Pacífico”. Sin embargo, el método de simulación reveló que esta diferencia no es estadísticamente significativa. El análisis de las tasas de variación correspondientes a la forma de los propodios mostro que las tasas del grupo “Atlántico” son considerablemente mayores a las calculadas para el grupo “Pacífico” para ambos propodios, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Los resultados obtenidos al analizar las tasas de variación de forma de los dactilos y mandíbulas mostraron que las tasas del grupo “Atlántico” son mayores y significativamente diferentes ($p < 0,05$) respecto de las tasas del grupo “Pacífico” en ambos casos.

Tabla 3.9 Análisis de la comparación de tasas de variación fenotípica para las formas medias de los caracteres discriminados por grupos (“Atlántico” y “Pacífico”).

	Rostro	Propodio derecho	Propodio izquierdo	Dactilo derecho	Dactilo izquierdo	Mandíbula derecha	Mandíbula izquierda
Valor p	0,1003	0,0001	0,0001	0,0098	0,0152	0,0476	0,0164
Z	1,4184	4,9163	5,2806	2,9059	2,6585	1,9493	2,6230
Razón de tasas	2,3568	7,2232	8,6118	3,8141	4,0074	3,0592	3,6195
Tasa “Atlántico”	3,07E-06	9,22E-06	1,46E-05	1,05E-05	2,29E-05	5,75E-06	3,57E-06
Tasa “Pacífico”	1,30E-06	1,28E-06	1,69E-06	2,75E-06	5,72E-06	1,88E-06	9,86E-07

Discusión

En este trabajo se seleccionaron, además del caparazón, otras estructuras que están expuestas a presiones ambientales selectivas directas o indirectas. De acuerdo con Glaessner [128], la mayoría de las diferencias evolutivas en el caparazón de los crustáceos decápodos ocurrieron en áreas relacionadas con otras estructuras con funciones sensitivas y tróficas (mandíbulas, maxilares, maxilípedos, entre otras). Las poblaciones en entornos cambiantes pueden experimentar una combinación de selección estabilizante y direccional. Por lo tanto, la velocidad y los patrones de variabilidad pueden evolucionar como respuesta a entornos que cambian aleatoriamente [129] [130] [131] [132].

Los métodos comparativos filogenéticos permiten analizar las relaciones entre diferentes variables (tamaño, forma, grupos, etc.) controlando la influencia de las relaciones filogenéticas entre las especies [133]. Teniendo en cuenta estas relaciones entre las especies de *Aegla* a la hora de realizar comparaciones de forma y tamaño entre los grupos “Atlántico” y “Pacífico”, se encontraron diferencias con los resultados presentados en el Capítulo 2 de esta tesis.

El análisis del rostro de las especies de *Aegla*, utilizando PGLS, reveló que existe una fuerte relación ($R^2 = 0,5066$; $p < 0,05$) entre la forma y el grupo al que pertenece. Este resultado concuerda con lo obtenido en el Capítulo 2, donde puede verse una clara separación entre la forma de rostro de los especímenes de cada grupo (Figura 2.7). Además, se encontró una relación significativa entre la forma del rostro y el tamaño ($R^2 = 0,2340$, $p < 0,05$), la cual podría ser explicada con la tendencia a la reducción del largo

del rostro y el ancho de la frente que presentan los aéglicos, siendo esto un mecanismo de adaptación a la vida a diferentes sustratos [29] [72] [73]. Por lo tanto, intrínsecamente, la variación del rostro en los aéglicos podría deberse a un proceso de selección actuando sobre estructuras sensitivas y tróficas las cuales se encuentran asociadas a la región anterior del caparazón [134].

Al analizar la forma consenso de propodios, dactilos y las mandíbulas utilizando PGLS no se encontró una relación significativa con el grupo de cada especie. Si bien los resultados de este análisis en el Capítulo 2 mostraron diferencias significativas de forma entre grupos, los análisis de PCA mostraron que existe solapamiento de individuos al considerar los grupos en la forma de los propodios (Capítulo 2: Figura 2.13-2.19), dactilos (Capítulo 2: Figura 2.25-2.31) y mandíbulas (Capítulo 2: Figura 2.37-2.43). Debido a que estos rasgos están involucrados en funciones biológicas tales como actividades sexuales, manipulación de alimento y confrontaciones agonísticas [54] [69] estarían sujetos a diferentes presiones selectivas, determinando así distintos patrones de variación, por lo tanto, al controlar el efecto de las relaciones filogenéticas entre las especies encontramos que no existe una relación entre la forma y la asignación a los grupos “Atlántico” y “Pacífico”. En el caso de los propodios, el dactilo izquierdo y las mandíbulas, esto puede verse en los fenogramas correspondientes al análisis de clustering jerárquico realizados en el capítulo precedente, donde las formas consenso de cada especie de *Aegla* no forman patrones de agrupamientos correspondientes a la clasificación “Atlántico” y “Pacífico”. En el caso del dactilo derecho donde el análisis de clustering resultó en una agrupación de las formas consenso similar al obtenido en el rostro (Figura 2.28), se observó un nivel de relación entre el grupo y la forma mayor que en el resto de las estructuras, aunque el análisis de PGLS no fue estadísticamente significativo ($R^2 = 0.25$).

