

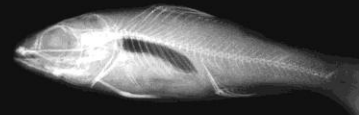
Variación
morfológica y
plasticidad fenotípica
del aparato
bucofaríngeo en dos
peces Patagónicos:
Odontesthes hatcheri

(Eigenmann, 1909)

y *Percichthys trucha*

(Cuvier & Valenciennes,
1840)

Doctorando:
Lic. Crichigno, Sonia
Director:
Dr. Cussac, Víctor
Co-Director:
Dr. Battini, Miguel



Universidad Nacional del Comahue
Centro Regional Universitario Bariloche

Índice

Índice de Abreviaturas.....	iv
Resumen	vi
Abstract.....	viii
Introducción.....	10
<i>La variación morfológica cefálica.....</i>	<i>11</i>
<i>El desarrollo y la plasticidad fenotípica.....</i>	<i>12</i>
<i>Selección divergente y pares de especies</i>	<i>15</i>
<i>Manipulaciones experimentales y magnitud de la plasticidad fenotípica.....</i>	<i>16</i>
<i>Las especies en estudio</i>	<i>17</i>
<i>Objetivos generales.....</i>	<i>23</i>
<i>Objetivos específicos.....</i>	<i>23</i>
Capítulo 1: Embriones y juveniles de <i>Odontesthes hatcheri</i>.....	25
<i>Materiales y Métodos.....</i>	<i>26</i>
<i>Variación morfológica temprana</i>	<i>26</i>
<i>Diferencias morfológicas entre hermanos recién eclosionados.</i>	<i>27</i>
<i>Variaciones morfológicas cefálicas en juveniles silvestres. Experimentos de inducción morfológica.</i>	<i>30</i>
<i>Resultados.....</i>	<i>32</i>
<i>Desarrollo embrionario</i>	<i>32</i>
<i>Diferencias morfológicas en embriones recién eclosionados</i>	<i>32</i>
<i>Variación morfológica cefálica en juveniles, experimentos de alimentación.....</i>	<i>34</i>
Capítulo 2: Juveniles y Adultos de <i>Odontesthes hatcheri</i>.....	57
<i>Materiales y Métodos.....</i>	<i>58</i>
<i>Morfología cefálica en juveniles y adultos.....</i>	<i>58</i>
<i>Efectos de la condición de cría en <i>O. bonariensis</i></i>	<i>61</i>
<i>Resultados.....</i>	<i>63</i>
<i>Diferencias inter-específicas.....</i>	<i>63</i>
<i>Variación morfológica intra-específica de <i>O. bonariensis</i></i>	<i>64</i>
Capítulo 3: Embriones y Larvas de <i>Percichthys trucha</i>	93
<i>Materiales y Métodos.....</i>	<i>94</i>
<i>Descripción del desarrollo embrionario y larval.....</i>	<i>94</i>

<i>Plasticidad fenotípica en la ontogenia temprana</i>	96
<i>Morfología experimental a partir de embriones libres recién eclosionados</i>	97
Resultados	100
<i>Descripción del desarrollo embrionario y larval</i>	100
<i>Plasticidad fenotípica en la ontogenia temprana</i>	101
<i>Morfología experimental a partir de embriones libres recién eclosionados.</i>	103
Capítulo 4: Juveniles de <i>Percichthys trucha</i>	139
<i>Materiales y Métodos</i>	140
<i>Variaciones morfológicas en juveniles</i>	140
Resultados	143
<i>Variaciones morfológicas en juveniles</i>	143
<i>Inducción de plasticidad en juveniles</i>	143
Capítulo 5: Comparación entre <i>O. hatcheri</i> y <i>P. trucha</i>	163
<i>Materiales y Métodos</i>	164
<i>Comparación inter-específica</i>	164
<i>Inducción de plasticidad en Juveniles silvestres de <i>O. hatcheri</i> y <i>P. trucha</i></i>	164
Resultados	165
<i>Comparación inter-específica</i>	165
<i>Inducción de plasticidad en juveniles silvestres de <i>O. hatcheri</i> y <i>P. trucha</i></i>	166
Discusión	181
<i>Desarrollo embrionario</i>	182
<i>Morfología en la ontogenia temprana</i>	182
<i>Canalización del fenotipo</i>	186
<i>Inducción morfológica en juveniles</i>	187
<i>La morfología de <i>P. trucha</i></i>	190
<i>Morfología cefálica en <i>Odontesthes</i> adultos</i>	193
<i>Comparación entre <i>O. hatcheri</i> y <i>P. trucha</i></i>	197
Agradecimientos	200
Bibliografía	202

Índice de Abreviaturas.

AB	Ancho de boca
AD	Análisis Discriminante
AMG	Análisis de Morfometría Geométrica
AV	Ancho del saco vitelino
ASV	Altura del saco vitelino
CENSALBA	Centro de Salmonicultura Bariloche
DO	Diámetro antero posterior del ojo
DDF	Días después de la fecundación
DE	Días después de la eclosión
FD.....	Función discriminante
HDA	Horas después de la Activación
LC	Longitud de la cabeza
LD	Longitud del dentario
LO	Longitud del ojo
LT	Longitud total
LE	Longitud estándar
LM	Longitud del maxilar
LV	Longitud del saco vitelino
P	Pareja de progenitores
PDE	Efectos combinados de pareja y días desde la eclosión
PDDF	Efecto combinado de pareja y días desde la fecundación
PW	Parcial warps

RW.....Relative warp
UTA Unidades térmicas acumuladas
TMAV Temperatura media del aire en verano
TPDDF Efectos combinados de temperatura y pareja

Resumen

El objetivo de esta tesis fue estudiar las variaciones cefálicas en dos especies nativas de la Patagonia que se encuentran ampliamente distribuidas y poseen diferentes registros de variación morfológica. Por un lado, *Percichthys trucha* una especie con gran variación morfológica documentada. Esta variación se relaciona con las longitudes de los huesos maxilar y dentario, altura de la aleta dorsal y longitud de las branquias. Por otro lado *Odontesthes hatcheri* es una especie de la cual no se ha documentado variación morfológica hasta el momento.

Se capturaron adultos reproductivos, se fecundaron los ovocitos de cada hembra con el esperma de un solo macho, por fertilización artificial, para disminuir al máximo la variación génica y trabajar con hermanos. Los huevos fueron incubados a distintas temperaturas.

Se estudió la variación morfológica de los embriones recién eclosionados, en relación a las temperaturas de incubación y cantidad de vitelo. En larvas, se estudió la variación morfológica en relación a la temperatura de incubación y desarrollo, días después de la eclosión y unidades térmicas acumuladas e inicio de la alimentación exógena.

Se capturaron individuos juveniles. Se efectuaron experimentos de inducción, de plasticidad fenotípica mediante el suministro de distintas dietas y estudios de trayectoria morfológica a través de la alimentación con una misma dieta experimental (*Tubifex*) en el tiempo.

Los adultos de *O. hatcheri* fueron capturados en 12 localidades pertenecientes a la región original de distribución de esta especie. Se tomaron fotografías de la región cefálica de

todos los individuos. El estudio de la variación morfológica cefálica se realizó con análisis de Morfometría Geométrica, digitalizando en cada imagen puntos homólogos.

Las características del desarrollo embrionario, no presentaron diferencias aparentes entre las temperaturas de incubación. En embriones libres recién eclosionados, la variación morfológica está relacionada a la curvatura del embrión sobre el saco vitelino, variando entre parejas y entre temperaturas de incubación. El tamaño del saco vitelino, varió de manera apreciable dentro de parejas y temperaturas de incubación, al momento de eclosión. Las estructuras que mostraron variación en hermanos incubados a la misma temperatura fueron las longitudes del dentario y maxilar y el diámetro del ojo. En juveniles inducimos plasticidad fenotípica, por alimentación diferencial, encontrando un alargamiento cefálico, en relación a los individuos recién capturados.

En adultos de *O. hatcheri* se encontró diversidad morfológica relacionada con la introgresión génica con *O. bonariensis*, provocada por los planes de siembra en los últimos 50 años. Asimismo, se encontró una relación entre la presunta manifestación morfológica de la integración y la distancia al lugar desde el cual se realizaban dichas siembras. Por otro lado, se verificó la relación con el contenido de clorofila a y la temperatura del agua.

Se observó en ambas especies crecimiento compensatorio con canalización del fenotipo a lo largo de la ontogenia, encontrando valores altos de variación morfológica en los embriones libres y larvas.

La plasticidad fenotípica manifestada por *P. trucha* resulta claramente explicativa de la variación morfológica observada en adultos. Llamativamente, *O. hatcheri* mostró una gran plasticidad fenotípica cefálica, no esperada en función de la diversidad morfológica de los adultos en condiciones naturales.

Abstract

The aim of this work was to study the cephalic morphological variation of two native species of Patagonia, with a wide distribution and different degrees of morphological variation. *Percichthys trucha* has a well documented morphological variation, related with upper and lower jaw length, height of the dorsal fin, and length of gill rakes. Morphological variation was not recorded for *Odontesthes hatcheri* up to date.

We capture breeding adults, fertilizing one female with one male in order to work with siblings and have low genetic variation. Eggs were incubation at different temperature. We study de morphological variation in free embryos in the hatching regarding incubation temperature and yolk amount. In larvae, we analyzed de relationship between morphology and incubation temperature, days after hatching, cumulative thermal units, and beginning of exogenous feeding.

We capture juvenile and performed experimental induction of morphology using different diets (zooplankton, *Tubifex*) and treatment times.

Adults of *O. hatcheri* were captured en 12 sites in the original distribution area. Digital images of the head were recorded. The studies of morphological variation were performed with Geometric Morphometrics, digitalized landmarks in each image.

The embryonic development did not differ between incubation temperatures. The morphological variation of free embryos at hatching was related with curvature of the embryo onto the yolk sac, with differences between parental pairs and incubation temperatures. The size of the yolk sac at hatching differed between parental pairs and incubation temperatures. The structures with more variation between siblings incubated at

the same temperature were upper and lower jaw and eye diameter. We induced phenotypic plasticity in juveniles using different diets and obtaining longer heads. Morphological variation in adult of *O. hatcheri* was related with genetic introgression with *O. bonariensis*, as a consequence of stocking programs in the last 50 years. Morphology was related with squared distance to hatcheries, and also with content of chlorophyll a and water temperature.

In both species, we observed compensatory growth with phenotypic canalization along ontogeny, with high morphological variation in free embryos and larvae.

The morphological variation observed in adult *P. trucha* was clearly explained by their phenotypic plasticity. Strikingly, *O. hatcheri* showed a big cephalic phenotypic plasticity, unexpected in the light of low adult morphological diversity observed in natural condition.

INTRODUCCIÒN



Introducción

La variación morfológica cefálica

La morfología está relacionada con todos los aspectos de la biología de un organismo (Hankinson *et al.* 2006) así como también con la función que cumple el órgano en cuestión, por lo que cambios en la morfología podrían provocar cambios en la función y organización de las estructuras de los organismos. Se entiende por morfología funcional al estudio de la forma y función de una estructura (Motta & Kotrschal 1992; Motta *et al.* 1995). Al centrarnos en la morfología funcional del aparato bucofaríngeo y/o en la forma cefálica, entramos en el campo de la ecomorfología, definida como el estudio de la relación entre los factores ambientales, bióticos y abióticos, y la forma (Motta & Kotrschal 1992).

La morfología cefálica está especialmente relacionada con el alimento consumido y éste con el uso diferencial de la zona litoral y pelágica (Hjelm *et al.* 2001; Svänback & Eklöv 2002, 2003; Wintzer & Motta 2005), entendiendo el alimento consumido por sus propiedades de forma, tamaño, dureza y la capacidad de evasión de la presa (Svänback & Eklöv 2003; Wintzer & Motta 2005) y el uso diferencial del espacio en relación con la forma del cuerpo, más o menos apropiada para facilitar la captura del alimento disponible y evadir al mismo tiempo a los depredadores (Svänback & Eklöv 2003). Distintos estudios de polimorfismo por recursos han demostrado que los individuos que ocupan la zona pelágica son más hidrodinámicos que los individuos que ocupan la zona litoral, encontrándose marcadas diferencias en la forma del cuerpo y el tamaño de la cabeza (Skúlason & Smith 1995, Heermann *et al.* 2007). Así también, en juveniles del perciforme *Perca fluviatilis* se han encontrado variaciones en la altura y longitud del cuerpo, que pueden experimentalmente relacionarse con la alimentación

(Hjelm *et al.* 2001) y, en el campo, con la preferencia de hábitat (Svanbäck & Eklöv 2002). En el salmónido *Salvelinus alpinus* (Skúlason *et al.* 1989; Malmquist *et al.* 1992; Sigursteinsdóttir & Kristjánsson 2005; Adams *et al.* 2007) y en el perciforme *Neochromis greenwoodi* (Bouton *et al.* 2002) se han visto relaciones causales entre la dieta y la morfología cefálica. Svänback & Eklöv (2003) sugieren la existencia de un equilibrio funcional entre el desempeño en ambientes alternativos y la forma general del cuerpo. Estas compensaciones pueden promover la selección natural divergente y podrían ser el mecanismo que da lugar y mantiene patrones polimórficos encontrados en el campo.

Los polimorfismos son definidos como diferencias en la morfología, fisiología, historia de vida o conducta que pueden ser vistas entre poblaciones dentro de una especie, entre los sexos o entre los tipos morfológicos de una población (Kristjánsson 2005). Éstos son fenómenos comunes en muchas especies. Se piensa que una de las principales causas de los polimorfismos son las soluciones de compromiso entre ventajas y desventajas (*trade-offs*) en la eficiencia para la alimentación a partir de los diferentes recursos (Svänback & Eklöv 2003).

El desarrollo y la plasticidad fenotípica

Existen momentos, a lo largo de la ontogenia, en los que es más factible la producción de cambios morfológicos. Balon (1990) propone que los individuos van alternando entre estados estables largos e intervalos cortos (*thresholds*) donde se introducen eventualmente los cambios. Estos cambios se pueden visualizar entre individuos, definiendo la habilidad plástica del fenotipo de cada especie (Balon 2004). Asimismo, en un ambiente perturbado de manera no predecible el generalista, con una larva pronta a dispersarse y alimentarse, tiene una mayor adecuación (*fitness*) que el especialista, adaptado a un medio predecible o no perturbado (Balon 1990). Por lo tanto,

cualquiera sea el mecanismo utilizado por la población, encontrar variaciones morfológicas entre los individuos puede ser un indicio de procesos evolutivos dentro de la misma.

La mayor parte del fenotipo, así como la historia de vida, es determinado durante la ontogenia temprana (Balon 1990). El desarrollo ocurre a lo largo del tiempo incluyendo dos procesos, el crecimiento, definido como el aumento de tamaño o cantidad de una estructura existente en un organismo, y la diferenciación (Fuiman *et al.* 1998). El desarrollo de caracteres tales como la forma del cuerpo, aletas y pigmentación está estrechamente relacionado con la conducta de alimentación y locomoción de las larvas y el desarrollo de los órganos internos (Koumoundouros *et al.* 1999), teniendo expresión en este proceso las causas genéticas y las influencias ambientales responsables de generar la variación morfológica.

Las diferencias fenotípicas tales como la forma corporal, el tamaño relativo de las mandíbulas y el número de estructuras segmentarias pueden tener causas genéticas y/o ambientales (Skúlason & Smith 1995). Estas causas pueden encontrarse operando juntas o separadas. Existen estudios de variaciones morfológicas causadas por ambas clases de factores, como las variaciones encontradas en el desarrollo muscular y el número de vértebras en relación con la temperatura del agua (Lindsey & Arnason 1981; Johnston 1993; Galloway *et al.* 1998; Hall & Johnston 2003). Del mismo modo, el polimorfismo en el número y la longitud de los rastrillos branquiales presenta bases genéticas y ambientales (Foote *et al.* 1999). En el soleido *Synaptura lusitanica* se encontraron patrones morfológicos de la forma del cuerpo que se relacionaron con análisis genéticos (Cabral *et al.* 2003). De la misma manera, en el salmónido *Salmo trutta*, se ha observado que las diferencias en la forma del cuerpo y cabeza tienen bases

genéticas, coincidentes con segregaciones espaciales encontradas en esta especie (Hermida *et al.* 2009).

La plasticidad fenotípica ha sido definida como la existencia, dentro de una población, de genotipos que exhiben variaciones fenotípicas cuando se desarrollan en ambientes diferentes (Guntrip & Sibly 1998; Balon 2004). También es definida como una propiedad del genotipo individual que permite producir distintos fenotipos cuando es expuesto a diferentes condiciones ambientales (Pigliucci 2006). Las evidencias de plasticidad fenotípica están ampliamente difundidas en peces (Balon 1990, 2004). Además, las variaciones morfológicas cefálicas usualmente incluyen fenómenos de plasticidad fenotípica (Skúlason *et al.* 1989; Malmquist *et al.* 1992; Skúlason & Smith 1995; Hjelm *et al.* 2001; Bouton *et al.* 2002; Svänback & Eklöv 2002, 2003; Wintzer & Motta 2005; Sigursteinsdóttir & Kristjánsson 2005; Adams *et al.* 2007).

Chambers & Leggett (1996) encontraron que la magnitud de la variación morfológica en peces está en gran medida relacionada con el aporte materno y además modulada por el ambiente. Los efectos maternos ocurren cuando el fenotipo de un individuo es determinado no solo por su carga genotípica y su ambiente sino también por el fenotipo y el ambiente de su madre (Wade 1998). En muchos organismos, el ambiente de la hembra podría proveer un confiable indicador de las condiciones ambientales que su progenie podría encontrar luego de la eclosión. En estos casos, el efecto materno puede incluir un mecanismo de plasticidad fenotípica “transgeneracional” (Fox *et al.* 1999), en el cual el ambiente de la madre es trasladado a las variaciones fenotípicas de la progenie. Tal mecanismo podría ser visualizado como una norma de reacción (Mousseau & Fox 1998) con implicaciones evolutivas profundas (Lindholm *et al.* 2006).

Selección divergente y pares de especies

La variación morfológica en las poblaciones de peces en lagos post-glaciares ha sido relacionada con procesos de especiación simpátrica y con la habilidad plástica del fenotipo. La divergencia natural entre especies simpátricas, ha sido referida, en peces de agua dulce, para las familias Salmonidae, Gasterosteidae y Osmeridae. Esta divergencia ha estado típicamente asociada al uso de las distintas zonas de los lagos (Taylor 1999). Esta visión supone un énfasis en la codificación génica del cambio morfológico, al tiempo que otras interpretaciones (Balon 2004) acentúan la importancia de la plasticidad. Esta dicotomía es un problema básico en la evaluación del significado evolutivo de la variación morfológica.

La selección natural divergente, en ambientes con una distribución heterogénea de recursos y suficientes oportunidades ecológicas o nichos vacantes, ocasiona combinaciones específicas de rasgos que mejoran la eficiencia de explotación del recurso. Estos procesos de diversificación morfológica pueden gradualmente transformar una población con una distribución inicial unimodal en una población con una distribución más amplia (dispersa) y eventualmente bimodal (Ruzzante *et al.* 1998). La selección natural y los factores históricos juegan un importante rol en la diversificación fenotípica, la radiación adaptativa y la especiación (Schluter 1996, 2000; Losos *et al.* 1998; Ruzzante *et al.* 2003). En Patagonia, indicios de radiación simpátrica han sido documentados en peces como *Percichthys trucha* y en menor medida en *Galaxias platei*, pero no en *Diplomystes*, *Hatcheria macraei*, *Odontesthes* o *Galaxias maculatus* (Ruzzante *et al.* 1998, 2003; Cussac *et al.* 1998; Milano *et al.* 2002, 2006; Pascual *et al.* 2007).

Manipulaciones experimentales y magnitud de la plasticidad fenotípica

Variaciones morfológicas han sido estudiadas en *Gasterosteus aculeatus* (Gasterosteiformes), que se adapta a nuevos ambientes más rápidamente de lo que podría predecirse a través de los modelos convencionales de evolución biológica (Walter & Bell 2000; Kristjánsson *et al.* 2002). Se han documentado notables reversiones morfológicas cefálicas en el perciforme *Micropterus salmoides floridanus* (Centrarchidae), las que han sido experimentalmente relacionadas con la movilidad propia del alimento consumido (Wintzer & Motta 2005). También se han inducido variaciones morfológicas cefálicas en relación al alimento consumido, plancton versus peces, en juveniles de *Perca fluviatilis* (Percidae) (Hjelm *et al.* 2001; Heermann *et al.* 2007). En la misma especie Eklöv & Svänback (2006) trabajaron con meso-cosmos en una laguna artificial, llevando juveniles de ambientes pelágicos a la zona litoral y viceversa y colocando controles de cada grupo en su zona de origen. Así, encontraron que la morfología de ambos grupos criados en la zona pelágica era semejante y que los juveniles originarios de la zona litoral consumían una mayor diversidad de categorías alimentarias que los juveniles provenientes de la zona pelágica, mostrando una gran plasticidad que le permitiría a esta especie habitar ambientes muy cambiantes. En el cíclido *Neochromis greenwoodi* se realizaron experimentos con distintos alimentos y con presencia-ausencia de depredador encontrándose respuestas fenotípicas cefálicas en relación al tipo de alimento ofrecido (Bouton *et al.* 2002). Estos resultados sugieren que el tipo de alimento consumido es importante y podría estar implicado en adaptaciones funcionales.