Al analizar el tamaño promedio en todas las estructuras de los especímenes *Aegla* podemos observar que no existe una relación significativa entre el tamaño y los grupos “Atlántico” y “Pacífico”. Los resultados de la variación de tamaño discriminado por especies en el rostro y en las mandíbulas obtenidos en el Capítulo 2 nos muestran un patrón similar a la filogenia donde las especies “más antiguas” poseen un tamaño mayor respecto de las especies “más recientes”, esto puede verse reflejado en el nivel de correlación entre la variable tamaño y los grupos calculado en el análisis de PGLS (>20%). En el caso de los propodios y dactilos el nivel de correlación calculado es considerablemente pequeño, concordando con los resultados obtenidos en el Capítulo 2.

Las tasas de variación fenotípica calculadas para las especies del grupo “Atlántico” fueron mayores que las calculadas para los especímenes del grupo “Pacífico” en todos los rasgos analizados. Existen dos hipótesis de colonización y dispersión de los aeglidos: de este a oeste [36] y de oeste a este [30]. Los que plantean, en base a la evidencia molecular, una radiación oeste-este, rechazan la propuesta de Ringuelet [29] sobre la ingesión del ancestro de los aeglidos por el Río de la Plata, sugiriendo que los ancestros marinos de los aeglidos ingresaron a América del Sur desde el océano Pacífico, adaptándose a los ambientes de agua dulce y dispersándose por todo el territorio [30]. Los registros fósiles de posibles ancestros de *Aegla* hallados en sedimento marino en México (*Protaegla minuscula*) y Nueva Zelanda (*Haumuriaegla glaessneri*) dan soporte a la hipótesis de colonización soportada por la evidencia molecular, sugiriendo que estas especies ancestrales podrían haber alcanzado las costas de América del Sur por el oeste, favorecidas por las corrientes marinas [135] [136]. Siguiendo la propuesta de ingesión de estos cangrejos desde el Pacífico, podemos pensar que las especies de *Aegla* más ancestrales ubicadas en la zona cordillerana realizaron una transición biogeográfica hacia ambientes diferentes haciendo que sus tasas de variación fenotípica aumentaran [137]. A partir de estas diferencias en la dinámica evolutiva de estas especies de *Aegla* podríamos considerar a los grupos “Atlántico” y “Pacífico” como grupos evolutivos. Sin embargo, esta hipótesis debería evaluarse incluyendo más especies de *Aegla* para poder representar de manera más completa las relaciones filogenéticas del género.

Al analizar las diferencias de tasas de variación en cada estructura en particular encontramos diferentes resultados. En el caso del rostro, no se encontraron diferencias significativas en las tasas de variación fenotípica entre grupos. Este escenario puede ser posible debido a que la forma del caparazón en los crustáceos es una estructura evolutivamente estable [138] pero responde a variaciones de hábitat, tales como altitud o condiciones hidrológicas [139]. Se encontraron diferencias significativas en las tasas de variación fenotípica entre grupos en los propodios y los dactilos, siendo la tasa de variación para el grupo “Atlántico” considerablemente mayor que la tasa del grupo “Pacífico” en ambos quelípedos. Los propodios son considerados órganos multifuncionales [140] [141], por lo tanto, se verían afectados por una mayor cantidad de presiones selectivas haciendo que sus tasas de variación sean más altas [115]. En el caso de las mandíbulas se encontraron diferencias significativas en las tasas de variación entre grupos. Estos resultados no concuerdan con el hecho de que los aeglidos son considerados omnívoros/generalistas [93] y poseen una morfología de mandíbula conservativa entre sus especies, a diferencia de lo observado en otras

familias de decápodos [47] [142]. La similitud en la forma de las mandíbulas supondría que las tasas de variación fenotípicas no serían diferentes entre las especies del género *Aegla*. Este comportamiento en las tasas de variación de forma en mandíbulas se observó también en un grupo roedores generalistas que poseían morfologías similares entre sí [143]. Los autores, que utilizaron la misma metodología que en este trabajo, sugieren que la diferencia en las tasas de variación entre especies se da por la diferencia en el tiempo de divergencia de las especies, siendo las especies que divergieron más recientemente aquellas que poseen tasas de variación fenotípica mayor. Esta hipótesis concuerda con nuestro resultado ya que las especies del grupo “Atlántico” fueron las que divergieron más recientemente [30].

A partir de los resultados obtenidos podemos concluir que: (1) El análisis de la forma del rostro en especies de *Aegla*, considerando sus relaciones filogenéticas, reveló que existe una relación significativa entre este rasgo con el grupo evolutivo y con el tamaño. (2) La forma de los propodios, dactilos y mandíbulas no está relacionada significativamente con el grupo evolutivo ni con el tamaño. (3) Las tasas de variación fenotípicas calculadas fueron mayores para el grupo “Atlántico”. (4) Se encontraron diferencias significativas en las tasas de variación fenotípica en propodios, dactilos y mandíbulas entre grupos.

Conclusiones generales y perspectivas a futuro

Los métodos de análisis de la morfometría geométrica permitieron caracterizar de manera adecuada la forma del rostro, propodios y mandíbulas de los especímenes de *Aegla* estudiados en esta tesis. El método de análisis de la forma del dactilo propuesto en esta tesis, permitió caracterizar la forma de este rasgo y determinar que es una estructura con información valiosa para ser estudiada e incluida en los estudios sobre *Aegla*.