Las especies en estudio

En Patagonia (López *et al.* 2008) se encuentran aproximadamente 20 especies nativas, en su mayoría presentes en los ríos Colorado y Negro (Menni 2004; Pascual *et al.* 2007; Aigo *et al.* 2008). Dos de los géneros más representativos de la provincia Patagónica, tanto por su amplia distribución como por sus elevadas capturas, son *Odontesthes* y *Percichthys* (Pascual *et al.* 2007). Además, se los encuentra compartiendo los mismos ambientes dentro del área de estudio (Aigo *et al.* 2008).

Estos dos géneros han sido elegidos como objeto de estudio en este trabajo: *Percichthys* por ser un género con gran variación morfológica y *Odontesthes* a modo comparativo justamente por no haberse encontrado hasta el momento variaciones morfológicas notorias en sus poblaciones.

El género *Odontesthes* (Familia Atherinopsidae) se encuentra en América del sur, en Patagonia el registro fósil más antiguo del género *Odontesthes* está documentado para el Mioceno temprano (Cione & Báez 2007). En la región Andina están presentes los pejerreyes de agua dulce *O. hatcheri* y *O. bonariensis* (Dyer 2006). Ambas especies tienen una distribución original diferente; *O. hatcheri* en el suroeste, en las provincias Andino-Cuyana y Patagónica y *O. bonariensis* en el noreste, en la provincia Pampeana (López *et al.* 2008). Datos recientes de Sommer *et al.* (2010), señalan una relación más estrecha de *O. hatcheri* con especies marinas que con *O. bonariensis*. Probablemente, las habilidades plásticas de estos pejerreyes los han llevado a invadir y colonizar los nichos vacantes de agua dulce (Bamber & Henderson 1988). En las últimas décadas se han realizado numerosas siembras de *O. bonariensis* en la zona de distribución de *O. hatcheri* (Dyer 2006; Somoza *et al.* 2008; Amalfi 2009). Ambas especies son capaces de hibridar en cautiverio (Strüssmann *et al.* 1997a) y en la naturaleza (Amalfi 1988; Dyer 2000,2006). Además, se ha encontrado que los híbridos maduran y que la F2 es

viable sugiriendo complejos grados de introgresión génica (Strüssmann *et al.* 1997a). Conte-Grand (2012) muestreó 17 localidades dentro de la distribución original de *O. hatcheri* (Dyer 1998, 2006; Menni 2004) capturando *O. bonariensis* en las localidades norteñas e individuos intermedios en el lago Pellegrini. Si bien no existen dudas acerca del diferente status taxonómico de ambas especies (Dyer 2006), los eventos de hibridización generan un alerta sobre la identificación de los individuos. Los haplotipos de *O. hatcheri* y *O. bonariensis* muestran dos grupos monofiléticos con una diferencia promedio en sus secuencias del 7% entre grupos, mientras que las diferencias dentro de cada grupo son menores al 1 %. Esta identidad genética basada en las secuencia de citocromo b provee una identificación clara a nivel especie (G. Ortí com. pers.).

En *Odontesthes*, el desarrollo ha sido descrito por Minoprio (1944) y Chalde *et al.* (2011) fundamentalmente a nivel embrionario y por Battini (1998) a nivel larval. Información acerca del número de filamentos coriónicos y la pigmentación larval ha sido documentada por Muñiz Saavedra & Piacentino (1991) y por Guandalini *et al.* (1994). Ruiz (2002) encuentra diferencias morfológicas en relación con resultados de Gosztonyi (1988) en el Embalse Florentino Ameghino y las adjudica a las distintas tallas estudiadas. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que estudios genéticos para ese ambiente documentan la presencia de ADN mitocondrial de *O. bonariensis* (Conte-Grand 2012). La mayoría de los trabajos se refieren a la dieta de ambas especies, la cual está en relación a la talla de los individuos. Los juveniles son omnívoros y los adultos pueden llegar a ser piscívoros (Ferriz 1987; Macchi *et al.* 1999). También se han realizado trabajos de alimentación y crecimiento para los estadios tempranos de vida en *O. hatcheri* (Cervellini *et al.* 1993; Battini *et al.* 1995, 1998). En algunos ambientes originalmente sin peces, donde fueron introducidas las especies de *Odontesthes*, se ve acentuada la eurifagia, probablemente como consecuencia del cambio provocado en el

ecosistema por una alimentación inicialmente zooplanctónica (Grosman & Rudzik 1990; Grosman 1993; Ruiz 2002; Reissig *et al.* 2006). Asimismo, se han realizado estudios relativos a la dependencia térmica en la determinación del sexo (Strussman & Patiño 1995; Strussman *et al.* 1996, 1997, 2010). Estudios recientes sobre el efecto termal en híbridos recíprocos de *O. hatcheri* y *O. bonariensis*, han revelado que el sesgo entre la proporción de sexos se produce como resultado de las interacciones entre el genotipo y las temperaturas de cría (Inazawa *et al.* 2009, 2011).

Las variaciones morfológicas dentro del género *Percichthys* han llevado a los investigadores a clasificar los individuos en diferentes especies. Mac Donagh & Thormählen (1945) resaltaron las variaciones morfológicas dentro de *P. trucha* y posteriormente Ringuelet *et al.* (1967) diferenciaron las especies de *Percichthys* basándose en varios caracteres morfológicos (altura de aleta dorsal, longitud de la mandíbula superior, tamaño de la boca, distancia interorbital y longitud de cabeza y cuerpo). Arratia (1982) describió *P. trucha* y *P. melanops* en Chile, y las formas fósiles, remarcando la importancia del número de radios en aleta dorsal y de vértebras, concluyendo en la existencia de *P. altispinnis*, *P. trucha* y *P. melanops*. Posteriormente, Arratia *et al.* (1983) incluyeron también a *P. colhuapiensis* y *P. vinciguerrai*. López-Arbarello (2004) distinguió tres especies en Argentina, *P. trucha* (que incluye *P. vinciguerrai* y *P. altispinnis*), *P. colhuapiensis*, y *P. laevis*, y dos especies en Chile, *P. chilensis* y *P. melanops*. Todas estas especies fueron distinguidas morfológicamente (Fig. 1), difiriendo mayormente en el tamaño de la boca, alto de la aleta dorsal y número de rastrillos branquiales, aunque muestran una significativa superposición en sus dietas (Férriz 1989, 1993; Cussac *et al.* 1998; Macchi *et al.* 1999), consumiendo preferentemente bentos y otros peces cuando alcanzan tallas grandes.

Es interesante notar que López-Arbarello (2004) destaca que la eficiencia de su clave era bastante pobre y que la identificación de los especímenes era a menudo imposible debido a la frecuente presencia de formas intermedias. Por ejemplo, tomando en consideración la clave de López-Arbarello (2004) se puede observar que el primer conjunto de caracteres separa *P. chilensis* basándose en el número de branquiaspinas del primer arco branquial. Los especímenes que fueron considerados ($n=2$) eran paralectotipos de *P. trucha*, su distribución era en los arroyos pre-andinos en el centro y sur de Chile (Arratia 2003), además López-Arbarello (2004) señala que esta especie está presente probablemente en el río Tunuyán, Mendoza, Argentina. Los individuos capturados en la cuenca del río Tunuyán han sido identificados como *P. trucha* en los análisis moleculares realizados por Ruzzante *et al.* (2011), y ninguna otra referencia sobre la existencia de *P. chilensis* ha sido encontrada en la literatura (Campos & Gavilán 1996; Dyer 2000; Habit *et al.* 2006).

Los análisis genéticos solo evidencian la existencia de *P. melanops* y *P. trucha* en Chile y solo *P. trucha* en Argentina, mostrando *P. trucha* diferencias intra-específicas entre lagos, pero sin evidenciar aislamiento reproductivo, en el marco del concepto de especie basado en la concordancia genealógica y de linaje (GCC de Avise & Ball (1990), el cual intenta reconciliar elementos del concepto biológico de especie de Mayr (1963) con el concepto filogenético de especie de Cracraft (1989). Bajo el GCC un grupo de organismos es considerado una especie si existe a) concordancia en las secuencias dentro de un locus génico, b) concordancia en estos patrones genealógicos para múltiples loci, tanto mitocondriales como nucleares, c) concordancia de patrones biogeográficos y d) concordancia con los caracteres morfológicos (Ruzzante *et al.* 2006, 2011; Barriga *et al.* 2008).

Las variaciones genéticas de *P. trucha* podrían ser trazadas a través de la historia geológica de Patagonia (Ruzzante *et al.* 2008) y existen datos que sugieren la existencia de plasticidad fenotípica. En particular, Ruzzante *et al.* (2011) señalan la paradoja de un alto nivel de variabilidad morfológica entre y dentro de las poblaciones de *Percichthys* aun cuando no encuentran evidencia de una divergencia profunda en el árbol de haplotipos de *Percichthys* al este de los Andes y solo una leve estructura filogeográfica para la región en general. Si bien este alto nivel de variabilidad morfológica puede ser interpretado en el marco de un conjunto de presiones de selección (Ruzzante *et al.*, 2011), permanece el desafío de documentar experimentalmente la factibilidad de tales procesos de plasticidad fenotípica. Por ejemplo, poblaciones de “percas” que se encuentran aguas arriba y aguas abajo de una represa hidroeléctrica han mostrado diferencias oro-faríngeas, identificadas pocos años después que la represa se construyera (Cussac *et al.* 1998). También se han detectado diferentes proporciones entre la longitud del maxilar y otras dimensiones oro-faríngeas en diferentes cuerpos de agua (Ruzzante *et al.* 2003). Además, las “percas” de un lago originariamente sin peces han sido nombradas sucesivamente como especies diferentes durante 40 años a partir de su introducción en ese ambiente al tiempo que la trama trófica del cuerpo de agua cambiaba notoriamente como consecuencia de la introducción (Ortubay *et al.* 2006). Estas variaciones de forma dentro de la misma especie son consistentes con respuestas plásticas, siendo estas ocasionalmente notables, incluso a veces produciendo individuos tan distintos entre sí que han sido determinados como especies diferentes (Schlichting & Pigliucci 1998).

La primera descripción del desarrollo embrionario de *P. trucha* fue realizada por Fuster de Plaza & Plaza (1955). Estos autores encontraron que la eclosión ocurre 19 días después de la fecundación, al incubar los huevos entre 13 y 14°C. La sobrevivencia y la

tasa de eclosión aumentan al elevar a 16°C la temperatura media a la cual son incubados los huevos. El tiempo requerido para que se produzca la eclosión de todos los huevos dentro de un lote es de 4 días aproximadamente. Las variaciones morfológicas de *P. trucha* han sido asociadas con el uso del recurso trófico (Logan *et al.* 2000) y también se han estudiado en juveniles (Ruzzante *et al.* 2003).

Objetivos generales

- Comparar y obtener una medida de la magnitud de la plasticidad fenotípica del aparato buco-faríngeo en dos especies con diferente variación morfológica, *Odontesthes hatcheri* y *Percichthys trucha*.
- Estudiar las variaciones morfológicas del aparato buco-faríngeo en la ontogenia temprana, a distintas temperaturas y con diferentes alimentos ofrecidos, con la posibilidad de inducir formas semejantes a las encontradas en la naturaleza.

Objetivos específicos

- Analizar la morfología en embriones libres recién eclosionados, incubados a diversas temperaturas, relacionando la morfología con la cantidad de vitelo al momento de eclosión.
- Observar la variación morfológica en relación con la primera oferta de alimento en larvas hermanas.
- Estudiar la plasticidad fenotípica larval, entre individuos hermanos, alimentados con zooplancton.
- Analizar las variaciones morfológicas inducidas por el consumo de diferentes alimentos, en ejemplares juveniles silvestres.
- Examinar la ontogenia de la morfología bucofaríngea en juveniles silvestres alimentados exclusivamente con *Tubifex*.
- Estudiar las variaciones morfológicas cefálicas en juveniles y adultos, silvestres y cultivados, de *Odontesthes*, provenientes de distintos ambientes y sometidos en diferente grado a procesos de introgresión génica.

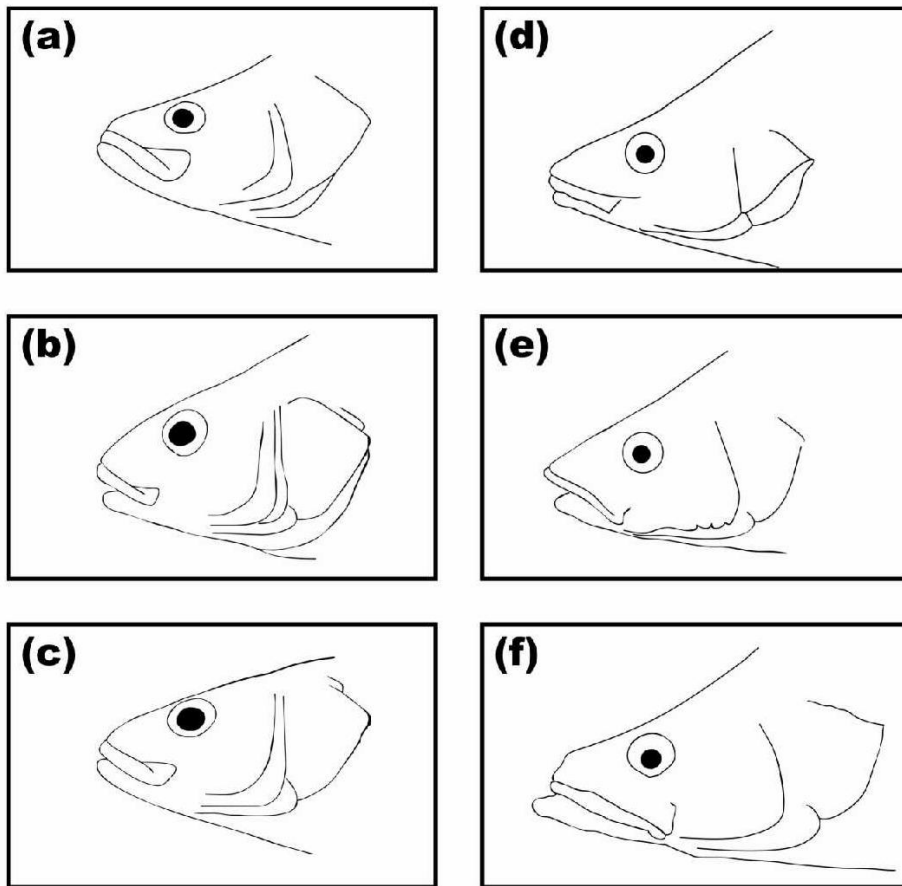


Figura 1: Detalles cefálicos en vista lateral de individuos adultos del Género *Percichthys*. a) *P. colhuapiensis*, b) *P. trucha*, c) *P. laevis*, d) *Percichthys* sp. del río Limay, e) *Percichthys* sp. del lago Nahuel Huapi y f) *Percichthys* sp. del lago Pellegrini. En a, b y c imágenes reproducidas de López-Arbarello (2004) y d, e y f imágenes reproducidas de Fuster de Plaza & Plaza (1955).

CAPÍTULO 1

Embriones y Juveniles de Pejerrey



Capítulo 1: Embriones y juveniles de *Odontesthes hatcheri*

Materiales y Métodos

Variación morfológica temprana

Para la descripción del desarrollo embrionario se obtuvieron individuos adultos provenientes de dos sitios; a) lago Morenito (41°05'S, 71°31'O) y b) individuos adultos provenientes del lago Pellegrini (42°28'S, 71°24'O) mantenidos por 4 años en la Estación de Piscicultura Río Limay (Plottier, Provincia del Neuquén).

En el lago Morenito se capturó con red de enmalle (3 paños de 10m con malla de 15, 30 y 40mm entre nudos). Los individuos que presentaban indicios de madurez sexual fueron anestesiados con benzocaína (0,05 g.l⁻¹). Se realizó fecundación artificial en seco utilizando una hembra por un macho (Barnabé 1990) y, con agua del lago, se hidrataron los huevos y se eliminó el exceso de espermatozoides. Se obtuvieron huevos de dos parejas. Los huevos fueron trasladados al laboratorio en el Centro de Salmonicultura Bariloche, Universidad Nacional del Comahue (CENSALBA).

Los ejemplares provenientes del lago Pellegrini y criados en la Estación de Piscicultura de Plottier, fueron manipulados en agua (dentro de balde) y anestesiados con benzocaína (0,05 g.l⁻¹). La fecundación artificial en seco se realizó utilizando una hembra por macho (Barnabé 1990). Luego que los huevos fueron hidratados y eliminado el exceso de espermatozoides, estos fueron trasladados al laboratorio del CENSALBA. Se obtuvieron huevos de cuatro parejas. Los adultos fueron reanimados y colocados en sus contenedores. El desarrollo se observó manteniendo el control de la procedencia de los embriones, por lago y por pareja.

Todos los huevos fueron mantenidos durante el traslado a 17°C, al llegar al laboratorio, se incubaron tres lotes de huevos por cada temperatura 11 y 17°C

respectivamente. Los huevos provenientes del lago Morenito fueron fotografiados una vez por día durante el desarrollo embrionario. Los huevos del lago Pellegrini, fueron fijados en formaldehído 4%, cada 30 minutos el primer día de incubación y una vez al día hasta cumplir 8 días de incubación. Posteriormente se tomaron imágenes digitales en vivo una vez al día. Los huevos fijados, también fueron fotografiados.

Todas las imágenes se tomaron con cámara digital (NIKON D70) acoplada a un microscopio estereoscópico (Leica Wild M3C), con luz inferior y superior. La aparición de las distintas estructuras embrionarias fue analizada en vivo y a través de las imágenes digitales. Las medidas fueron tomadas con analizador de imágenes (Image Pro-plus) y los análisis estadísticos y gráficos se realizaron con los paquetes estadísticos SPSS® y SIGMAPLOT®.

Diferencias morfológicas entre hermanos recién eclosionados.

Se capturaron individuos adultos en la laguna Carrilafquen (41°12'S, 69°25'O), con redes de enmalle (3 paños de 15, 30 y 45mm de malla entre nudos), los individuos que presentaron indicios de madurez sexual fueron anestesiados con benzocaína (0,05 g.l⁻¹). Se realizó fecundación artificial en seco (una hembra x un macho, Bernabé 1990), posteriormente se hidrataron los huevos con agua y se eliminó el exceso de esperma. Los huevos fueron trasladados al laboratorio. Al llegar fueron revisados bajo microscopio estereoscópico para corroborar el éxito de la fecundación, obteniéndose huevos de cuatro parejas. Los huevos provenientes de dos parejas fueron incubadas a 18°C y los de otras dos parejas a 13°C. Los huevos fueron mantenidos durante todo el proceso de desarrollo con aireación constante y 0,5% de sal de cocina (NaCl) agregada. Ambas temperaturas están incluidas en el rango de temperaturas superficiales de verano del agua en lagos y embalses donde la especie está presente. Los huevos muertos,

mostrando un amplio espacio peri-vitelino y una coloración traslúcida blanquizca fueron retirados con la ayuda de pinzas y tijeras de punta fina, una vez al día.

Al momento de la eclosión los embriones libres fueron anestesiados con benzocaína ($0,05 \text{ g.l}^{-1}$), y fotografiados. Se tomaron dos imágenes por individuo, una del perfil izquierdo y otra en vista dorsal de la región cefálica. Con la primera imagen se realizó el análisis de Morfometría Geométrica (AMG). Se seleccionó un total de 10 puntos homólogos (Tabla 1 y Fig. 2). Con las imágenes en vista dorsal se tomaron medidas lineales con analizador de imágenes (*Image Pro-plus*) a distintos días de eclosión para una pareja. Las medidas morfológicas tomadas fueron: ancho de la boca (AB), longitud de la cabeza (LC), ancho del vitelo (AV), longitud del vitelo (LV), diámetro del ojo (DO) y longitud total (LT). Se obtuvieron los residuales de estas medidas en regresión doble logarítmica con el largo total y se realizó con éstos un Análisis Discriminante entre días de eclosión (Fig. 3).

Para el AMG se utilizó los programas TPS. Las ventajas de los enfoques TPS son: eliminan de manera efectiva la dependencia forma-tamaño, son sensibles a las deformaciones corporales y pueden ser utilizados para generar grillas cartesianas de deformación mostrando la complejidad del cambio de forma entre individuos (Rohlf & Marcus 1993; Parsons *et al.* 2003). Los ejemplares digitalizados se ajustaron a un tamaño común y se orientaron con un enfoque generalizado (Procrustes) de superposición (Bookstein 1991; Adams *et al.* 2004). Posteriormente, se calculó la media (o consenso) de la forma para cada población mediante la determinación de la media de las coordenadas X e Y de los valores para cada uno de los puntos de referencia (*Landmarks*). Se cuantificaron los resultados de los 'Parcial Warps' (PWs) o deformaciones parciales usando tpsRelw (Rohlf 2004) (<http://life.bio.sunysb.edu/morph/index.html>), obteniendo, a través de un Análisis de

Componentes Principales los *Relative Warps* (RWs) o deformaciones relativas y luego las grillas de deformación, que fueron descriptas de izquierda a derecha en el eje de las x y de abajo hacia arriba en el eje de las y. Con los PWs, tanto con la variable uniforme y no-uniforme (weight matrix), se realizó un análisis discriminante (AD) con el fin de diferenciar los embriones libres según el momento de eclosión, pareja parental y temperatura de incubación.