Las comparaciones de forma de los propodios, dactilos y mandíbulas entre especímenes adultos y juveniles de *Aegla uruguayana* permitieron dilucidar patrones de variación ontogenéticos, obteniendo resultados coincidentes con trabajos de otros autores que utilizaron otros métodos de análisis y también resultados novedosos que surgieron en el marco de esta tesis.

Desde un punto de vista interespecífico, los resultados del análisis de la forma del rostro de las especies argentinas de *Aegla* corroboraron la hipótesis de grupo geográfico planteada por otros autores. El resto de las estructuras analizadas no presentaron un patrón de variación coincidente con el grupo geográfico, sugiriendo que su forma está sujeta a diferentes presiones selectivas. En cuanto al análisis de tamaño, los resultados obtenidos a partir de los datos de rostro y mandíbulas mostraron que las especies del grupo “Pacífico” poseen un tamaño mayor que las especies del grupo “Atlántico”. Sin embargo, el análisis de tamaño de los quelípedos mostró un patrón no tan evidente, ya que algunas especies del grupo “Pacífico” poseen los dactilos y propodios más grandes, y otras, del mismo grupo, más pequeños.

La integración de los datos de forma y las relaciones filogenéticas de las especies de *Aegla* estudiadas en esta tesis permitió reevaluar los patrones de variación de forma teniendo en cuenta la historia evolutiva de estas especies. La hipótesis de grupo geográfico propuesta, como criterio de análisis, se corrobora considerando las características de forma y tamaño del rostro, y no así para el resto de las estructuras estudiadas. La utilización de los métodos comparativos filogenéticos permitió también analizar la dinámica evolutiva de cada una de las estructuras estudiadas, y si bien cada estructura presenta una dinámica evolutiva particular, los resultados obtenidos sugieren que las tasas de variación fenotípica de las especies del grupo “Atlántico” fueron mayores respecto de las especies del grupo “Pacífico”. Este resultado coincide con el proceso de dispersión que ocurrió en los aéglicos.

A futuro se pretende continuar con el estudio de las dinámicas y mecanismos evolutivos a partir del estudio de las características de variación fenotípica de cangrejos de agua dulce del género *Aegla*. Para ello se tendrán en cuenta las siguientes sugerencias:

- Ampliar el número de especies a analizar, para lograr una mayor representación de la variación de forma del género *Aegla*.
- Utilizar otras configuraciones de landmarks u otros métodos de caracterización de forma, como contornos o semi-landmarks, en las estructuras analizadas en este trabajo.
- Analizar la influencia de la filogenia en la variación de forma de los rasgos estudiados utilizando métodos para evaluar señal filogenética.

Bibliografía

- [1] M Ridley (2003) Part 4 - Species Concepts and Intraspecific Variation En: Evolution, 3rd Edition, Blackwell Publishing Ltd, Australia, p. 786.
- [2] ML Zelditch, DL Swiderski, HD Sheets, WL Fink (2012) Part 1 – Introduction En: Geometric morphometrics for biologists: a primer, Elsevier Academic Press San Diego, p. 457.
- [3] E Mayr, PD Ashlock (1991) Some steps in comparative biology En: Principles of systematic zoology, NewYork: MacGraw Hill, p. 396.
- [4] WJ Bock, (1999) Functional and evolutionary explanations in morphology. Netherlands Journal of Zoology 49(1): 45-65.
- [5] G Tessier (1960) Relative growth. En: The physiology of the Crustacea, Waterman, T. H. (ed.), Academic Press, New York, p. 537-560.
- [6] LR Monteiro, SF dos Reis (1999) Principios de morfometria geométrica. Holos Ed., Riberão Preto, 198 pp.
- [7] IL Dryden, KV Mardia (1998) The Statistical Analysis of Shape Data. Biometrika 76(2): 281–376.
- [8] CP Klingenberg (2011) MorphoJ: An integrated software package for geometric morphometrics. Molecular Ecology Resources 11(2): 353–357.
- [9] FJ Rohlf (2015). The tps series of software. Hystrix 26(1): 1–4.
- [10] D Adams, M Collyer, A Kaliontzopoulou (2020) “Geomorph: Software for geometric morphometric analyses. R package version 3.3.1.” <https://cran.r-project.org/package=geomorph>.
- [11] S Schlager (2017) Morpho and Rvcg–Shape Analysis in R: R-Packages for geometric morphometrics, shape analysis and surface manipulations. Statistical shape and deformation analysis: 217-256.
- [12] V Bonhomme, S Picq, C Gaucherel, J Claude (2014). Momocs: Outline Analysis Using R. Journal of Statistical Software 56(13): 1 - 24.
- [13] DD Kassam, DC Adams, M Hori, K Yamaoka (2003) Morphometric analysis on ecomorphologically equivalent cichlid species from Lakes Malawi and Tanganyika. Journal of Zoology 260: 153-157.

- [14] SF dos Reis, LC Duarte, LR Monteiro, FJ Von Zuben (2002a). Geographic variation in cranial morphology in *Thrichomys apereoides* (Rodentia: Echimyidae). I. Geometric descriptors and patterns of variation in shape. *Journal of Mammalogy* 83: 333-344.
- [15] SF dos Reis, LC Duarte, LR Monteiro, FJ Von Zuben (2002b) Geographic variation in cranial morphology in *Thrichomys apereoides* (Rodentia: Echimyidae). II. Geographic units, morphological discontinuities, and sampling gaps. *Journal of Mammalogy* 83: 345-353
- [16] LR Monteiro (1999) Multivariate regression models and geometric morphometrics: the search for causal factors in the analysis of shape. *Systematic Biology* 48(1):192-199
- [17] M Corti, M Aguilera, E Capanna (2001) Size and shape changes in the skull accompanying speciation of South American spiny rats (Rodentia: *Proechimys spp.*). *Journal of Zoology* 253(4): 537-547.
- [18] CP Klingenberg, M Barluenga, A Meyer (2003) Body shape variation in cichlid fishes of the *Amphilophus citrinellus* species complex. *Biological Journal of the Linnean Society* 80: 397-408.
- [19] WU Blanckenhorn, C Morf, C Mühlhäuser, T Reusch (1999). Spatiotemporal variation in selection on body size in the dung fly *Sepsis cynipsea*. *Journal of Evolutionary Biology* 12(3): 563-576.
- [20] JH Brown, JF Gillooly, AP Allen, VM Savage, GB West (2004) Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology* 85: 1771–1789.
- [21] BL Li, VG Gorshkov, AM Makarieva (2004) Energy partitioning between different-sized organisms and ecosystem stability. *Ecology* 85: 1811–1813.
- [22] AM Makarieva, VG Gorshkov, BL Li (2005a) Biochemical universality of living matter and its metabolic implications. *Funct. Ecol.* 19: 547–557.
- [23] PA Collins, F Giri, V Williner (2011) Biogeography of the freshwater decapods in the La Plata Basin, South America. *Journal of Crustacean Biology* 31(1): 179-191.
- [24] G Bond-Buckup, L Buckup, (1994) A familia Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura). *Arquivos de Zoologia* 32(4):159-346.
- [25] WL Schmitt (1942) The species of *Aegla*, endemic South American freshwater crustaceans. *Proceedings of the United States National Museum* 91(3132): 431- 520.
- [26] JW Martin, LG Abele (1988) External morphology of the genus *Aegla* (Crustacea: Anomura: Aeglidae). *Smithsonian Contributions to Zoology* 453: 1-46.

- [27] R Ringuelet (1948a) Los “cangrejos” argentinos del género *Aegla* de Cuyo y la Patagonia. Revista del Museo de La Plata (N. S.) Zoología 5(34): 297-347.
- [28] AE Ortmann (1902) The geographical distribution of freshwater decapods and its bearing upon ancient geography. Proceedings of the American Philosophical Society 41(171): 267-400.
- [29] R Ringuelet (1949a) Consideraciones sobre las relaciones filogenéticas entre las especies del género *Aegla* Leach (Decápodos Anomuros). Notas del Museo de La Plata Zoología 14(120): 111-118.
- [30] M Pérez-Losada, G Bond-Buckup, CG Jara, KA Crandall (2004) Molecular systematics and biogeography of the southern South american freshwater “crabs” *Aegla* (decapoda: Anomura: Aeglidae) using multiple heuristic tree search approaches. Systematic Biology 53(5): 767–780.
- [31] ME D'Amato, D Corach (1997) Highly repetitive DNA sequences unique to Aeglidae (Anomura). Journal of Crustacean Biology 17: 184-191.
- [32] M Pérez-Losada, CG Jara, G Bond-Buckup, ML Porter, KA Crandall (2002) Anomuran Phylogenetic relationships: on the taxonomic positiosing of Aeglidae freshwater crabs. Journal of Crustacean Biology 22(3):670-676.
- [33] J Xu, M Pérez-Losada, CG Jara, KA Crandall (2009) Pleistocene glaciation leaves deep signature on the freshwater crab *Aegla alacalufi* in Chilean Patagonia. Molecular Ecology 18(5):904-918.
- [34] BR Barber, J Xu, M Pérez-Losada, CG Jara, KA Crandall (2012) Conflicting evolutionary patterns due to mitochondrial introgression and multilocus phylogeography of the patagonian freshwater crab *Aegla neuquensis*. PLoS ONE 7(6): e37105.
- [35] F Giri, G Ojeda, E Rueda, P Amavet, V Williner, PA Collins (2014) Population genetic structure of the freshwater anomuran *Aegla uruguayana* Schmitt, 1942 (Decapoda, Aeglidae) in the central region of Argentina. Crustaceana 87(4):414-429.
- [36] JJ Morrone, EC Lopretto (1994) Distributional patterns of freshwater Decapoda (Crustacea: Malacostraca) in southern South America: a panbiogeographic approach. Journal of Biogeography 21: 97-109.
- [37] JJ Morrone (1996) On the geographical distribution of the species of *Aegla* Leach: identification of areas of endemism (Decapoda: Aeglidae). Biogeographica 72(3): 113-119.