Como dentro de cada lote de huevos (iguales padres y temperatura de incubación) el momento en que se produce la eclosión no es único, sino que comprende entre 48 y 72 horas (Conte-Grand *et al.* 2009), se tomaron fotografías de embriones recién eclosionados a 3 tiempos distintos con 24 hs. entre cada toma. Para esto, al llegar al laboratorio se extrajeron los embriones eclosionados de cada lote y se esperó a que se produjera la eclosión de algún huevo. Producida la eclosión, se procedió a anestesiarse con benzocaína (0,05 g.l⁻¹) y fotografiar al embrión libre bajo lupa. Cada embrión libre fue posteriormente reanimado y colocado junto a sus hermanos.

Con AMG se hicieron distintas comparaciones:

a) dentro de una misma pareja, entre días después de la eclosión (DE) (3 días, número total de individuos N=71, Tabla 2),

b) entre individuos de dos parejas incubados a la misma temperatura y entre días después de la fecundación (DDF), pero con distintos DE (N=49, 13°C),

c) entre individuos de dos parejas incubados a la misma temperatura y entre días de eclosión, pero con distintos DDF (N=39, 18°C) y

d) entre individuos de dos parejas con distintos DDF el primer (N=40, Tabla 2) y segundo día después de la eclosión (N=64, Tabla 2).

Utilizando los mismos puntos homólogos (Tabla 1), se realizó un AMG en 128 embriones recién eclosionados y se estudió la relación de la forma (los primeros RWs) con la talla, pareja, día de eclosión, temperatura de incubación, días desde la fecundación (DDF) y unidades térmicas acumuladas (UTA, tomadas como la temperatura de incubación por el tiempo de incubación en días).

Variaciones morfológicas cefálicas en juveniles silvestres. Experimentos de inducción morfológica.

Los individuos utilizados fueron capturados en la laguna Carrilafquen con red de arrastre de costa. Éstos fueron colocados en conservadoras, con agua de la laguna más un agregado de sal (1 %) para disminuir el estrés provocado por la captura y el traslado. Los individuos fueron llevados al laboratorio y allí separados en dos lotes y colocados en acuarios plásticos de 150 litros, con aireación constante y 1 % de sal agregada. Estos lotes se mantuvieron a temperatura ambiente dentro de la sala de experimentación (media 12,4°C, rango 10 a 15°C). Además, una sub-muestra fue anestesiada con benzocaína (0,05 g.l⁻¹) y fotografiada (flanco izquierdo). En todas las imágenes se digitalizaron 11 puntos homólogos (Tabla 3; Fig. 4). La posición de los puntos fue corroborada usando una imagen de rayos-x (Fig. 5).

Se establecieron dos lotes experimentales: 1) lote alimentado con zooplancton. El mismo fue criado en tanques circulares de 600 litros a partir de una muestra extraída de la laguna Los Juncos (41°03'35,04''S; 71°00'22,97''O) con una red cónica de 200µm, trasladada al CENSALBA y alimentada con el alga *Spirulina sp.* desecada y levadura en polvo y 2) lote alimentado con *Tubifex sp.* (Orden Oligocheata) extraído del desagüe de los canales de cría de salmónidos (CENSALBA). Se colocó una red de trama mediana (10mm bar) aguas abajo para capturar a los ejemplares por deriva y se removió el sedimento aguas arriba.

En todos los casos el alimento se ofreció a saciedad dos veces al día con una diferencia de 4 horas entre comidas. Ambos lotes fueron mantenidos por 60 días. Una vez cumplido este tiempo se anestesió con benzocaína ($0,05 \text{ g.l}^{-1}$) y se fotografió el flanco izquierdo de todos los individuos. Éstos fueron reanimados y devueltos a sus respectivos estanques, se prosiguió con el experimento por 240 días y se repitió el proceso de toma de imágenes. En este caso solo se tomaron imágenes a los individuos alimentado con *Tubifex* sp., ya que los individuos del lote alimentado con zooplancton enfermaron con el protozoo ciliado *Ichthyophthirius multifiliis* (punto blanco, Fouquet 1876), dejaron de alimentarse y murió la mayoría de ellos.

Con esta información se hicieron los siguientes análisis: a) Análisis de variación morfológica cefálica entre individuos recién capturados (N=22), b) Comparación de la morfología cefálica entre individuos alimentados con zooplancton por 60 días, alimentados con *Tubifex* por 60 días, y recién capturados (N= 64) y c) Comparación de los individuos alimentados con *Tubifex* por 60 y 240 días, con individuos recién capturados (N=71, Tabla 4).

Resultados

Desarrollo embrionario

Los huevos de *O. hatcheri* son de color verde oliva, transparentes, con varias gotas oleosas amarillentas también transparentes. Conforme avanza el desarrollo, las gotas oleosas disminuyen en número y aumentan en tamaño hasta que 73 horas después de la fecundación se encuentra una sola gota oleosa por debajo de la cabeza del embrión. La formación y aparición de las estructuras embrionarias fueron las esperadas y descritas por Yamagami (1988) y Kunz (2004) para los peces teleósteos. Es interesante notar que no hubo diferencias en la aparición de estructuras entre las diferentes temperaturas, pero sí se vio un leve retraso en los huevos incubados a 11°C en relación con las UTA. Los huevos provenientes del lago Morenito incubados a 17°C requirieron menos UTA para comenzar a eclosionar que los huevos incubados a la misma temperatura del lago Pellegrini. En los huevos incubados a 11°C se vio lo contrario.

Diferencias morfológicas en embriones recién eclosionados

Distintos DDF y DE, incubados a 18°C y provenientes de la misma pareja (N=71, DDFDE en Tabla 2): el AD mostró una función discriminante significativa (FD), que clasificó correctamente el 88,7% de los casos y explica el 82,4% de la variación (FD1, N= 71, Wilks' lambda= 0,285; P< 0,001). Las grillas de deformación muestran como la cabeza del embrión se encuentra inicialmente curvada sobre el saco vitelino luego se levanta dorsalmente y endereza sobre si misma (Fig. 6).

Diferencias entre parejas con igual DDF y temperatura de incubación y distintos DE (PDE en Tabla 2): el AD entre estas parejas mostró una FD (FD1, N= 49, Wilks' lambda= 0,239; P< 0,001) que clasificó correctamente el 100% de los casos y explicó el 100% de la variación.

Diferencias entre parejas con igual DE y temperatura de incubación, con distintos DDF (PDDF en Tabla 2): el AD no encontró FD significativas (FD1, N= 39, Wilks' lambda= 0,405; $P= 0,051$).

Efectos combinados: considerando la combinación de distintas parejas, temperaturas de incubación y DDF, con el mismo día de eclosión (TPDDF en Tabla 2) el AD produjo una FD significativa que clasificó correctamente el 97,5% de los casos y explicó el 100% de la variación (FD1, N= 40, Wilks' lambda= 0,249; $P < 0,001$). En el segundo DE el AD, mostró una FD significativa que clasificó correctamente el 92,2% de los casos y explicó el 100% de la variación (FD1, N= 64, Wilks' lambda= 0,344; $P < 0,001$). Las grillas de deformación para ambas comparaciones mostraron que los individuos incubados a 18°C tenían la cabeza curvada sobre el saco vitelino a diferencia de los individuos incubados a 13°C (Fig. 7).

Variaciones morfológicas entre hijos de una misma pareja y distintos DE a 18°C: los primeros dos RWs explicaron el 77,98% de la variación morfológica (N=71; RW1=60,58% y RW2=17,39%). Las grillas de deformación (Fig. 8) indican que la variación está relacionada con la curvatura del embrión sobre el saco vitelino (RW1). Sobre el RW2 también se observa que la variación está relacionada con la curvatura del embrión, aunque en este caso menos evidente. El AD entre días de eclosión (3) mostró una FD significativa la cual clasificó correctamente el 88,7% de los casos y esta clasificación explicó el 82,4% de la variación. Al graficar la función discriminante 1 (FD1, Wilks' lambda= 0,285; $P < 0,001$) con el largo estándar se observa una buena separación entre los tres grupos de individuos (Fig. 9). En las grillas de deformación medias de cada grupo se ve cómo los embriones recién eclosionados están curvados sobre el saco y en los días posteriores se ve un enderezamiento, los individuos eclosionados el tercer día no presentan curvatura.

Relación de la forma con talla, pareja, temperatura de incubación, DE, DDF y

UTA: Los dos primeros RWs explican el 75,29% de la variación (N= 128; RW1= 61,07% y RW2= 14,22%). Al observar las grillas de deformación (Fig. 10) se ve que las variaciones morfológicas muestran cambios relacionados con el grado de curvatura del embrión libre sobre el saco vitelino. Los dos primeros RWs poseen relación lineal significativa con las UTA (RW1; Regresión, $F= 12,928$; N= 128, $P < 0,001$ y RW2; Regresión, $F= 14,867$; N= 128, $P < 0,001$) (Fig. 11 y 12). No existe relación significativa entre los RWs y la talla de los individuos (Fig. 13). El ANCOVA para los RWs, entre parejas con UTA como covariable, mostró relación significativa del RW2 con la pareja parental (Regresión, $F= 12,258$; N= 128, $P < 0,001$).

Medidas lineales en vista dorsal: El análisis discriminante entre días de eclosión para individuos incubados a 18°C, mostró una función discriminante significativa con el 54,7% de los casos correctamente clasificados, que explica el 98,4% de la variación (FD1, Wilks' lambda= 0,598; $P < 0,001$) e incluye el largo y ancho del saco vitelino. La primera función separa los huevos eclosionados el primer día de los eclosionados el segundo y tercero respectivamente. Los embriones libres eclosionados el primer día poseen sacos vitelinos más cortos y anchos que el resto (Fig. 14).

Variación morfológica cefálica en juveniles, experimentos de alimentación

Individuos recién capturados: Los dos primeros RWs explicaron el 52,21% de la variación morfológica (N=22; RW1=32,63% y RW2=19,58%). En las grillas de deformación (Fig. 15) para el primer RW los individuos presentaron cabeza larga, premaxilar y dentario largos y ojo levemente ventral en el extremo negativo y en el extremo positivo se sitúan los individuos con cabeza corta y premaxilar y dentario cortos. Sobre el RW2 se observaron individuos con cabeza larga, premaxilar y dentario

largos, ojo grande en posición antero-ventral en el extremo negativo y en el otro extremo se colocaron los individuos con premaxilar y dentario cortos y ojo pequeño.

Comparación entre individuos alimentados con zooplancton y *Tubifex* por un período de 60 días e individuos recién capturados: Los dos primeros RWs explican el 41,74% de la variación morfológica (N=64; RW1=22,9% y RW2=18,84%). Sobre el RW1 las grillas de deformación (Fig. 16) cambian de individuos con cabeza larga, hocico largo y respingado, a individuos de cabeza corta con los *landmarks* anteriores en posición postero-ventral. Sobre el RW2 se sitúan los individuos con cabeza larga y baja, ojo grande y premaxilar largo en el extremo negativo, mientras que en el positivo se posicionan los individuos con cabeza corta y alta, ojo pequeño, y un marcado prognatismo del premaxilar. El AD según el tipo de alimento consumido (3 grupos, N=64) produjo 2 FDs significativas, clasificó correctamente el 98,4% de los casos y esta clasificación explicó el 100% de la variación, (FD1, Wilks' lambda= 0,062; $P < 0,001$ y FD2, Wilks' lambda= 0,339; $P < 0,001$). Al graficar la FD1 versus la talla muestra que las tallas de los diferentes grupos están solapadas (Fig. 17 y 18). Las grillas de deformación indicaron, al comparar los individuos alimentados con zooplancton con los recién capturados, que los primeros poseen el premaxilar y el dentario en una posición más dorsal (boca más dorsal) y el istmo en posición más anterior. Al comparar los individuos alimentados con *Tubifex sp.* con los recién capturados, observamos que los primeros poseen ojos más grandes en posición posterior, porción anterior del premaxilar más ancha, boca más ventral, istmo en posición más anterior y la base de la aleta pectoral en posición más posterior.

Comparación de individuos alimentados con *Tubifex* por 60 y 240 días con individuos recién capturados: Los dos primeros RWs explican el 46,43% de la variación morfológica (N=71; RW1=29,53% y RW2=16,89%). Sobre el RW1 las grillas de

deformación (Fig. 19) muestran individuos de cabeza corta, ojo elevado, premaxilar y dentario levemente pequeños y elevados. En el otro extremo se posicionan individuos con cabeza larga, premaxilar y dentario largos y prognatismo del premaxilar. Sobre el RW2 se sitúan los individuos con cabeza corta, ojo grande, dentario largo, el extremo anterior del premaxilar ancho y alineado con el extremo anterior del dentario. En el otro extremo se ve individuos con cabeza larga, ojo pequeño, dentario corto y prognatismo del premaxilar. El AD según el tiempo de alimentación con *Tubifex* clasificó correctamente el 94,4% de los casos y esta clasificación explicó el 100% de la variación, (FD1, Wilks' lambda= 0,083; $P < 0,001$ y FD2, Wilks' lambda= 0,339; $P < 0,001$). La primer FD permitió separar los individuos recién capturados de los restantes, y la segunda FD permitió separar los individuos alimentados durante 60 días de los alimentados durante 240 días (Fig. 20 y 21). Las variaciones morfológicas a lo largo del tiempo mostraron un incremento en el tamaño del ojo, una marcada elongación del premaxilar y la mandíbula inferior y desplazamientos del istmo hacia posiciones más dorsales y anteriores.

Tabla 1: Definición de cada punto homólogo (*landmarks*), digitalizado en las imágenes de cada embrión libre recién eclosionado. Número de identificación de cada uno, Figura 2.

Nº punto	Definición
1	Extremo anterior del premaxilar
2	Extremo anterior del dentario
3	Ano
4	Perfil dorsal del cuerpo a la altura del punto posterior del opérculo
5	Ángulo del primer arco branquial, entre el epibranchial y el ceratobranquial
6, 7, 8 y 9	Bordes dorsal, ventral, anterior y posterior del ojo
10	Límite entre el diencéfalo y el telencéfalo

Tabla 2: Datos obtenidos de los embriones libres recién eclosionados provenientes de Carrilafquen. T: Temperatura de incubación en °C; P: Parejas; DDF: días después de la fecundación; DE: días después de la eclosión; N: número de individuos. Las comparaciones que pudieron ser realizadas incluyen los efectos combinados de T, P, DDF y DE, indicándose los parámetros en los que difirieron.

T	P	DDF	DE	N	Comparaciones		
13	1		1				
		22	2	33		PDE	TPDDF
			3				
	2	22	1	16		PDE	TPDDF
			2				
			3				
18	3	15	1	24	DDFDE		TPDDF
		16	2	31	DDFDE	PDDF	TPDDF
		17	3	16	DDFDE		
	4		1				
		18	2	8		PDDF	
			3				

Tabla 3: Definición de cada punto homólogo, digitalizado en las imágenes de todos los individuos juveniles, Figuras 4 y 5.

Nº punto	Definición
1	Extremo antero-superior del premaxilar
2	Extremo antero-inferior del premaxilar
3	Extremo anterior del dentario
4	Extremo posterior del premaxilar
5	Extremo posterior del maxilar
6	Contacto ventral entre el inter-opérculo y el sub-opérculo
7	Borde superior base de la aleta pectoral
8, 9, 10 y 11	Bordes del ojo (superior- inferior y antero-posterior)

Tabla 4: Comparaciones realizadas con juveniles de *O. hatcheri*, indicando: longitud estándar (talla media y rango en mm), tipos de alimentos ofrecidos y tiempo de experimentación medido en días. Se indican análisis (relative warps, RW), comparaciones realizadas (análisis discriminante, AD) y número de individuos (N).

Talla media y rango (mm)	Alimentación	Tiempo (días)	Análisis y comparaciones (N)		
			RW (22)	AD (64)	AD (71)
49 (32-75)	Natural	0	(22)	(22)	(22)
47 (40-63)	Zooplankton	60		(13)	
46 (32-66)	<i>Tubifex sp.</i>	60		(29)	(31)
56 (36-84)	<i>Tubifex sp.</i>	240			(18)

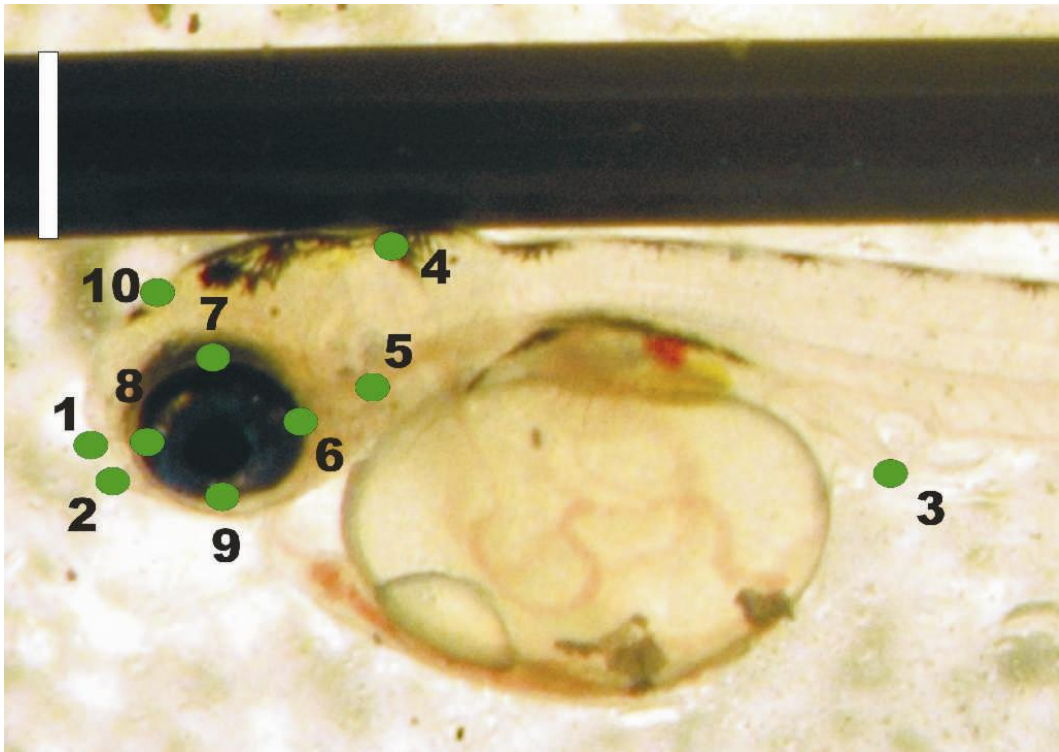


Figura 2: Imagen de un embrión libre recién eclosionado de *O. hatcheri* en círculos verdes se muestran los puntos homólogos digitalizados para la realización del AMG (ver definición de los puntos homólogos en Tabla 1). La barra vertical blanca= 1mm. Los puntos homólogos están definidos en la Tabla 1.

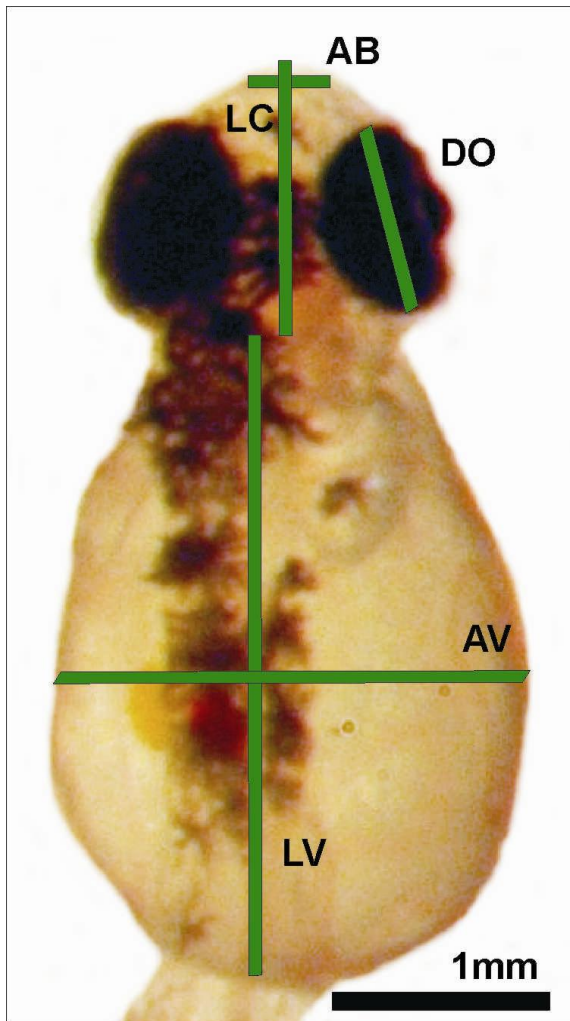


Figura 3: Imagen de de un embrión libre recién eclosionado de *O. hatcheri*, en líneas verdes se muestran las distintas medidas lineales tomadas. AB ancho de la boca, LC largo de la cabeza, DO diámetro del ojo, LV largo del saco vitelino, AV ancho del saco vitelino. Barra negra= 1mm.

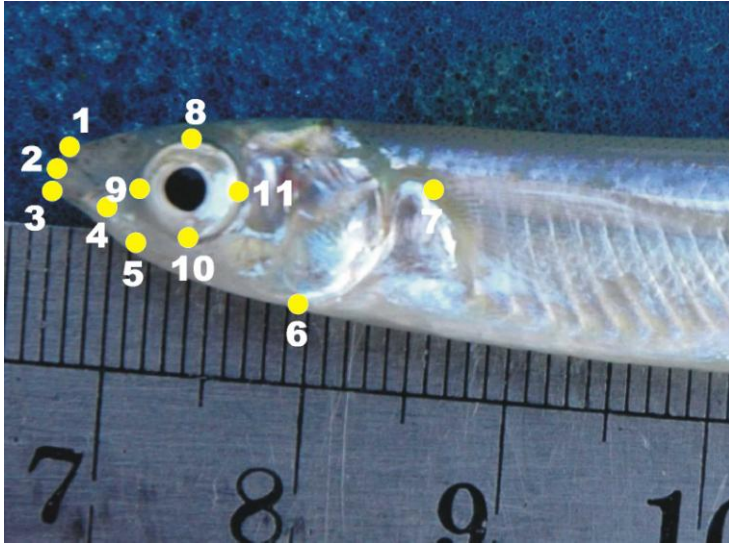


Figura 4: Imagen en detalle cefálico de un ejemplar juvenil silvestre de *O. hatcheri*, capturado en el lago Carrilafquen. Círculos amarillos, señalan los puntos homólogos digitalizados en los AMG (ver definición de los puntos homólogos en Tabla 3). Se muestra regla milimetrada.

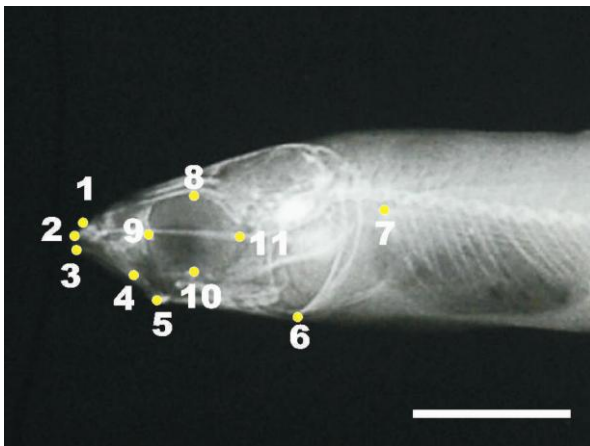


Figura 5: Imagen radiográfica tomada con un mamógrafo, en detalle cefálico de un ejemplar silvestre de *O. hatcheri* proveniente del lago Carrilafquen, en círculos amarillos se detallan los puntos homólogos utilizados (ver definición de los puntos homólogos en Tabla 3), se pueden observar las relaciones esqueléticas.

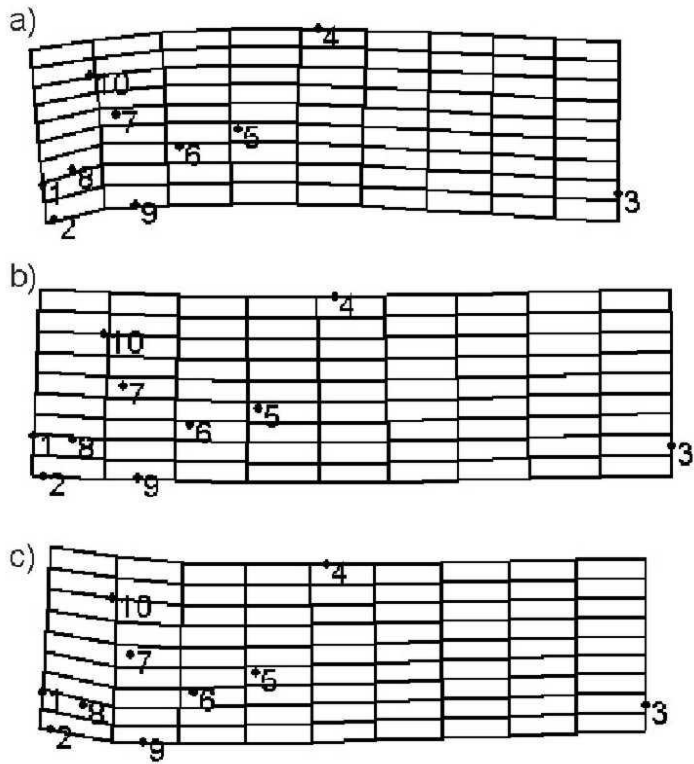


Figura 6: Grillas de deformación para embriones libres recién eclosionados de *O. hatcheri* con diferentes días después de la fecundación (15, 16 y 17), incubados a la misma temperatura (18°C): a) un día de eclosión, b) dos días de eclosión y c) tres días de eclosión (ver las comparaciones en Tabla 2).

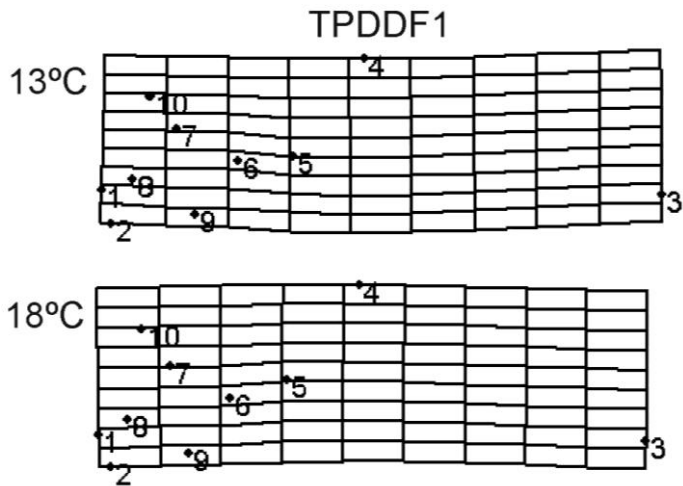


Figura 7: Grillas de deformación para embriones libres recién eclosionados de *O. hatcheri* provenientes de dos parejas e incubados a distinta temperatura, ambos embriones libres tienen un día de eclosión (ver las comparaciones en Tabla 2).

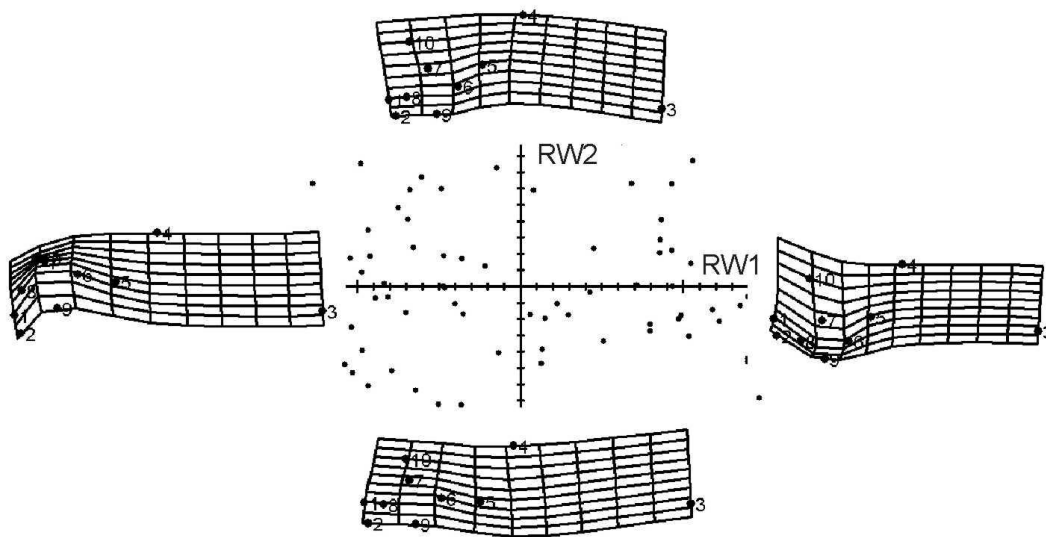


Figura 8: Grafica del primer y segundo relative warps para la comparación entre hermanos según los distintos días después de la eclosión, en los extremos de cada eje se muestran las grillas de deformación correspondientes.

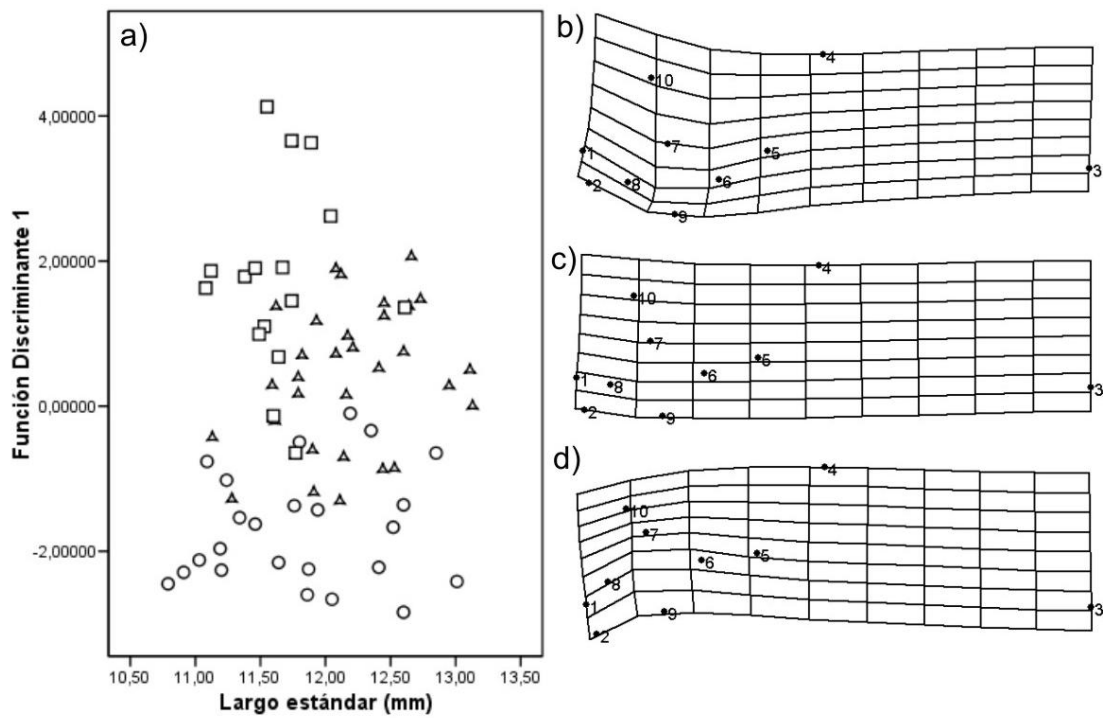


Figura 9: a) Primera función discriminante versus el largo estándar, según los días de eclosión dentro de una misma pareja. Grillas de deformación de individuos eclosionados: el tercer día (b, cuadrados), el segundo día (c, triángulos) y primer día, (d, círculos).

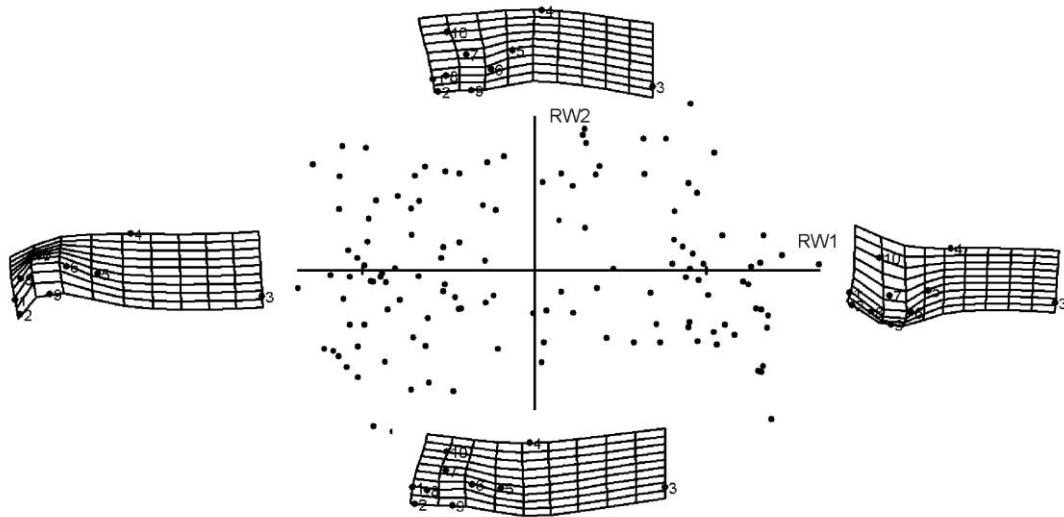


Figura 10: Grafico representativo de los dos primeros descriptivos de la forma para el análisis de todos los individuos recién eclosionados (todas las condiciones de incubación) en los extremos de cada eje se muestra las respectivas grillas de deformación.

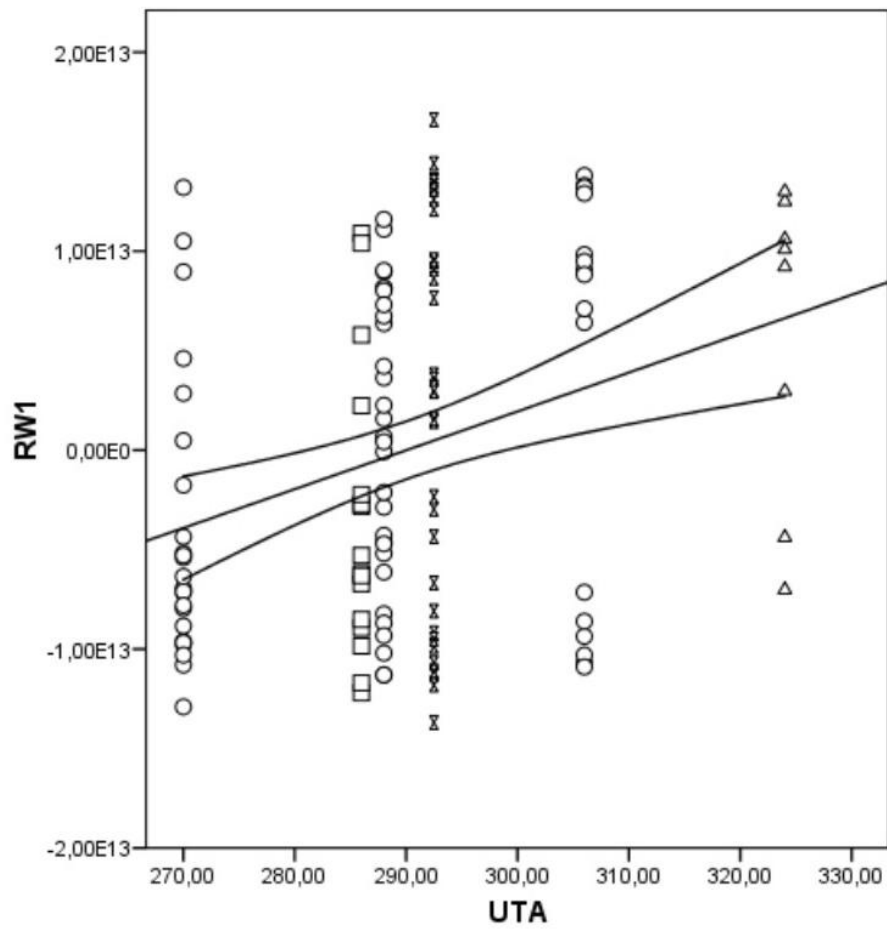


Figura 11: Se muestra el primer relative warp versus las unidades térmicas acumuladas. En círculos y cuadrados se indican los individuos. En moños y triángulos, los individuos incubados a 13°C. Cada forma indica una muestra de hermanos distinta.

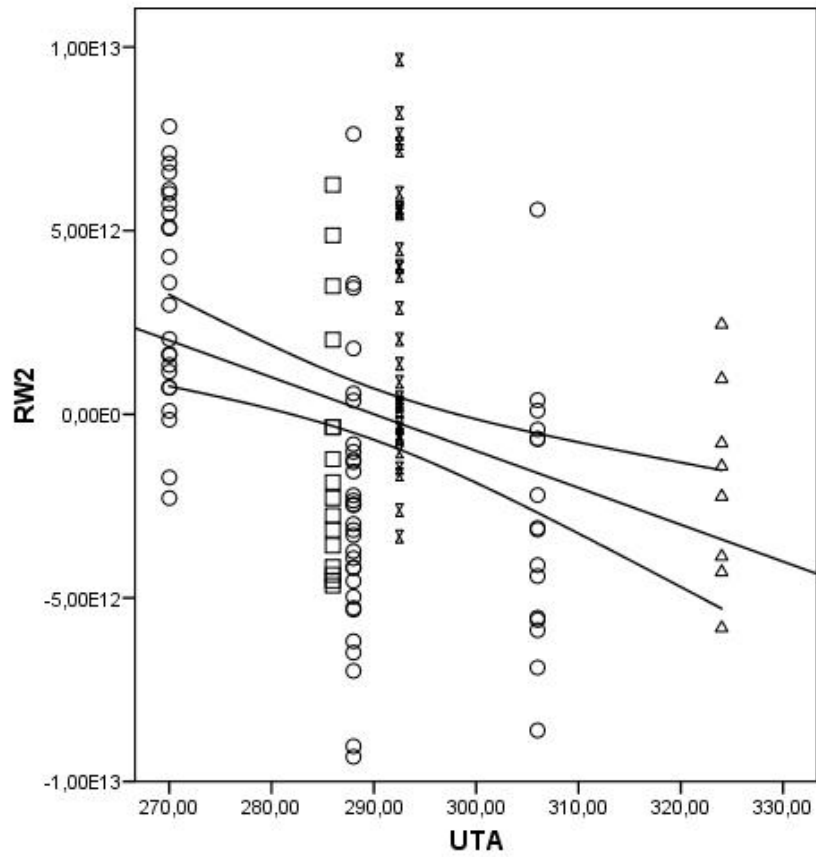


Figura 12: Se muestra el segundo relative warp versus las unidades térmicas acumuladas. En círculos y cuadrados se indican los individuos. En moños y triángulos, los individuos incubados a 13°C. Cada forma indica una muestra de hermanos distinta.

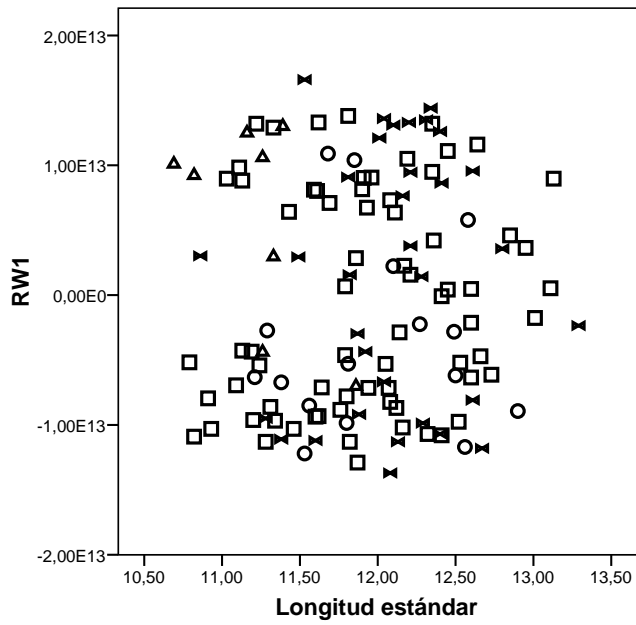


Figura 13: Se muestra el primer relative warp versus el largo estándar en mm. Círculos y cuadrados se indican los individuos incubados a 18°C. En moños y triángulos, los individuos incubados a 13°C. Cada forma indica una muestra de hermanos distinta.

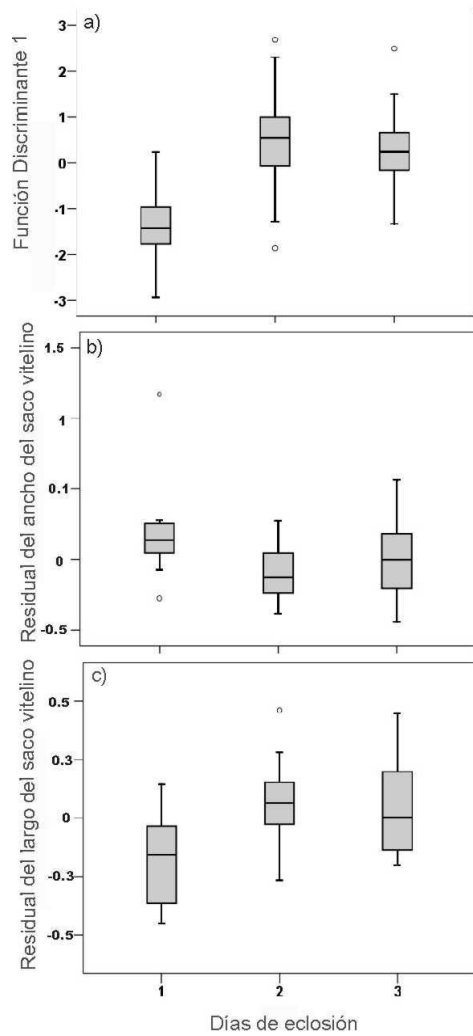


Figura 14: Gráfico de cajas, para medidas lineales de embriones libres recién eclosionados de *O. hatcheri* incubados a 18°C: a) función discriminante 1 b) residual del largo del saco vitelino y c) residual del ancho del saco vitelino versus los días de eclosión.