- [38] BL Zimmermann, MS Crivellaro, CB Hauschild, ML Bartholomei-Santos, KA Crandall, M Pérez-Losada, F Giri, P Collins, S Santos (2018) Phylogeography reveals unexpectedly low genetic diversity in a widely distributed species: the case of the freshwater crab *Aegla platensis* (Decapoda: Anomura). *Biological Journal of the Linnean Society* 123(3): 578–592.
- [39] F Giri, A Loy (2008) Size and shape variation of freshwater crabs in Argentinean Patagonia: the influence of sexual dimorphism, habitat and species interactions. *Journal of Crustacean Biology* 28(1): 37-45.
- [40] EM Barría, CG Jara, RD Sepúlveda (2011). Morphologic Variation in *Aegla* Leach (Decapoda: Reptantia: Aeglidae) from Central-Southern Chile: Interspecific Differences, Sexual Dimorphism, and Spatial Segregation. *Journal of Crustacean Biology* 31(2): 231–239.
- [41] AB Marchiori, ML Bartholomei-Santos, S. Santos (2014) Intraspecific variation in *Aegla longirostri* (Crustacea: Decapoda: Anomura) revealed by geometric morphometrics: evidence for ongoing speciation? *Biological Journal of the Linnean Society* 112(1): 31-39.
- [42] F Giri, PA Collins (2014) Clinal variation in carapace shape in the South American freshwater crab, *Aegla uruguayana* (Anomura: Aeglidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 113(4): 914-930.
- [43] MS Rosenberg (2002) Fiddler crab claw shape variation: A geometric morphometric analysis across the genus *Uca* (Crustacea: Brachyura: Ocypodidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 75(2): 147–162.
- [44] JG Agnew (2008) Dactyls reveal evolutionary patterns in decapod crustaceans. LSU Doctoral Dissertations 94.
- [45] BE Felgenhauer, LG Abele (1983) Phylogenetic relationships among shrimp-like decapods. En: *Crustacean phylogeny*, FR Schram (ed.), p 291–311.
- [46] RT Bauer (2004) Remarkable shrimps: adaptations and natural history of the carideans. *Animal natural history series*, vol. 7. Norman: University of Oklahoma Press.
- [47] CW Ashelby, S de Grave, ML Johnson (2015) Preliminary observations on the mandibles of palaemonoid shrimp (Crustacea: Decapoda: Caridea: Palaemonoidea). *PeerJ*, 2015(3).
- [48] A Trevisan, MZ Marochi, M Costa, S Santos, S Masunari (2012). Sexual dimorphism in *Aegla marginata* (Decapoda: Anomura). *Nauplius* 20(1): 75-86.

- [49] JS Huxley, G Tessier (1936) Terminology of relative growth. *Nature* 137: 780-781.
- [50] A Shingleton (2010) Allometry: The Study of Biological Scaling. *Nature Education Knowledge*, 3(10): 2.
- [51] M Mura, F Orrù, A Cau (2005) Size at Sexual Maturity of the Spider Crab *Anamathia rissoana* (Decapoda: Majoidea) from the Sardinian Sea. *Journal of Crustacean Biology* 25 (1): 110–115.
- [52] Mantel, S. K., & Dudgeon, D. (2005). Reproduction and sexual dimorphism of the palaemonid shrimp *Macrobrachium hainanense* in Hong Kong streams. *Journal of Crustacean Biology* 25(3): 450-459.
- [53] R Biagi, F Mantelatto (2006) Relative Growth and Sexual Maturity of the Hermit Crab *Paguristes erythrops* (Anomura, Diogenidae) from South Atlantic. *Hydrobiologia* 559: 247.
- [54] VE Viau, LS López Greco, G Bond-Buckup, EM Rodríguez (2006) Size at the onset of sexual maturity in the anomuran crab, *Aegla uruguayana* (Aeglidae). *Acta Zoologica*, 87(4): 253–264.
- [55] W Rodrigues, NJ Hebling (1978) Estudos biológicos em *Aegla perobae*, 1977 (Decapoda, Anomura). *Revista Brasileira de Biologia*, Rio de Janeiro 38: 383-390.
- [56] AAP Bueno, G Bond-Buckup. 1996. Os estágios juvenis iniciais de *Aegla violacea* Bond-Buckup & Buckup (Crustacea, Anomura, Aeglidae). *Nauplius* 4: 39–47
- [57] EAFMO Teodósio, S Masunari, S. (2007). Description of first two juvenile stages of *Aegla schmitti* Hobbs III, 1979 (Anomura: Aeglidae). *Nauplius* 15(2): 73-80.
- [58] C Förster, JA Baeza, J. A. (2001). Active brood care in the anomuran crab *Petrolisthes violaceus* (Decapoda: Anomura: Porcellanidae): grooming of brooded embryos by the fifth pereopods. *Journal of Crustacean Biology* 21(3): 606-615.
- [59] DA Francisco, SL Bueno, TC Kihara (2007). Description of the first juvenile of *Aegla franca* Schmitt, 1942 (Crustacea, Decapoda, Aeglidae). *Zootaxa* 1509(1): 17-30.
- [60] JCB Moraes, SL Bueno (2013). Description of the newly-hatched juvenile of *Aegla paulensis* (Decapoda, Anomura, Aeglidae). *Zootaxa* 3635(5): 501-519.
- [61] PA Collins, F Giri, V Williner (2008) Sexual maturity and ontogenetic shape variations in the freshwater anomuran crab, *Aegla uruguayana* (decapoda, aeglidae). *Invertebrate Reproduction and Development* 52(1–2): 113–119.