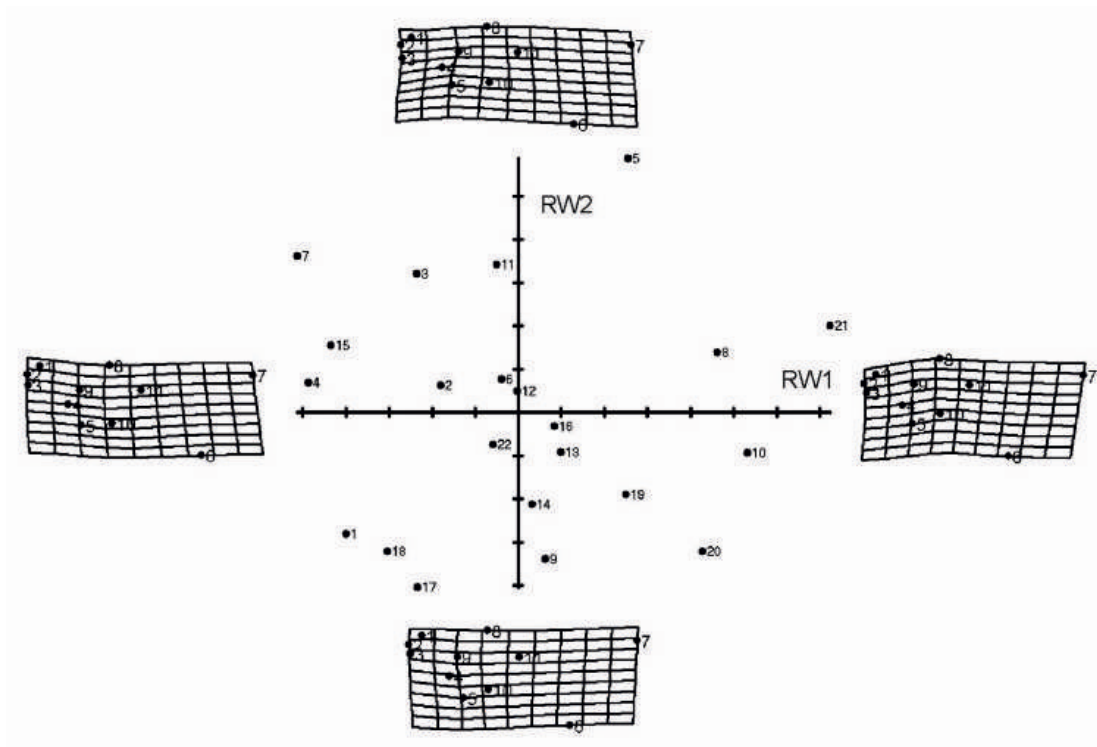


Figura 15: Grafico representativo de los dos primeros descriptivos de la forma para el análisis de los individuos de *O. hatcheri* recién capturados en la laguna Carrilafquen, en los extremos de cada eje se muestra las respectivas grillas de deformación.

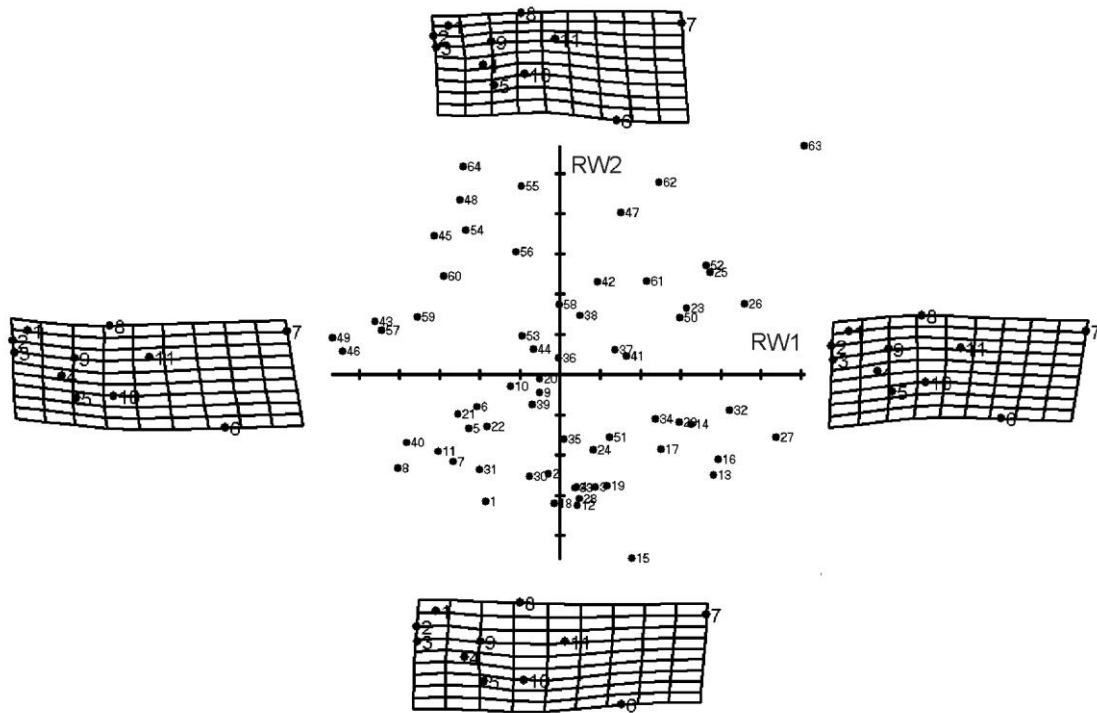


Figura 16: Grafico representativo de los dos primeros descriptivos de la forma (relative warps) para el análisis de los individuos juveniles de *O. hatcheri* recién capturados y los alimentados con zooplancton y *Tubifex* por un período de 60 días. En los extremos de cada eje se muestra las respectivas grillas de deformación.

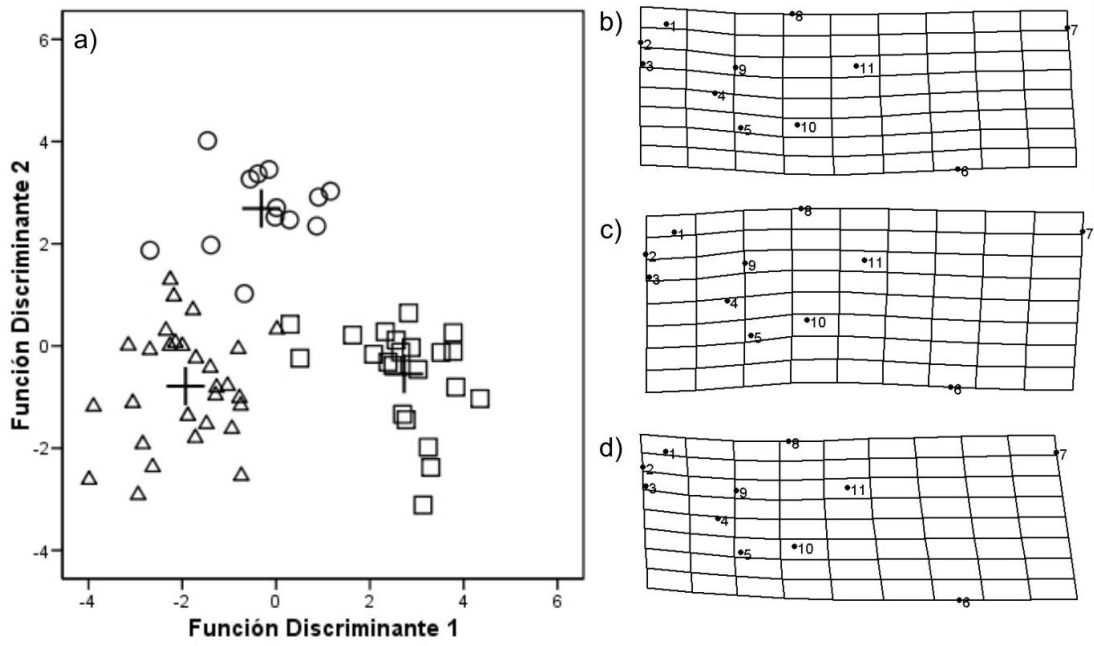


Figura 17: a) primera función discriminante versus segunda función discriminante. Cruz, media de cada grupo. Círculos, individuos alimentados con zooplancton. Triángulo, individuos alimentados con *Tubifex*. Cuadrados, individuos recién capturados. b), c) y d) grillas de deformación para la media de cada grupo según su alimento: zooplancton, *Tubifex* y recién capturados respectivamente.

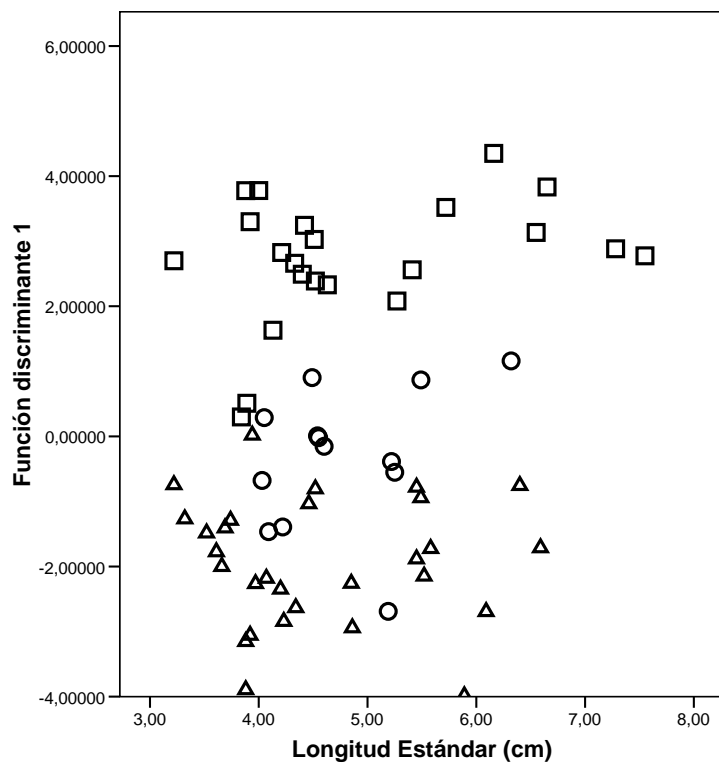


Figura 18: Primera función discriminante versus el largo estándar. Se compara los individuos alimentados por 60 días con dos monodietas con los individuos silvestres. Círculos, individuos alimentados con zooplancton. Triángulos, individuos alimentados con *Tubifex*. Cuadrados, individuos recién capturados.

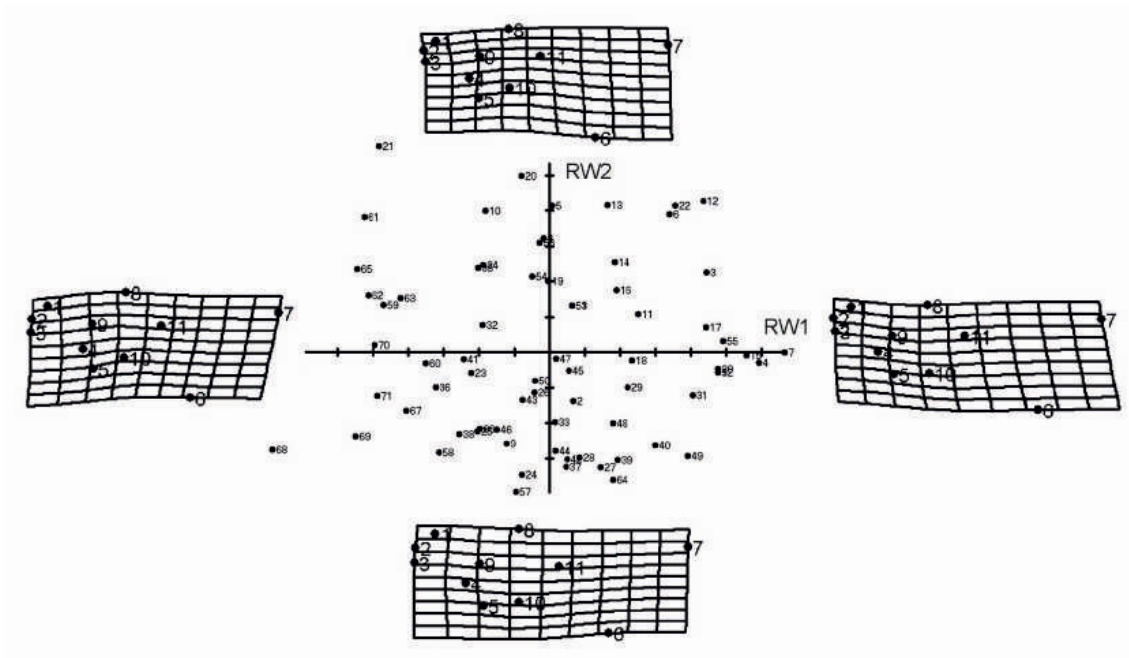


Figura 19: Grafico representativo de los dos primeros descriptivos de la forma (relative warps) para el análisis de los individuos juveniles de *O. hatcheri* recién capturados y los alimentados con *Tubifex* por un período de 60 y 240 días. En los extremos de cada eje se muestra las respectivas grillas de deformación.

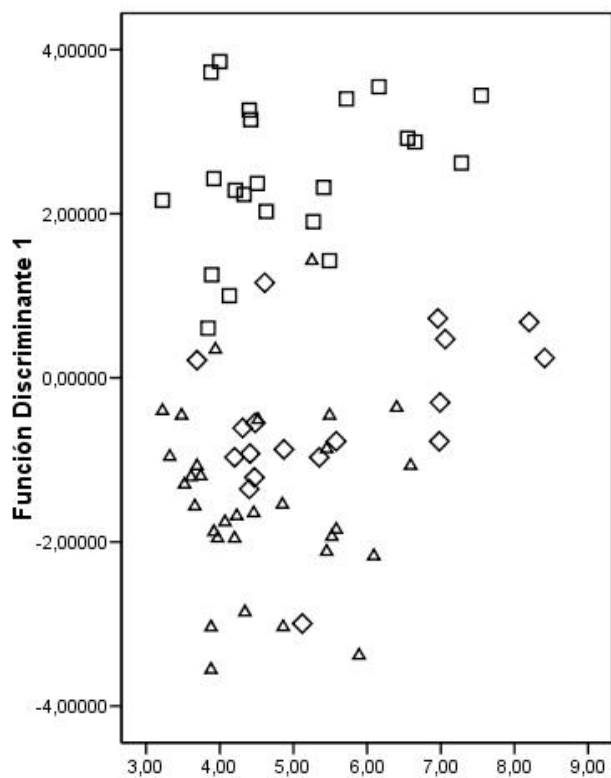


Figura 20: Primera función discriminante versus la longitud estándar. Los individuos recién capturados se muestran en cuadrados. Los individuos alimentados con *Tubifex* por 60 días se muestran en triángulos. Los individuos alimentados con *Tubifex* por 240 días se muestran en rombos.

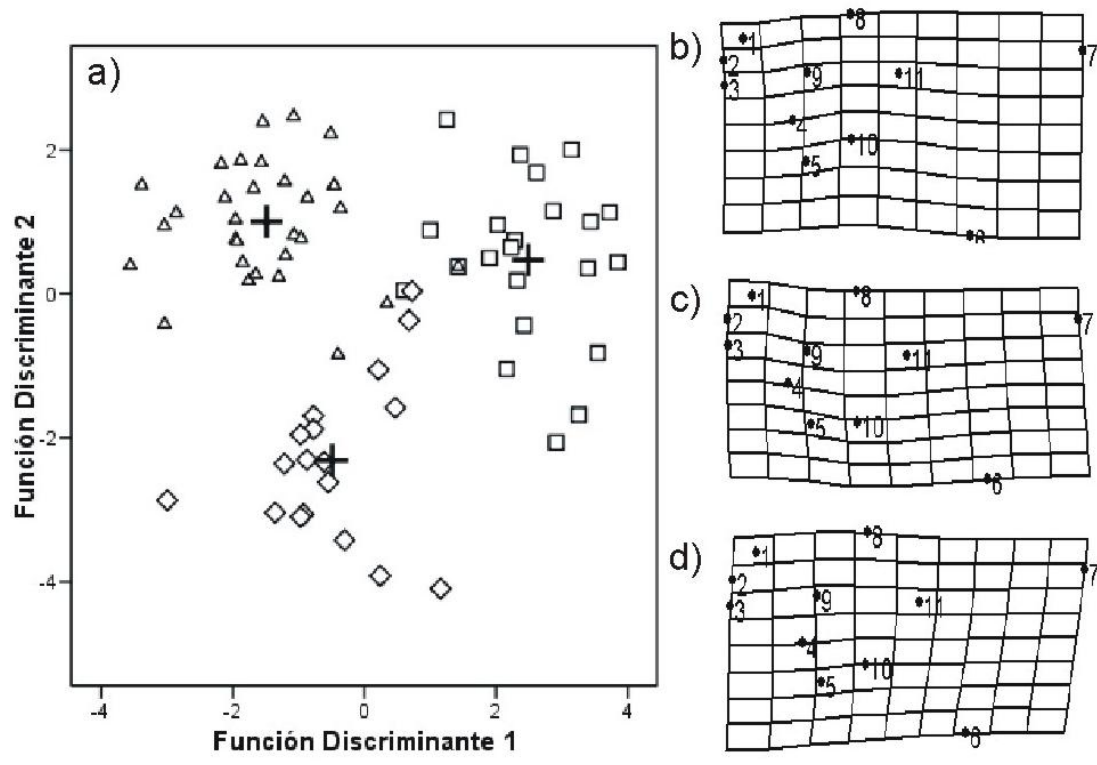


Figura 21: a) Primera función discriminante versus la segunda función discriminante. Grillas de deformación representando la forma consenso de cada grupo individuos recién capturados (b, cuadrados), individuos alimentados con Tubifex por 60 días (c, triángulos) y los individuos alimentados con Tubifex por 240 días (d, rombos).

CAPÍTULO 2

Juveniles y Adultos de Pejerrey



Capítulo 2: Juveniles y Adultos de *Odontesthes hatcheri*

Materiales y Métodos

Morfología cefálica en juveniles y adultos

Se capturaron individuos adultos de *O. hatcheri* y *O. bonariensis* en 8 lagos, 3 embalses y un río en las provincias Pampeana, Andino-Cuyana y Patagónica (López *et al.* 2008) entre 2006 y 2008. Los individuos fueron capturados con caña de pesca en la laguna San Lorenzo, área de distribución original de *O. bonariensis* y con redes agalleras y de arrastre de costa en los lagos Carrilafquen, Morenito, Pellegrini, Rosario, Muster, Rivadavia, Buenos Aires, en los embalses Carrizal, Ullum y Florentino Ameghino y en el río Chubut, todos estos sitios pertenecientes a la distribución original de *O. hatcheri* (Marrero Galíndez 1950, Tabla 5).

Todos los individuos (N= 415) fueron anestesiados y sacrificados con una solución de benzocaína (1:10000). Posteriormente se tomaron imágenes digitales del flanco izquierdo con detalle en la región cefálica. La cámara fotográfica (Nikon D70), fue colocada en un estativo para minimizar el error de paralaje. Los especímenes fueron identificados mediante clave taxonómica Dyer (2006), posteriormente confirmado con análisis de ADN mitocondrial por Conte-Grand (2012). El lago Pellegrini fue la única localidad donde se registraron individuos con características morfológicas intermedias (Conte-Grand *et al.* 2008). Estos individuos, que al poseer caracteres intermedios fueron tratados como un grupo separado, muestran número de líneas de escamas dorsales típicas de *O. hatcheri* y posición de la primera aleta dorsal como se esperaría encontrar en los individuos de *O. bonariensis*. El análisis de ADN mitocondrial de estos presuntos híbridos correspondió a *O. hatcheri* (Conte-Grand 2012). Es importante resaltar que

todos los ejemplares utilizados en este capítulo, pertenecen a una sub muestra de los individuos analizados en Conte-Grand (2012).

Con las imágenes se realizó análisis de morfometría geométrica (AMG) utilizando 11 puntos homólogos (*landmarks*, Bookstein 1991) (Tabla 6, Fig. 22). La base de datos fue analizada en primer lugar para estudiar la morfología de ambas especies. Se exploró la relación con los parámetros ambientales físicos y químicos en cada sitio.

Se realizó análisis discriminantes (AD) con el programa SPSS 15, utilizando para ello los *Partial Warps* (PW) con la componente uniforme y no uniforme. Se probó las diferencias entre las especies, los presuntos híbridos y entre localidades en cada especie.

Para evaluar los efectos de talla, dentro de cada especie, se realizaron regresiones entre las funciones discriminantes (FD) significativas provistas por el AD y el largo estándar (LE). El grado de la regresión polinomial se evaluó con el R^2 y la significancia de los coeficientes del polinomio.

Asumiendo que la morfología puede dar indicios de introgresión génica (Crespin & Berrebi 1999; Valentin *et al.* 2002), se intentó cuantificar y/o visualizar qué parte del área de distribución original de *O. hatcheri* ha sido convertida en una zona híbrida. Para ello, fueron obtenidos los grupos predictivos de cada especie, mediante el AD para los individuos identificados según la clave taxonómica propuesta por Dyer (2006) y se obtuvo el porcentaje de individuos mal clasificados para cada sitio.

La bibliografía indica que tres pisciculturas estatales (Estación Hidrobiológica de Chascomús, Estación de Piscicultura de Embalse y Piscicultura Río Limay) participaron desde 1930 de los programas de siembra de “pejerrey patagónico” y

“bonaerense” a lo largo de las provincias ictiogeográficas Andino-Cuyana y Patagónica (González Regalado & Mastrarrigo 1954; Amalfi 2009). La hipótesis de que el porcentaje de individuos mal clasificados evidencia introgresión génica, fue probada correlacionando el porcentaje de individuos mal clasificados en cada especie con la distancia euclídea desde cada una de las tres pisciculturas a cada sitio muestreado, asumiendo que es muy probable que los programas de siembra hayan sido más exitosos en las localidades más cercanas a las pisciculturas.

Para contrastar la morfometría con la clasificación taxonómica, la base de datos correspondiente a los puntos homólogos fue separada por sitios de origen y fue investigada con AMG. Se extrajeron de cada población los *Relative Warps* (RW) y las coordenadas consenso realizando con éstas un análisis de agrupamiento (*Cluster Analysis*), utilizando la distancia euclídea cuadrada y el centroide como criterio de centralidad.

Los AMG intra-específicos entre poblaciones y análisis intra-poblacionales dentro de los lagos con mayor número de individuos (Carrilafquen y Morenito), para ello se utilizaron los mismos puntos homólogos que en las comparaciones anteriores.

Para testear diferencias de formas entre los individuos de cada sitio muestreado, se utilizó AD con la matriz de forma proveniente del AMG. En todos los casos, para describir la variación de forma en los dos primeros RWs, fueron analizadas las grillas de deformación visualizando tanto las grillas como los vectores de direccionamiento de cambio, esto se realizó recorriendo todo el eje de izquierda a derecha (RW1) y de abajo hacia arriba (RW2).

La información de las características ambientales fue extraída de la literatura (Tabla 7) y del Servicio Meteorológico Nacional (<http://www.smn.gov.ar/>). Se utilizaron 12 variables ambientales para estudiar y establecer las interrelaciones de la

forma cefálica con las características ambientales propias de cada sitio estudiado. Por otro lado, se extrajo la imagen de cada lago mediante Google Earth (<http://www.earth.google.com/>) y fue procesada con *Image Pro Plus*, obteniendo el desarrollo de línea de costa ($DL = \text{perímetro} \cdot [2 \cdot (\pi \cdot \text{área})^{1/2}]^{-1}$, Wetzel 1981) y la relación perímetro \cdot área⁻¹ (RPA). RPA y DL muestran el desarrollo de la zona litoral, la entrada de nutrientes, abundancia de macrófitas y la disponibilidad de zona de refugio (Aigo *et al.* 2008). Los valores faltantes fueron reemplazados por las medias. La significancia de estas relaciones se corrigió con el criterio de Bonferroni.

Efectos de la condición de cría en O. bonariensis

Se trabajó con individuos pertenecientes al lote Kanagawa. Estos individuos provienen de la Estación experimental Kanagawa (Japón), fueron repatriados al IIB-INTECH (Chascomús, Argentina) y criados por varias generaciones. Los lotes a y b son progenie de éstos, nacidos en noviembre de 2005 y criados bajo distintas condiciones de cultivo, en las instalaciones del INTECH (Chascomús).

Se trabajó con tres lotes de individuos:

a) Criados en jaula, en la laguna Chascomús. Durante el primer año de vida se alimentaron con zooplancton de la laguna. El segundo año, fueron criados en tanques circulares en las instalaciones del INTECH y alimentados solo con alimento balanceado.

b) Criados en tanque circular y alimentados con balanceado exclusivamente durante dos años.

c) Criados en tanque circular durante 6 años y alimentados con alimento balanceado exclusivamente.

Estos lotes fueron comparados con los individuos capturados en la laguna San Lorenzo para estudiar las posibles variaciones morfológicas causadas por las distintas

condiciones de cultivo, tanto por el tipo de alimento (vivo o balanceado) como por el recinto de cría (circular o jaula).

Los individuos fueron anestesiados, en un baño de agua con hielo y fotografiados en su flanco izquierdo, con detalle cefálico. La cámara fotográfica (Nikon D70), fue colocada en un estativo para evitar error de paralaje. Todas las imágenes, fueron analizadas con AMG, se tomaron 11 puntos homólogos (Tabla 6) (*Landmarks*, Bookstein 1991), en la región cefálica. Los puntos digitalizados fueron los mismos utilizados en el anterior apartado. Se realizaron 2 comparaciones; entre lotes a, b y silvestres y entre lotes b, c y silvestres.

Resultados

Diferencias inter-específicas

Los dos primeros RWs del Análisis de Morfometría Geométrica (AMG) explican el 48% de la variación (N= 415, RW1 31,68 % y RW2 16,15 %, Fig. 23 a). Las grillas de deformación dan como resultado en el RW1 (Fig. 24) individuos con maxilar y premaxilar largo, ojo pequeño en posición anterior, cabeza alta y corta y prognatismo del dentario en el extremo negativo. En el otro extremo encontramos individuos con maxilar y premaxilar corto, ojo grande, cabeza larga y prognatismo del premaxilar. En el RW2 encontramos individuos con cabeza corta y prognatismo del premaxilar en el extremo negativo y en el extremo positivo encontramos individuos con cabeza larga y prognatismo del dentario.

El AD (N= 415) da como resultado un 83,6 % de casos correctamente clasificados y esta clasificación explicó el 100% de la variación. La primera función discriminante (FD1, Wilks' lambda= 0,353; $P < 0,001$) separó las dos especies y la FD2 (Wilks' lambda= 0,917; $P < 0,006$) separó los individuos con caracteres intermedios de los individuos de ambas especies *O. hatcheri* (Fig. 23 b). A pesar de la buena discriminación entre los grupos taxonómicos, el gráfico de *sunflowers*, este gráfico muestra los individuos que fueron nombrados como una especie y el análisis discriminante los reconoció como otra distinta (Fig. 25) muestra que en ambas especies hay un gran número de individuos considerados en otra categoría por el AD, mostrando cada sitio diferente proporción de casos correctamente clasificados (Tabla 5). Particularmente, el número de individuos de *O. hatcheri* mal clasificados según el AD (Fig. 26 a) mostró una relación significativa y negativa con la distancia euclídea a la Piscicultura Río Limay (Pearson $r = -0,674$; N=10, $P < 0,032$) y a la Estación de

Piscicultura de Embalse (Pearson $r=-0,722$; $N=10$, $P< 0,018$) y un resultado marginal con la Estación Hidrobiológica de Chascomús, (Pearson $r=-0,627$; $N=10$, $P< 0,052$). Asimismo, el número de individuos de *O. bonariensis* mal clasificados (Fig. 26 b) mostró solo un resultado marginal con la distancia euclídea a la Piscicultura Río Limay (Pearson $r=-0,867$; $N=5$, $P< 0,057$).

Al considerar el dendrograma basado en el análisis de agrupamientos aplicado a la forma consenso de cada sitio de muestreo, puede observarse que *O. hatcheri* y *O. bonariensis* formaron dos grupos separados. Sin embargo, dentro de *O. bonariensis*, están situados todos los individuos capturados en el lago Pellegrini. Éste es el sitio, donde al clasificar los individuos por clave taxonómica (Dyer 2006) se observan ambas especies e individuos con caracteres intermedios. Dentro de las poblaciones de *O. hatcheri*, los individuos capturados en el lago Rosario se ubicaron separados del resto de las poblaciones. Por fuera de ambas especies se ubicaron los individuos capturados en el lago Buenos Aires (Fig. 27).

Variación morfológica intra-específica de O. bonariensis

Los dos primeros RW, correspondientes a 3 lagos y dos embalses, explicaron el 54% de la variación ($N= 106$). Al observar las grillas de deformación (Fig. 28) se sitúan los individuos con maxilar y premaxilar largos, ojo pequeño, cabeza corta y prognatismo del dentario en el extremo negativo del RW1. En el otro extremo se encuentran los individuos con maxilar y premaxilar cortos, ojo grande, cabeza larga, porción anterior del premaxilar engrosada y un leve prognatismo del dentario. En el RW2 se observan individuos con maxilar y premaxilar cortos, cabeza corta y ojo adelantado en el extremo negativo. En el otro extremo se sitúan individuos con maxilar y premaxilar largos, cabeza larga y ojo atrasado.

El RW1 mostró dependencia significativa con la temperatura media del aire en verano (TMAV) (Regresión $t=7,637$; $N=5$, $P<0,024$; Fig. 29).

El AD entre los cinco sitios de muestreo produjo tres FDs significativas, que clasificaron correctamente el 89,6% de los casos y explicaron el 97,2% de la variación. Además, la FD1 (Wilks' lambda= 0,022; $P< 0,001$) mostró una relación significativa con el LE (Pearson $r= 0,874$; $N= 106$, $P< 0,01$), no pudiéndose diferenciar claramente cada población. Las FD2 y FD3 permitieron diferenciar por un lado los embalses Ullum y Carrizal y el lago San Lorenzo y por otro el grupo formado por los individuos de los lagos Pellegrini y Urre Lauquen (Fig. 30).

Variación morfológica intra-específica de O. hatcheri

Los dos primeros RW explicaron el 49% de la variación ($N= 302$). Las grillas de deformación (Fig. 31y 32) mostraron individuos con maxilar y premaxilar largos, ojo pequeño y cabeza corta en el extremo negativo del RW1. En el otro extremo se encuentran individuos con maxilar y premaxilar cortos, ojo grande, cabeza larga y prognatismo del premaxilar. Sobre el RW2 se sitúan individuos con ojo anterior, cabeza corta y prognatismo del premaxilar en el extremo negativo. En el otro extremo se observan individuos con ojo pequeño (Fig. 31).

En cuanto al efecto de la talla (Largo estándar (LE)), se ve una significativa relación entre el RW1 y el LE (Fig.ura 33). Los individuos pequeños (10cm LE) poseen maxilar y premaxilar cortos, cabeza larga y prognatismo del dentario; los individuos de tamaño medio (25cm LE) poseen maxilar y premaxilar largos, cabeza pequeña y un leve prognatismo del dentario y los individuos de mayor talla (40cm LE) poseen maxilar y premaxilar largos, ojo pequeño y cabeza corta.

Al analizar las regresiones con las variables ambientales encontramos que el RW1 mostró dependencia con 3 de ellas, la profundidad media (Regresión, N= 10, t= 13,829; P< 0,014; Fig. 34), el contenido de clorofila a (Regresión, t= 10,117; N= 10, P< 0,014) y la TMAV (Regresión, t= -4,724; N= 10, P< 0,042).

El AD entre los 10 sitios (8 lagos, un río y un embalse) produjo 8 FDs significativas que clasificaron correctamente el 73,5% de los casos y explicaron el 99,1% de la variación. La variación morfológica tuvo relación con el tamaño de los individuos en las dos primeras FDs. La FD1 (Wilks' lambda=0,023; P< 0,001) y la FD2 (Wilks' lambda=0,077; P< 0,001) mostraron relación significativa con el LE (Pearson r= 0,594; N= 302, P< 0,01 y Pearson r= -0,569; N= 302, P< 0,01; respectivamente). A pesar del efecto talla, las FD1 y FD2 mostraron diferencias para la forma del cuerpo de la población del lago Buenos Aires y ligeras diferencias para los lagos Morenito, Pellegrini y para el embalse Florentino Ameghino (Fig. 35).

Variación morfológica intra-lacustre de O. hatcheri

En el lago Morenito, los dos primeros RWs explican el 63,59% de la variación (N= 42; RW1= 49,77% y RW2= 13,82%). Al observar las grillas de deformación (Fig. 36) en el RW1, se sitúan individuos con maxilar y premaxilar largos, ojo pequeño, cabeza corta y prognatismo del dentario en el extremo negativo. En el extremo positivo se encuentran individuos con maxilar y premaxilar cortos, ojo grande y cabeza larga. Sobre el RW2 se sitúan individuos con maxilar y premaxilar largos, ojo en posición anterior y cabeza corta en el extremo negativo. En el otro extremo se observan individuos con maxilar y premaxilar cortos y prognatismo del premaxilar.

En el lago Carrilafquen, los dos primeros RWs explicaron el 42,82% de la variación (N= 58; RW1= 23,15% y RW2= 19,67%). Al observar las grillas de deformación (Fig. 37) sobre el RW1 se sitúan individuos con maxilar y premaxilar

cortos, ojo en posición posterior y cabeza larga en el extremo negativo. En el otro extremo se encuentran individuos con maxilar y premaxilar largos, ojo en posición anterior y cabeza alta. Sobre el RW2 se observan individuos con ojo grande en el extremo negativo y en el otro extremo los individuos con ojo pequeño.

Considerando ambos lagos dentro de un mismo AMG, existe una relación negativa del RW1 con la talla para los individuos del lago Morenito (Regresión, $N= 41$, $F= 12,428$; $P< 0,001$) y una relación positiva para los individuos del lago Carrilafquen (Regresión, $F= 51,095$; $N= 57$, $P< 0,001$).

*Condición de Cría en *O. bonariensis**

Comparación de individuos criados por dos años (lotes a y b) con silvestres: Los dos primeros RWs explican un 66,11% de la variación ($N= 66$; $RW1=40\%$ y $RW2=26,11\%$). Al observar las grillas de deformación (Fig. 38), en el RW1 se sitúan individuos con cabeza corta, premaxilar ancho y corto y el contacto ventral entre el subopérculo y el inter-opérculo atrasado. En el otro extremo encontramos individuos con cabeza larga y premaxilar largo. Sobre el RW2 se observa individuos con cabeza larga, ojo grande, premaxilar angosto y contacto entre el simpléctico y el preopérculo adelantado. En el otro extremo se sitúan individuos con cabeza corta, ojo pequeño y prognatismo del premaxilar.

El AD produjo 2 FDs significativas que clasificaron correctamente el 98,5% de los casos y explicaron el 100% de la variación. La FD1 (Wilks' lambda=0,029; $P< 0,001$) mostró relación negativa con la talla (Pearson $r= -0,642$; $N= 66$, $P< 0,001$) y separó los tres grupos y la FD2 (Wilks' lambda=0,437; $P< 0,001$) separó los individuos criados en jaula de los otros dos grupos (Fig. 39).

Comparación de individuos criados en tanques circulares por 2 y 6 años con silvestres: Los dos primeros RWs explicaron un 67,84% de la variación (N= 84; RW1=46,19% y RW2=21,65%). Al observar las grillas de deformación (Fig. 40) en el RW1 se sitúan individuos con cabeza larga y alta y ojo grande. En el otro extremo se encuentran individuos con cabeza corta, ojo pequeño, premaxilar ancho y el extremo antero ventral de éste sobrepasando el dentario. Sobre el RW2 se observan individuos con cabeza larga pero con el contacto entre el simpléctico y el preopérculo adelantado, ojo pequeño y elevado y el premaxilar ancho y largo. En el otro extremo se sitúan individuos con cabeza corta, ojo grande y premaxilar corto.

El AD produjo 2 FDs significativas que clasificaron correctamente el 97,6% de los casos y explicaron el 100% de la variación (FD1, Wilks' lambda=0,014; $P < 0,001$ y FD2, Wilks' lambda=0,271; $P < 0,001$). Se encontró relación con la talla en ambas FDs (Pearson $r=0,911$; N= 84, $P < 0,001$ y Pearson $r=0,243$; N= 84, $P < 0,0261$; respectivamente). Además, la FD1 separó los individuos silvestres de los restantes y la FD2 los individuos de 2 años de los otros dos grupos (Fig. 41).

Tabla 5: Se muestran las localidades muestreadas de norte a sur, identificando (por clave taxonómica) las especies capturadas y la talla en largo estándar (cm) de los individuos utilizados. N: número total de individuos capturados en cada sitio. Entre corchetes se expresa el porcentaje de individuos mal clasificados, según el análisis discriminante.

Localidades muestreadas	Latitud/Longitud (Sur/Oeste)	Especies (N) { % }	Largo estándar (media y rango)
Embalse Ullum	31°28'/68°40'	<i>O. bonariensis</i> (22) {18.2}	8.9 (6.1-13.7)
Embalse El Carrizal	33°20'/68°43'	<i>O. bonariensis</i> (33) {6.1}	17.1 (9.7-30.9)
Lago San Lorenzo	36°05'/58°01'	<i>O. bonariensis</i> (40) {0.0}	20.1 (16.0-27.2)
Lago Urre Lauquen	38°05'/65°50'	<i>O. bonariensis</i> (4) {25.0}	12.0 (7.0-16.4)
Lago Pellegrini	38°41'/67°59'	<i>O. bonariensis</i> (7) {57.2}, <i>O. hatcheri</i> (32) {64.4} ICI ⁽¹⁾ (6)	26.0 (22.3-29.6)
Lago Morenito	41°03'/71°31'	<i>O. hatcheri</i> (42) {38.1}	26.7 (15.4-41.2)
Lago Carilafquen	41°12'/69°25'	<i>O. hatcheri</i> (58) {1.8}	19.2 (29.6-11.4)
Lago Rivadavia	42°30'/71°45'	<i>O. hatcheri</i> (26) {30.7}	7.1 (6.4-7.8)
Lago Rosario	43°15'/71°20'	<i>O. hatcheri</i> (25) {8.0}	28.0 (15.9-33.0)
Embalse Florentino Ameghino	43°42'/66°29'	<i>O. hatcheri</i> (14) {28.5}	16.6 (13.1-24.4)
Río Chubut (Los Altares)	43°51'/68°48'	<i>O. hatcheri</i> (14) {14.3}	9.4 (6.1-11.2)
Lago Musters	45°28'/69°10'	<i>O. hatcheri</i> (24) {12.5}	11.8 (6.0-22.9)
Lago Buenos Aires	46°29'/71°28'	<i>O. hatcheri</i> (36) {2.8}	17.8 (10.7-27.1)
Lago Pueyrredon	47°23'/71°55'	<i>O. hatcheri</i> (32) {6.2}	13.8 (9.2-39.0)

(1) IIC: Individuos con caracteres intermedios.

Tabla 6: Definición de los puntos homólogos utilizados en el análisis de la variación morfológica en adultos silvestres de *Odontheistes* de la Figura 22.

Nº punto	Definición
1	Extremo anterior del dentario
2	Extremo antero-ventral del premaxilar
3	Extremo antero-dorsal del premaxilar
4	Extremo postero-inferior del premaxilar
5	Centro de la narina anterior
6	Extremo postero-inferior del dentario
7, 8, 9 y 10	Bordes del ojo (antero-posterior y dorso-ventral)
11	Contacto ventral entre el inter-opérculo y el sub-opérculo

Tabla 7: Localidades muestreadas en orden de Norte a Sur. Variables ambientales Físico-Químicas. Desarrollo de línea de costa (DL).

	Área (km ²)	Perímetro (km)	Profundidad (m)	Altitud (m.s.n.m)	DL (km)	RPA (km ⁻¹)	Temperatura del aire de Captura (°C)	Temperatura del agua de Captura (°C)	Temperatura media del aire en verano (°C)	Conductividad (μS . cm ⁻¹)	Clorophyll a (mg.m ⁻³)	tn:tp
Ullum ^{3,5}	32	49.56	40	768	0.23	1.55			22	550	0.93	1020
Carrizal ^{3,5}	31.47	46		785.5	0.23	1.46			22	1670	4.79	925
San Lorenzo ³	16	18.07	2.2		0.44	1.13			21			
Urre Lauquen ^{3,4}	95	29.03	7	219	0.05	0.31			23	122100	7.6	2660
Pellegrini ^{3,4,5,8}	112	69	9	270	1.84	0.62			22	22000		71.3
Morenito ^{3,6,7}	0.26	2	5	758	1.38	9.58		11	13	78	7.09	
Carrilafquen ^{2,3,4}	6	11	2	825	1.25	1.85		5	17	894	23.7	0.28
Rivadavia ^{3,5}	22	31	104	527	1.83	1.37	14	15	13	55	1.69	253
Rosario ^{3,5}	14	21	25	650	1.56	1.45			13			76.6
Florentino Ameguíno ^{3,4,5}	65	205	25	169	7.18	3.16			19	242	1.2	63.4
Chubut River			2	269			28	21	18	291	2.17	
Muster ^{3,5}	414	150	20	260	2.08	0.36		14	17	440	14.07	65.9
Buenos Aires ^{1,3}	1870	504	463	214	3.29	0.27	17	11	14	80		
Pueyrredón ³	326	211		155	3.29	0.65	19.5	12	13	176	0.35	

1: Díaz et al. (2000), 2: Díaz & Pedrozo (1996), 3: Servicio Meteorológico Nacional (<http://www.smn.gov.ar/>), 4: IARH-INCYTH, 5: Quirós (<http://www.agro.uba.ar/users/quiros/>), 6: Macchi et al. (1999), 7: Modenutti et al. (2000), 8: Amalfi (2009). Wetzel R (1981) Limnología. Barcelona, Omega, 679 p

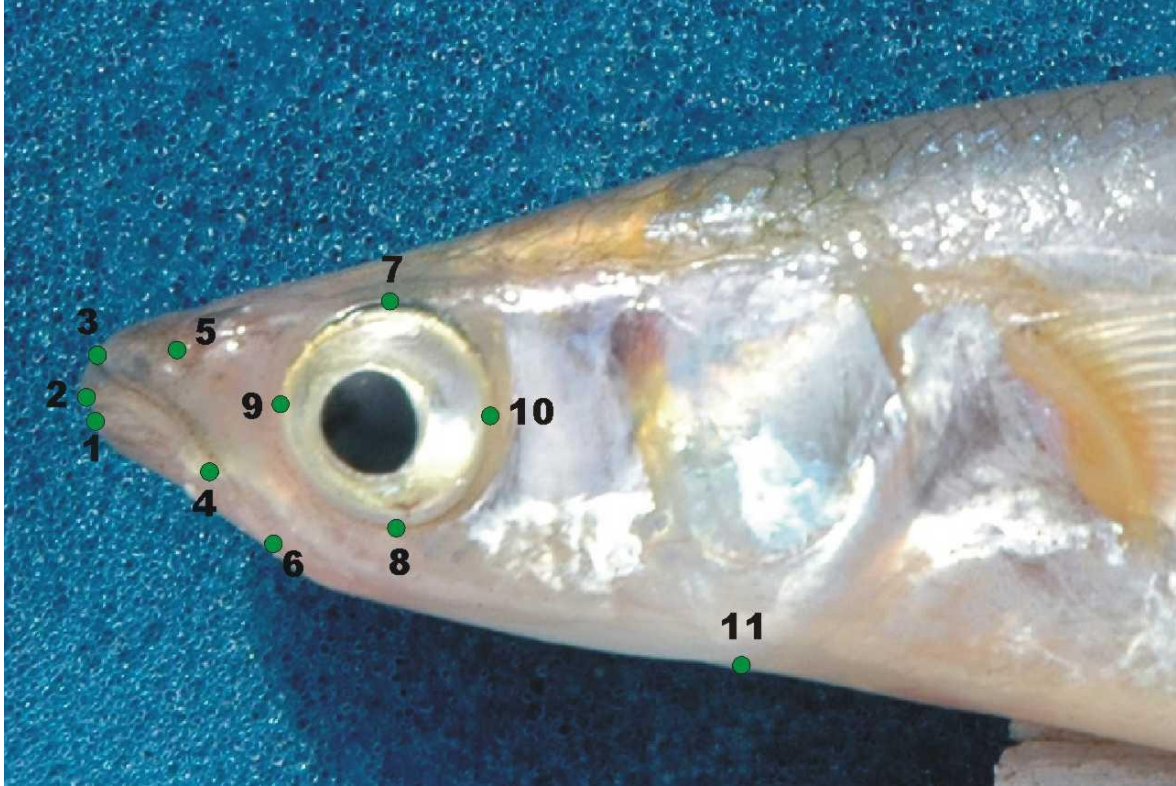


Figura 22: Imagen lateral izquierda, en detalle cefálico de *O. hatcheri*, individuo proveniente de laguna Carrilafquen. Círculos verdes indican los puntos homólogos, la definición de estos puntos está en la Tabla 6.