- [62] F Giri, PA Collins (2004) A geometric morphometric analysis of two sympatric species of the family Aeglidae (crustacea, decapoda, anomura) from the La Plata basin. Italian Journal of Zoology 71(1): 85–88.
- [63] AAP Bueno, G Bond-Buckup (2000) Dinámica populaciona de *Aegla platensis* Schmitt (Crustacea, Decapoda, Aeglidae). Revista Brasileira de Zoologia 17: 43–49.
- [64] PM Hopkins (1993) Regeneration of walking legs in the fiddler crab *Uca pugilator*. American Zoologist: 33348-356.
- [65] PM Hopkins, AK Chung, DS Durica (1999) Limb regeneration in the fiddler crab, *Uca pugilator*: histological, physiological and molecular considerations. American Zoologist 39(3): 513-526.
- [66] MS Rosenberg (1997) Evolution of shape differences between the major and minor chelipeds of *Uca pugnax* (Decapoda: Ocypodidae). Journal of Crustacean Biology 17(1): 52-59.
- [67] D Kozub, V Khmelik, Y Shapoval, V Chentsov, S Yatsenko, B Litovchenko, V Starykh (2020). Helicon Focus Software 7.6.4 VERSION DE PRUEBA, <https://www.heliconsoft.com/>. Fecha último acceso: 23/11/2020.
- [68] A Garm, JT Høeg (2000) Functional mouthpart morphology of the squat lobster *Munida sarsi*, with comparison to other anomurans. Marine Biology 137: 123.
- [69] P Mariappan, C Balasundaram, B Schmitz (2000) Decapod crustacean chelipeds: An overview. Journal of Biosciences 25(3): 301–313.
- [70] LS López Greco, V Viau, M Lavolpe, G Bond-Buckup, EM Rodriguez (2004). Juvenile hatching and maternal care in *Aegla uruguayana* (Anomura, Aeglidae). Journal of Crustacean Biology 24(2): 309-313.
- [71] HM Lizardo-Daudt, G Bond-Buckup (2003) Morphological aspects of the embryonic development of *Aegla platensis* (Decapoda, Aeglidae). Crustaceana 76(1): 13-26.
- [72] LU Hepp, R Fornel, RM Restello, A Trevisan, S Santos (2012) Intraspecific Morphological Variation in a Freshwater Crustacean *Aegla plana* in Southern Brazil: Effects of Geographical Isolation on Carapace Shape, Journal of Crustacean Biology 32 (4): 511–518.
- [73] JB Losos (2010) Adaptive Radiation, Ecological Opportunity, and Evolutionary Determinism. The American Naturalist 175 (6): 623-639.

- [74] A Trevisan, S Santos (2012) Morphological Sexual Maturity, Sexual Dimorphism and Heterochely in *Aegla manuinflata* (Anomura), Journal of Crustacean Biology 32 (4): 519–527.
- [75] S Santos, G Bond-Buckup, M Pérez-Losada, M Bartholomei-Santos, L Buckup (2009) *Aegla manuinflata*, a new species of freshwater anomuran (Decapoda: Anomura: Aeglidae) from Brazil, determined by morphological and molecular characters. Zootaxa 2088(1): 31–40.
- [76] S Santos, G Bond-Buckup, L Buckup, M Pérez-Losada, M Finley, KA Crandall (2012) Three new species of *Aegla* (Anomura) freshwater crabs from the upper uruguay river hydrographic basin in Brazil. Journal of Crustacean Biology 32(4): 529–540.
- [77] Pigliucci, M (2001) Chapter 6 – The Developmental Biology of Phenotypic Plasticity En: Phenotypic plasticity: Beyond nature and nurture. The John Hopkins University Press, Baltimore, 328 pp.
- [78] P Alberch, SJ Gould, GF Oster, DB Wake (1979). Size and shape in ontogeny and phylogeny. Paleobiology 5(3): 296-317.
- [79] JCB Moraes, M Tavares, Bueno SL (2017). Taxonomic review of *Aegla marginata* Bond-Buckup & Buckup, 1994 (Decapoda, Anomura, Aeglidae) with description of a new species. Zootaxa 4323: 519–533.
- [80] KV Mardia, Bookstein FL, and Moreton IJ (2000) Statistical assessment of bilateral symmetry of shape. Biometrika 87: 285-300.
- [81] CP Klingenberg, M. Barluenga, and A. Meyer (2002) Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. Evolution 56: 1909-1920.
- [82] AJ Izenman (2008) Chapter 12 - Cluster Analysis. En: Modern Multivariate Statistical Techniques. Springer, New York, NY, 2013. p. 407-408.
- [83] MI Zelditch, DL Swiderski, HD Sheets (2012) Chapter 10: Ecological and Evolutionary Morphology. En Geometric morphometrics for biologists: a primer. Academic Press, 2 edition, p. 290-293.
- [84] A Rambaut (2012). FigTree v1.4.4, <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>. Fecha último acceso: 18/12/2019.
- [85] T Lenormand (2002) Gene flow and the limits to natural selection. Trends in Ecology & Evolution, 17 (4): 183-189.