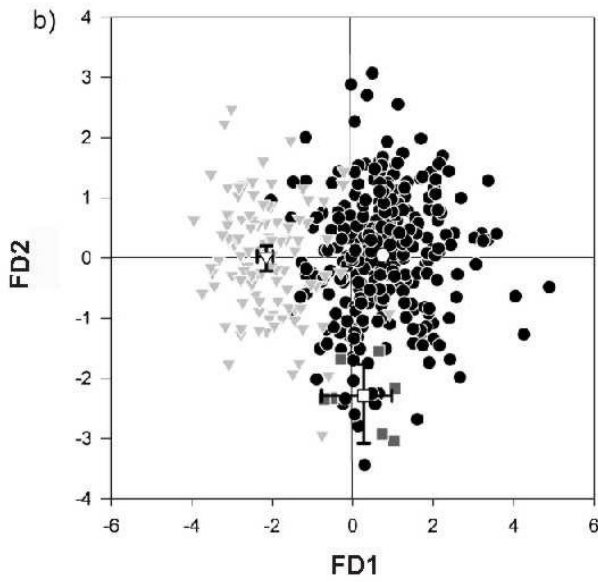
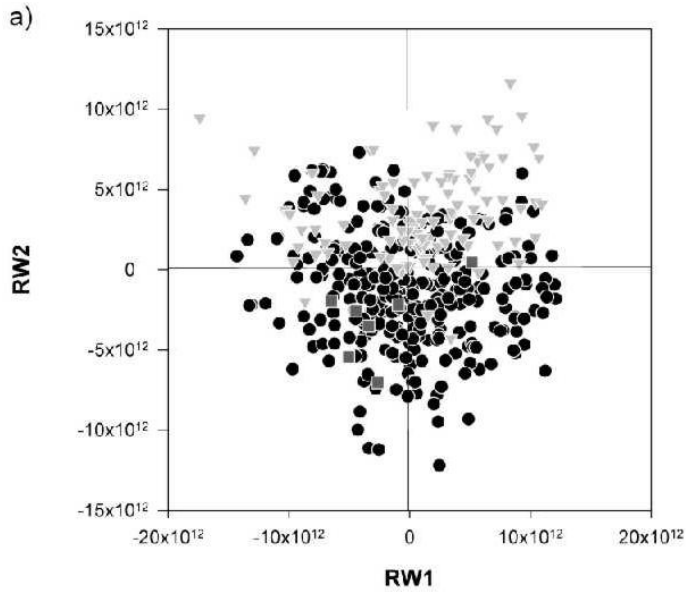


Figura 23: a) se muestra el primer relative warp versus el segundo del análisis de morfometría geométrica para todos los sitios muestreados dentro de la distribución original de *O. hatcheri*, se encuentran pintados de distinto color las dos especies encontradas. b) primera función discriminante versus segunda función discriminante, se marcan con cruz

los intervalos de confianza del 95% para los tres grupos. Triángulos grises *O. bonariensis*.
Círculos negros *O. hatcheri*. Cuadrados gris oscuro, individuos con caracteres intermedios.

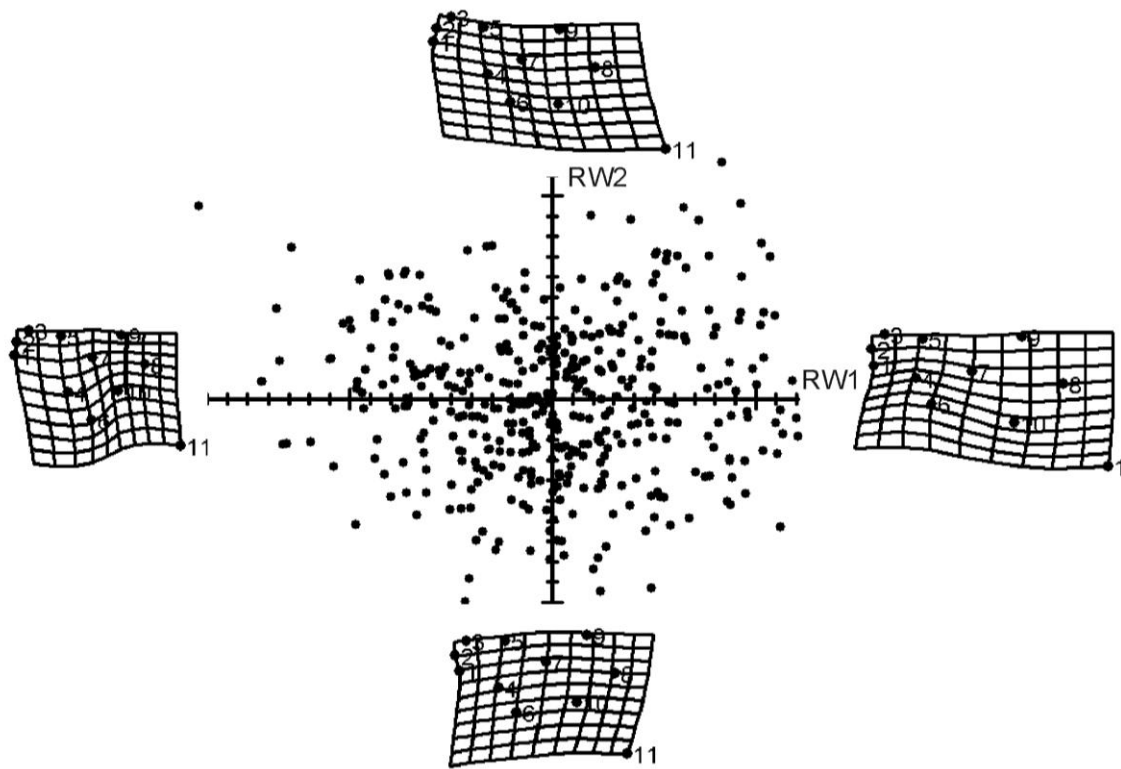


Figura 24: Grafico representativo de los dos primeros descriptivos de la forma (relative warps) para el análisis inter-específico de los individuos adultos capturados pertenecientes a *O. hatcheri*, *O. bonariensis* y los individuos con caracteres intermedios. En los extremos de cada eje se muestra las respectivas grillas de deformación.

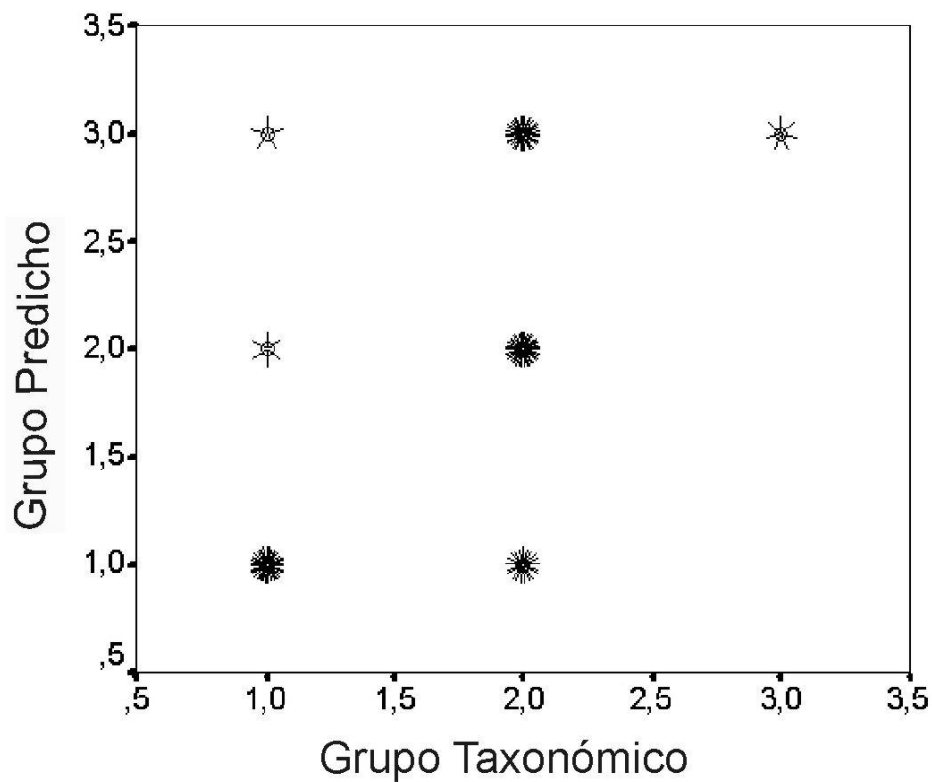


Figura 19: Grupo taxonómicos de pertenencia predichos por el Análisis Discriminante vs. grupos taxonómicos correspondientes a la identificación de cada individuo según la clave de Dyer (2006). 1) *O. bonariensis*, 2) *O. hatcheri*, 3) individuos con caracteres intermedios. En este gráfico cada radio representa 2 individuos.

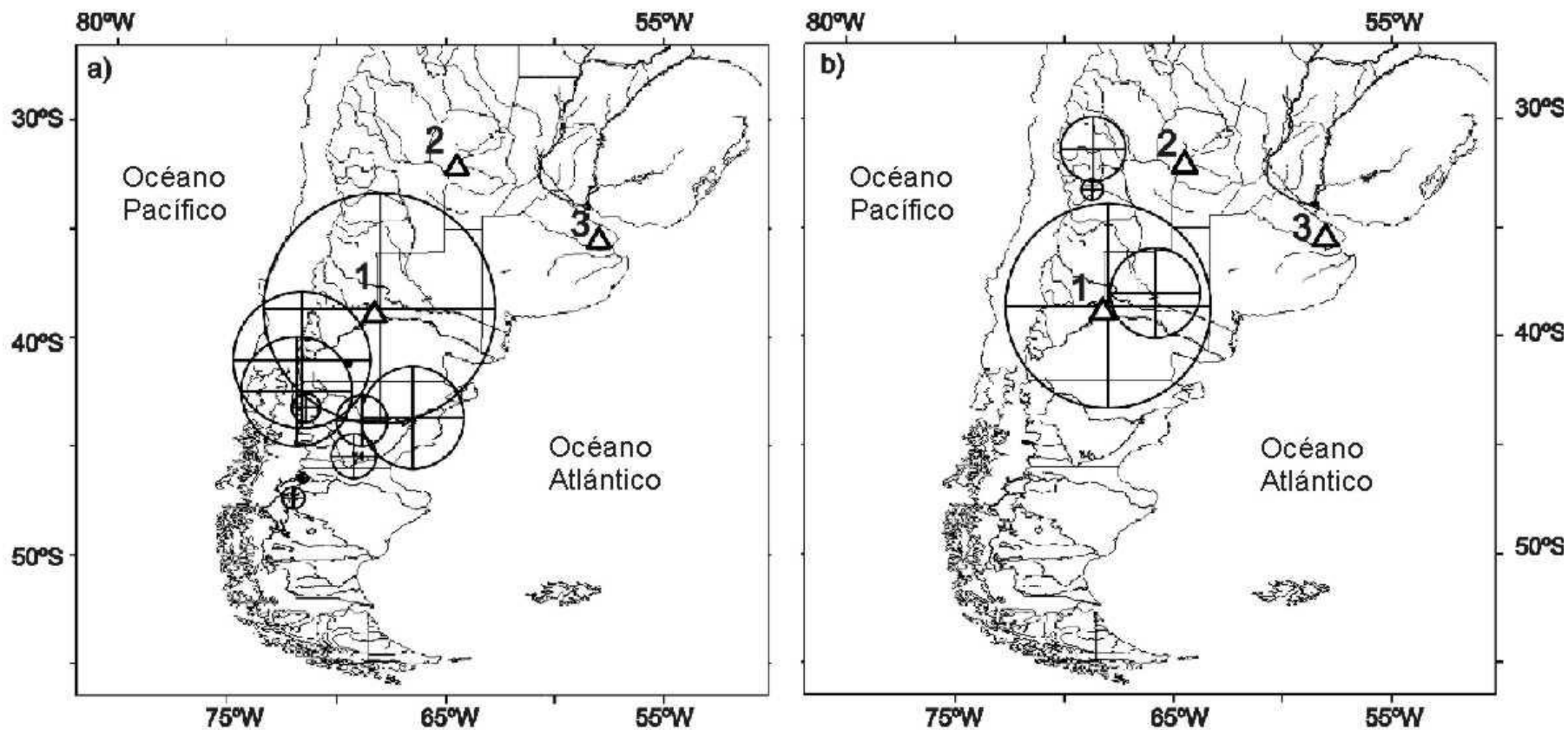


Figura 20: Sitios muestreados en los cuales se colectaron individuos de *O. hatcheri*: a) y *O. bonariensis* b) El tamaño de las esferas representa el porcentaje de individuos mal clasificados obtenidos con el análisis discriminante, para cada población, 1) Piscicultura Río Limay, 2) Estación de Piscicultura de Embalse y 3) Estación Hidrobiológica de Chascomús.

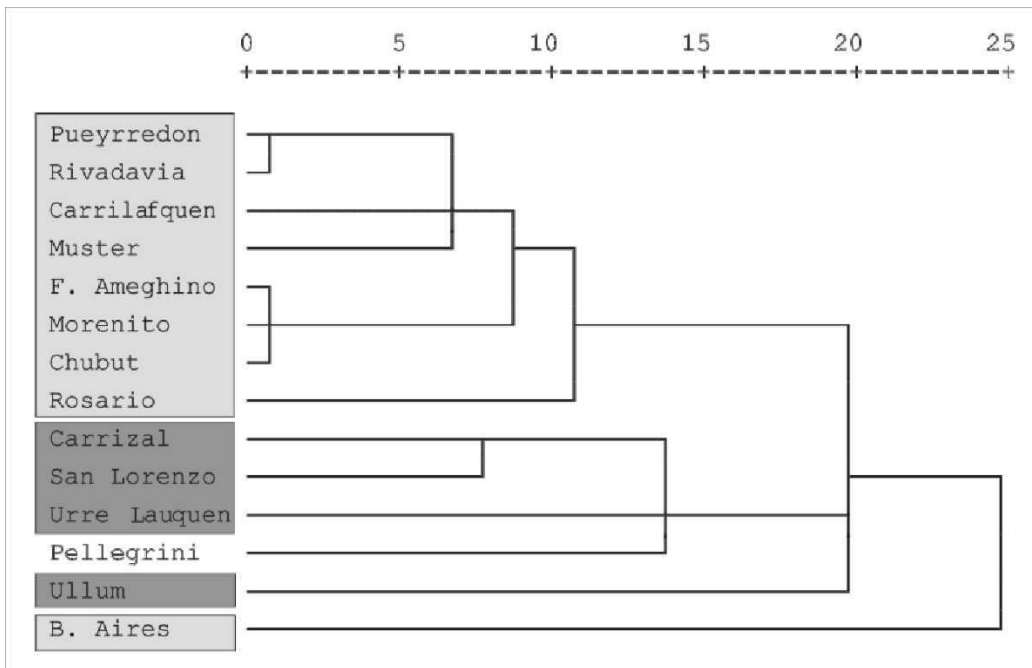


Figura 21: Análisis de agrupamiento. En gris claro se identifican las poblaciones de *O. hatcheri*. En gris oscuro se identifican las poblaciones de *O. bonariensis*. La población con fondo blanco representa el único lago (Pellegrini) donde se encontraron ambas especies e individuos con caracteres intermedios. Las distancias están re-escaladas a un valor de 25.

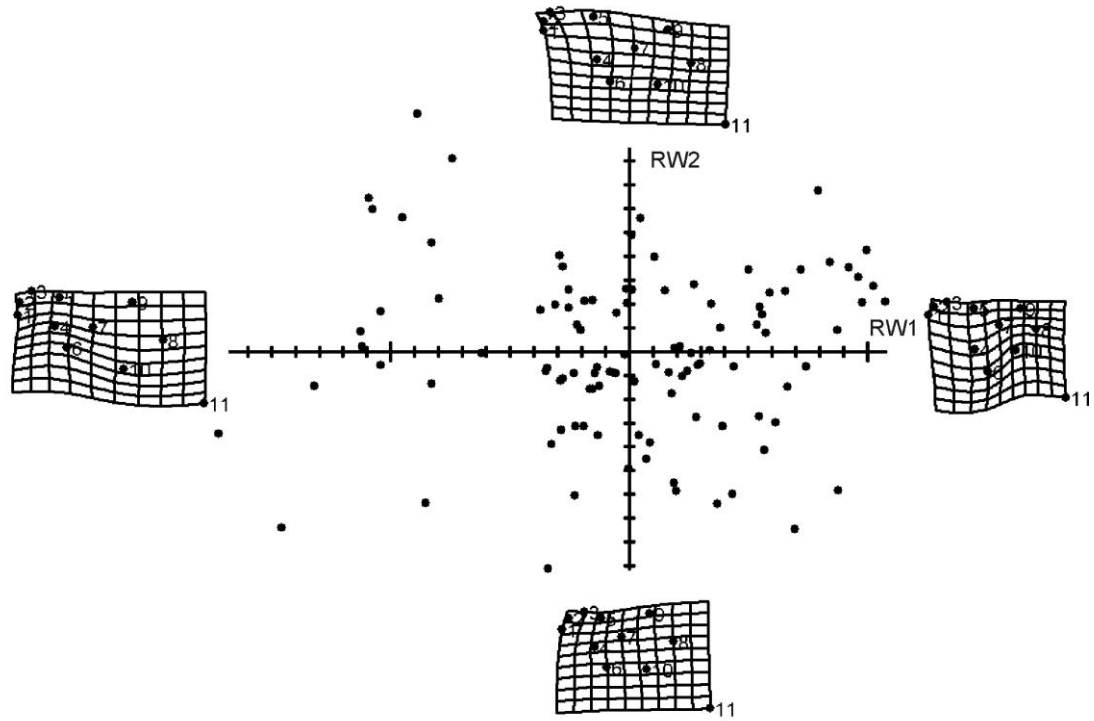


Figura 28: Grafico representativo de los dos primeros descriptivos de la forma (relative warps) para el análisis intra-específico de los individuos adultos capturados pertenecientes a *O. bonariensis*. En los extremos de cada eje se muestra las respectivas grillas de deformación.