- [86] JG Kingsolver, DW Pfennig, MR Servedio (2002) Migration, local adaptation, and the evolution of plasticity. *Trends in Ecology and Evolution* 17(12): 540-541.
- [87] SE Sultan, HG Spencer, H. G (2002) Metapopulation structure favors plasticity over local adaptation. *American Naturalist* 160: 271-283.
- [88] M Devercelli, P Scarabotti, G Mayora, B Schneider, F Giri (2016). Unravelling the role of determinism and stochasticity in structuring the phytoplanktonic metacommunity of the Paraná River floodplain. *Hydrobiologia* 764(1): 139-156.
- [89] AB Marchiori, R Fornel, S Santos (2015). Morphometric variation in allopatric populations of *Aegla platensis* (Crustacea: Decapoda: Anomura): possible evidence for cryptic speciation. *Zoomorphology* 134(1): 45-53
- [90] AAP Bueno & G Bond-Buckup (2004) Natural diet of *Aegla platensis* Schmitt and *Aegla ligulata* Bond-Buckup & Buckup (Crustacea, Decapoda, Aeglidae) from Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensia* 16: 115–27
- [91] V Williner (2007) Ecología trófica de poblaciones de especies de la familia Aeglidae en la Argentina. Tesis de doctorado, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.
- [92] V Williner (2010) Foregut ossicles morphology and feeding of the freshwater anomuran crab *Aegla uruguayana* (Decapoda, Aeglidae). *Acta Zoologica* 91(4): 408–415.
- [93] P Collins (2019) Chapter 4 - Trophic Ecology. En: *Aeglidae: Life History and Conservation Status of Unique Freshwater Anomuran Decapods* (Vol. 19), S Santos & SL de Siqueira Bueno (eds.), CRC Press, p. 102-103.
- [94] G Bond-Buckup, L Buckup (1994) A familia Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura). *Arquivos de Zoologia* 32: 159–347.
- [95] R Ringuelet (1948b) Una nueva *Aegla* del nordeste argentino (Decapoda, Anomura). *Notas del Museo de La Plata Zoología* 13: 203-208.
- [96] F Sardà, C Costa (2005) A morphological approach for relating decapod crustacean cephalothorax shape with distribution in the water column. *Marine Biology* 147(3): 611-618.
- [97] LJ Revell (2010) Phylogenetic signal and linear regression on species data. *Methods in Ecology and Evolution* 1: 319-329.
- [98] E Paradis (2014) Chapter 1 - An Introduction to the Phylogenetic Comparative Method En: *Modern phylogenetic comparative methods and their application in*

evolutionary biology. LZ Garamszegi (ed.), Concepts Pract, London, UK. Springer, p. 553.

[99] J Felsenstein (1985) Phylogenies and the Comparative Method. The American Naturalist 125 (1): 1-15.

[100] A Grafen (1989) The phylogenetic regression. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences 326 (1233): 119-157.

[101] M Lynch (1991) Methods for the analysis of comparative data in evolutionary biology. Evolution 45(5): 1065-1080.

[102] M Pagel (1994) Detecting correlated evolution on phylogenies: a general method for the comparative analysis of discrete characters. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences 255(1342): 37-45.

[103] A Grafen, M Ridley (1997) Non-independence in statistical tests for discrete cross-species data. Journal of theoretical biology 188(4): 507-514.

[104] SA Price, R Holzman, TJ Near, PC Wainwright (2011) Coral reefs promote the evolution of morphological diversity and ecological novelty in labrid fishes. Ecology Letters 14: 462–469.

[105] DC Collar, JA II Schulte, JB Losos (2011) Evolution of extreme body size disparity in monitor lizards (*Varanus*). Evolution, 65, 2664–2680.

[106] B Fréedérich, L Sorenson, F Santini, GJ Slater, ME Alfaro (2013) Iterative ecological radiation and convergence during the evolutionary history of damselfishes (Pomacentridae). The American Naturalist 181: 94–113.

[107] DL Mahler, T Ingram, LJ Revell, JB Losos (2013) Exceptional convergence on the macroevolutionary landscape in island lizard radiations. Science 341: 292–295.

[108] SC Faria, RD Klein, PG Costa, MS Crivellaro, S Santos, SLDS Bueno, A Bianchini (2018) Phylogenetic and environmental components of inter-specific variability in the antioxidant defense system in freshwater anomurans *Aegla* (Crustacea, Decapoda). Scientific Reports 8(1): 1–12.

[109] B Sidlauskas (2008) Continuous and Arrested Morphological Diversification in Sister Clades of Characiform Fishes: a phylomorphospace approach. Evolution 62(12): 3135–3156.

[110] PD Gingerich (2009) Rates of Evolution. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 40(1): 657-675.

- [111] DL Mahler, LJ Revell, RE Glor, JB Losos (2010) Ecological opportunity and the rate of morphological evolution in the diversification of Greater Antillean Anoles. *Evolution* 64:2731–2745.
- [112] LJ Harmon, JAS II, A Larson, JB Losos (2003) Tempo and mode of evolutionary radiation in Iguanian lizards. *Science* 301:961–964.
- [113] RA Martin, DW Pfennig (2011) Evaluating the targets of selection during character displacement. *Evolution: International Journal of Organic Evolution* 65(10): 2946-2958.
- [114] J Kłaczko, T Ingram, J Losos (2015) Genitals evolve faster than other traits in Anolis lizards. *Journal of Zoology* 295(1): 44-48.
- [115] N Cooper & A Purvis (2009) What factors shape rates of phenotypic evolution? A comparative study of cranial morphology of four mammalian clades. *Journal of Evolutionary Biology* 22(5): 1024–1035.
- [116] GG Simpson (1953) Chapter 3: Variation. En: *The major features of evolution*, p 434.
- [117] T Dayan, D Simberloff (2005) Ecological and communitywide character displacement: the next generation. *Ecology Letters* 8: 875–894.
- [118] D de Mazancourt, E Johnson, TG Barraclough (2008) Biodiversity inhibits species' evolutionary responses to changing environments. *Ecology Letters* 11: 380–388
- [119] D Schluter (2000) Chapter 8 – The ecological basis of speciation. En: *The ecology of adaptive radiation*, OUP Oxford.
- [120] BC O'Meara, C Ane, MJ Sanderson, PC Wainwright (2006) Testing for different rates of continuous trait evolution using likelihood. *Evolution* 60:922–933.
- [121] LR Revell (2008) On the analysis of evolutionary change along single branches in a phylogeny. *The American Naturalist* 172:140–147.
- [122] LJ Revell, LJ Harmon (2008) Testing quantitative genetic hypotheses about the evolutionary rate matrix for continuous characters. *Evolutionary Ecology Research* 10:311–331.
- [123] DC Adams (2013) Comparing evolutionary rates for different phenotypic traits on a phylogeny using likelihood. *Systematic Biology* 62(2): 181–192.
- [124] M Pérez-Losada, G Bond-Buckup, CG Jara, KA Crandall (2009) Conservation assessment of Southern South American freshwater ecoregions on the basis of the distribution and genetic diversity of crabs from the genus *Aegla*. *Conservation Biology* 23(3): 692–702.

- [125] E Paradis, J Claude, K Strimmer (2004) APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics* 20(2): 289-290.
- [126] DC Adams (2014) A method for assessing phylogenetic least squares models for shape and other high-dimensional multivariate data. *Evolution* 68(9): 2675–2688.
- [127] DC Adams (2014) Quantifying and comparing phylogenetic evolutionary rates for shape and other high-dimensional phenotypic data. *Systematic Biology* 63(2): 166–177.
- [128] MF Glaessner (1960) The fossil decapod Crustacea of New Zealand, and the evolution of the order Decapoda. *Paleontological Bulletin, Wellington* 31: 1-63.
- [129] N Kashtan, E Noor, U Alon (2007) Varying environments can speed up evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104(34): 13711-13716.
- [130] J Draghi, GP Wagner (2008) Evolution of evolvability in a developmental model. *Evolution: International Journal of Organic Evolution* 62(2): 301-315.
- [131] M Parter, N Kashtan, U Alon (2008) Facilitated variation: how evolution learns from past environments to generalize to new environments. *PLoS computational biology* 4(11): e1000206.
- [132] N Kashtan, AE Mayo, T Kalisky, U Alon (2009) An analytically solvable model for rapid evolution of modular structure. *PLoS computational biology* 5(4): e1000355.
- [133] WA Barr, RS Scott (2014) Phylogenetic comparative methods complement discriminant function analysis in ecomorphology. *American Journal of Physical Anthropology* 153(4): 663–674.
- [134] R Lande, SJ Arnold (1983) The measurement of selection on correlated characters. *Evolution*: 1210-1226.
- [135] RM Feldmann (1984) *Haumuriaegla glaessneri* n. gen. and sp. (Decapoda; Anomura; Aeglididae) from Haumurian (Late Cretaceous) rocks near Cheviot, New Zealand. *New Zealand Journal of Geology and Geophysics* 27: 379-385.
- [136] RM Feldmann, FJ Vega, SP Applegate, GA Bishop (1998) Early Cretaceous arthropods from the Tlayúa formation at Tepexi de Rodríguez, Puebla, México. *Journal of Paleontology* 72(1): 79–90.
- [137] D Schluter (2000) Chapter 7 – Ecological opportunity. En: *The ecology of adaptive radiation*, OUP Oxford.
- [138] MJ Hopkins, CL Thurman (2010) The geographic structure of morphological variation in eight species of fiddler crabs (Ocypodidae: genus *Uca*) from the eastern United States and Mexico. *Biological Journal of the Linnean Society* 100 (1): 248–270.

- [139] A Trevisan, MZ Marochi, M Costa, S Santos, S Masunari (2016) Effects of the evolution of the Serra do Mar mountains on the shape of the geographically isolated populations of *Aegla schmitti* Hobbs III, 1979 (Decapoda: Anomura). *Acta Zoologica* 97(1): 34–41
- [140] SC Brown, S Cassuto, RW Loos (1979) Biomechanics of chelipeds in some decapod crustaceans. *Journal of Zoology* 188: 143–159.
- [141] SY Lee (1995) Cheliped size and structure: the evolution of a multifunctional decapod organ. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 193: 161–176.
- [142] EA Caine (1975) Feeding and masticatory structures of selected Anomura (Crustacea). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 18: 277–301.
- [143] S Renaud, P Chevret, J Michaux (2007) Morphological vs. molecular evolution: Ecology and phylogeny both shape the mandible of rodents. *Zoologica Scripta* 36(5): 525–535.