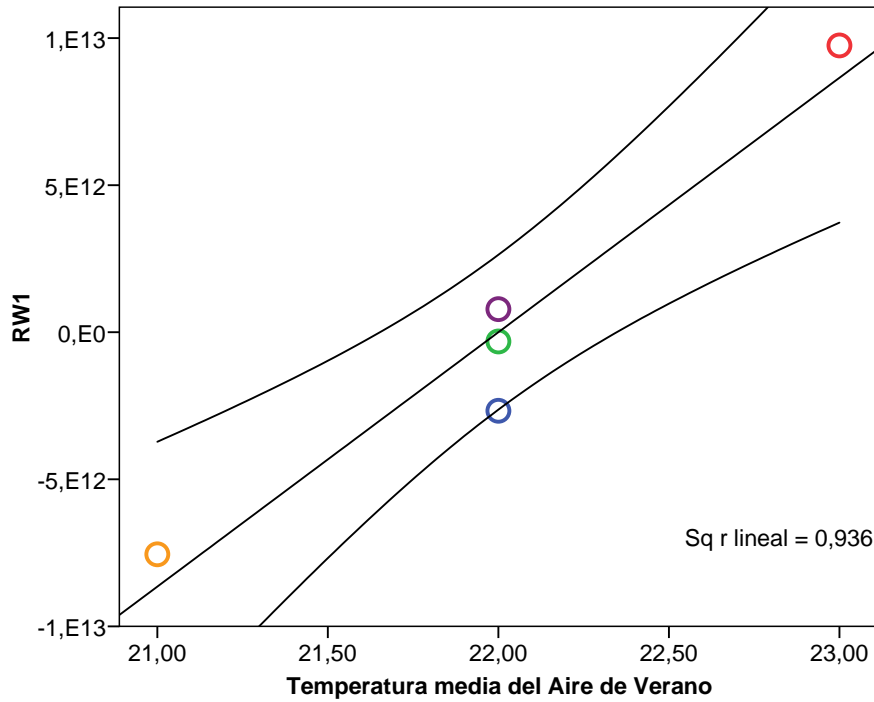


Figura 29: Relación entre el primer descriptivo de la forma y la Temperatura media del aire de verano, en el análisis intra-específico de los individuos adultos de *O. bonariensis* y las variables ambientales. En círculos azules se identifica el embalse Carrizal, círculos verdes Laguna San Lorenzo, círculos anaranjados Laguna Pellegrini, círculos violetas Embalse Ullum y círculos rojos Laguna Urrelafquen.

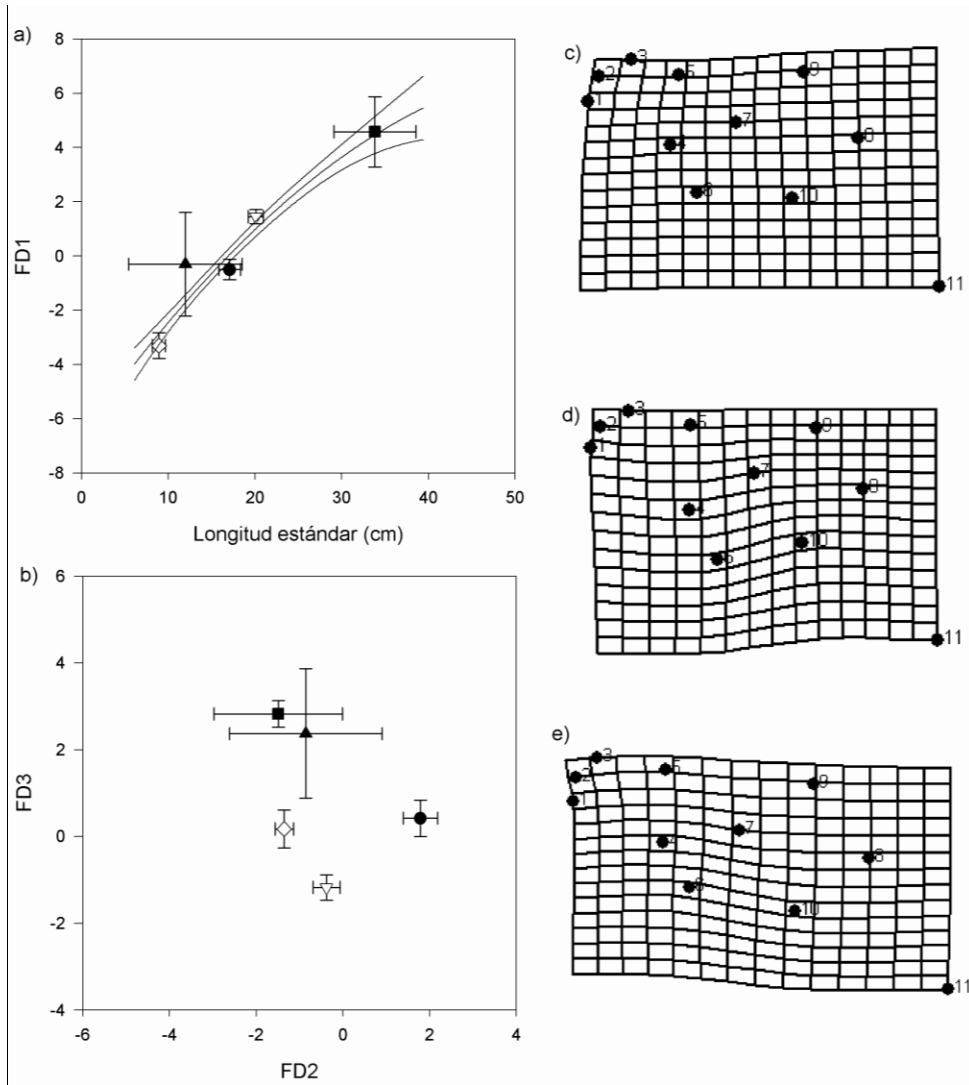


Figura 30: Análisis discriminante intra-específico de *O. bonariensis*. Se muestra la primera función discriminante versus el largo estándar a), segunda y tercera función discriminante b), las grillas de deformación para la forma media de las poblaciones que están sobre la curva, Ullum, San Lorenzo y Pellegrini, en c), d) y e) respectivamente.

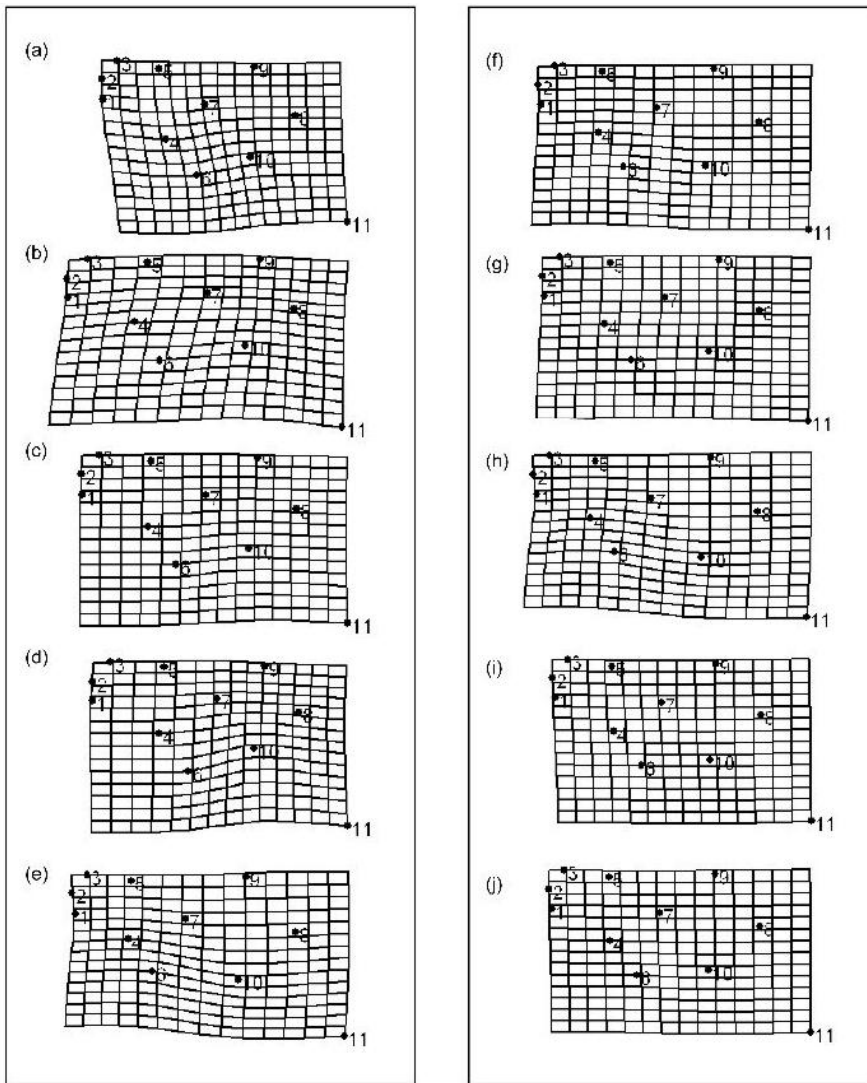


Figura 31: Grillas de deformación extraídas de la forma consenso para todos los individuos muestreados en cada sitio. a) Lago Buenos Aires, b) Lago Morenito, c) Lago Pellegrini, d) Lago Rosario, e) Embalse Florentino Ameghino, f), Río Chubut, g) Lago Rivadavia, h) Lago Muster, i) Lago Pueyrredón y j) Lago Carrilafquen.

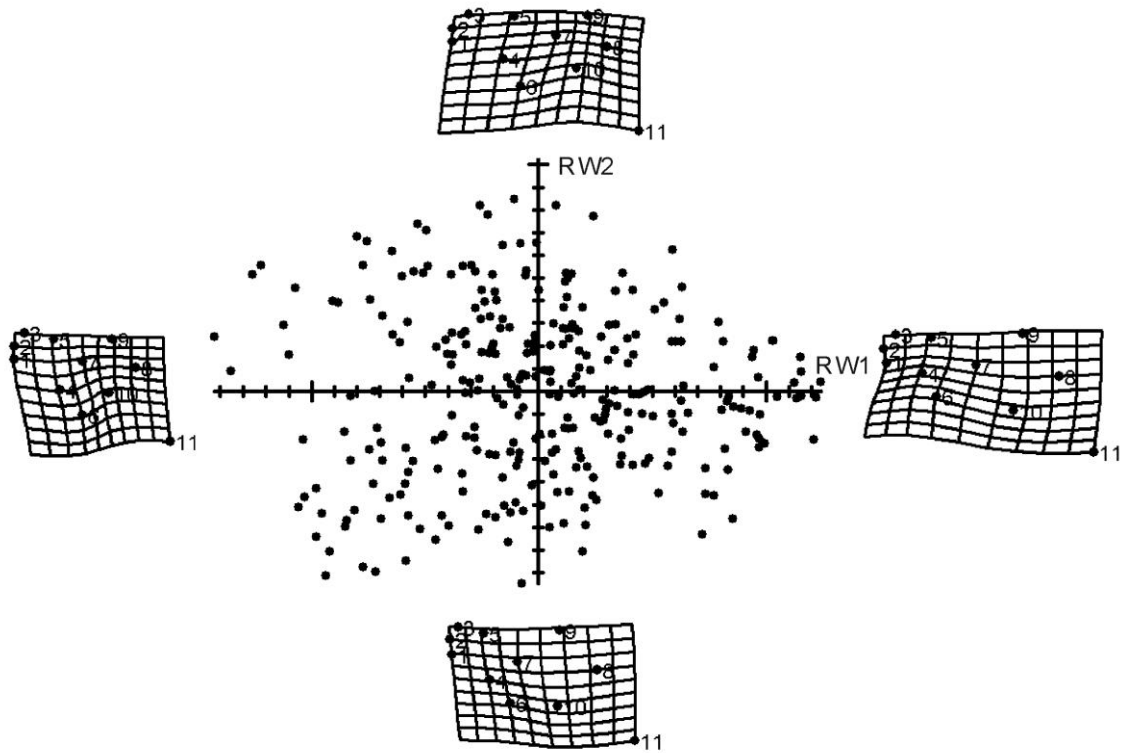


Figura 32: Grafico representativo de los dos primeros descriptivos de la forma (relative warps) para el análisis intra-específico de los individuos adultos capturados en distintos ambientes pertenecientes a *O. hatcheri*. En los extremos de cada eje se muestra las respectivas grillas de deformación.

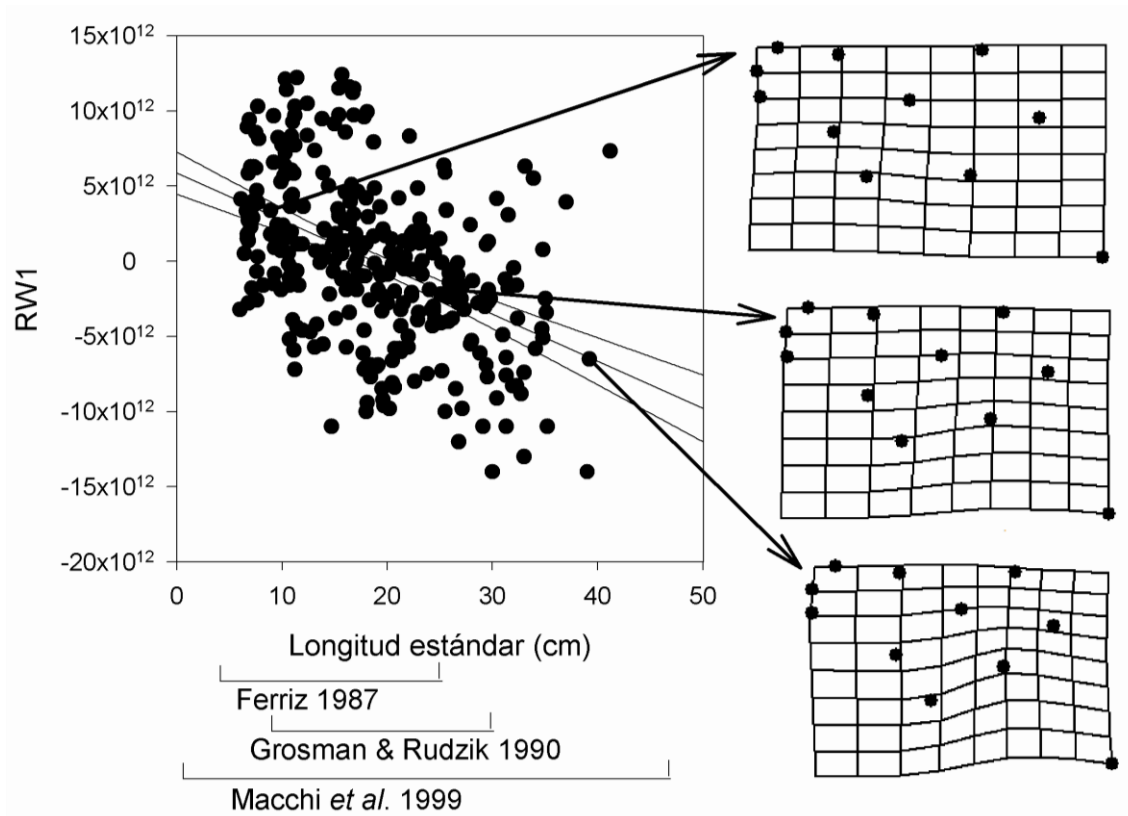


Figura 33: Efecto del tamaño en *O. hatcheri*. Largo estándar versus el primer relative warps, con flechas se señalan las grillas de deformación para los individuos de 10, 25 y 40 cm, cada uno de ellos está sobre la línea media, de regresión. En el eje de las x se marca con paréntesis los rangos de tallas estudiados en los distintos trabajos citados.

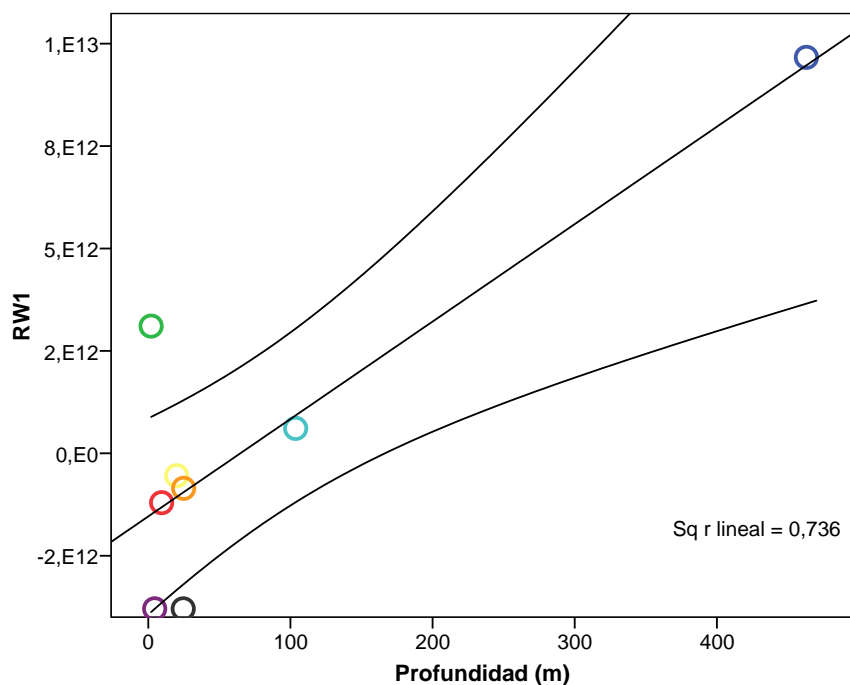


Figura 34: Relación entre el primer descriptivo de la forma y la Profundidad del cuerpo de agua, en el análisis intra-específico de los individuos adultos de *O. hatcheri* y las variables ambientales. En círculos azules se identifica el Lago Buenos Aires, círculos verdes Laguna Carrilafquen, círculos anaranjados Laguna Rosario, círculos violetas Lago Morenito, círculos rojos Lago Pellegrini, círculos amarillos Lago Múster, círculos celestes Lago Rivadavia, círculos negros Embalse Florentino Ameghino.

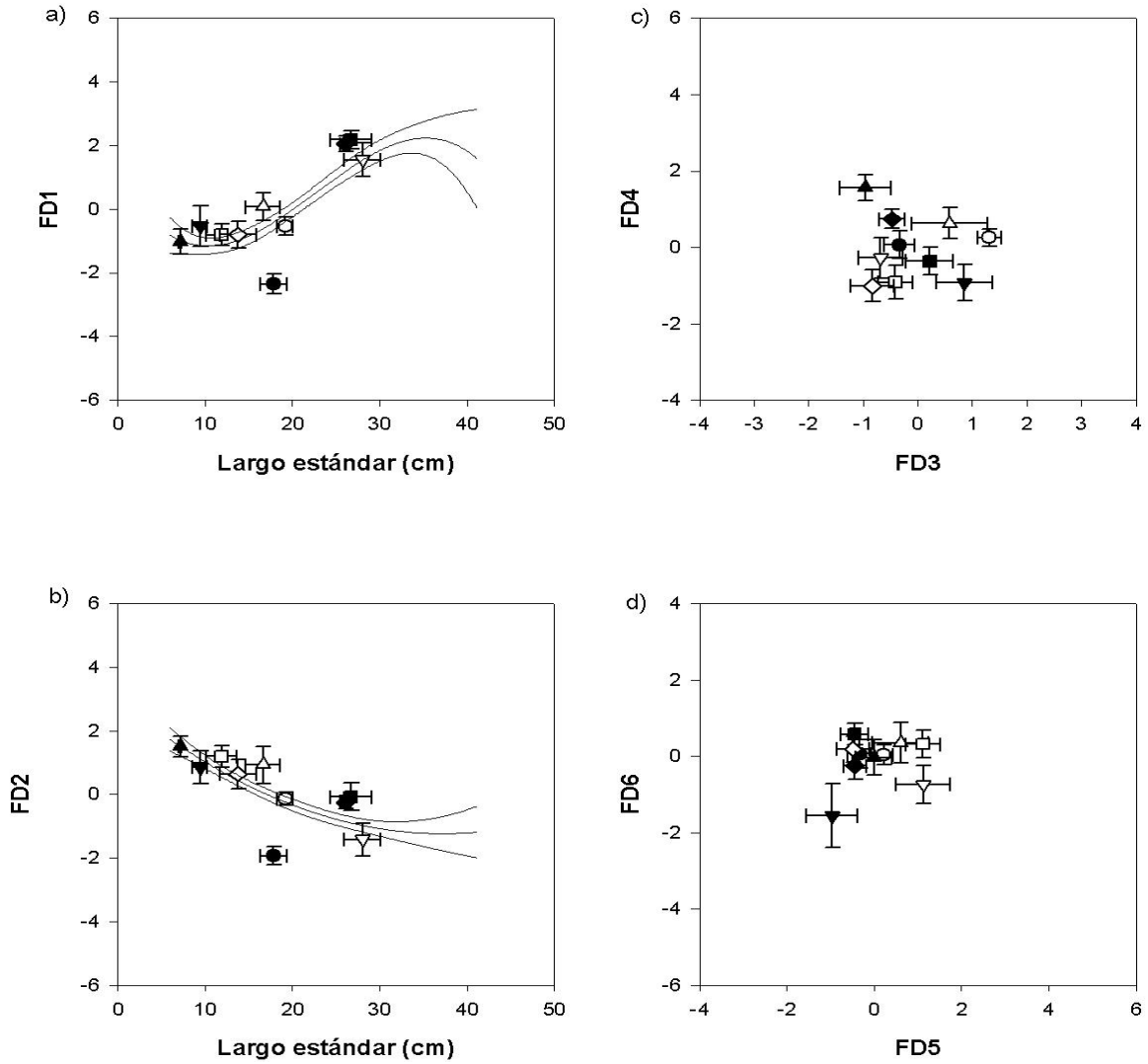


Figura 35: Se muestran los distintos discriminantes obtenidos al comparar los sitios de muestreo donde se capturaron *O. hatcheri* a) Largo estándar versus la primera función discriminante, b) Largo estándar versus la segunda función discriminante, c) tercera función discriminante versus cuarta función discriminante y e) quinta función discriminante versus sexta función discriminante de las poblaciones de *O. hatcheri* estudiadas. Se observan las diferencias de la forma del cuerpo de la población del lago Buenos Aires y

ligeras diferencias para los lagos Morenito, Pellegrini y para el embalse Florentino Ameghino.

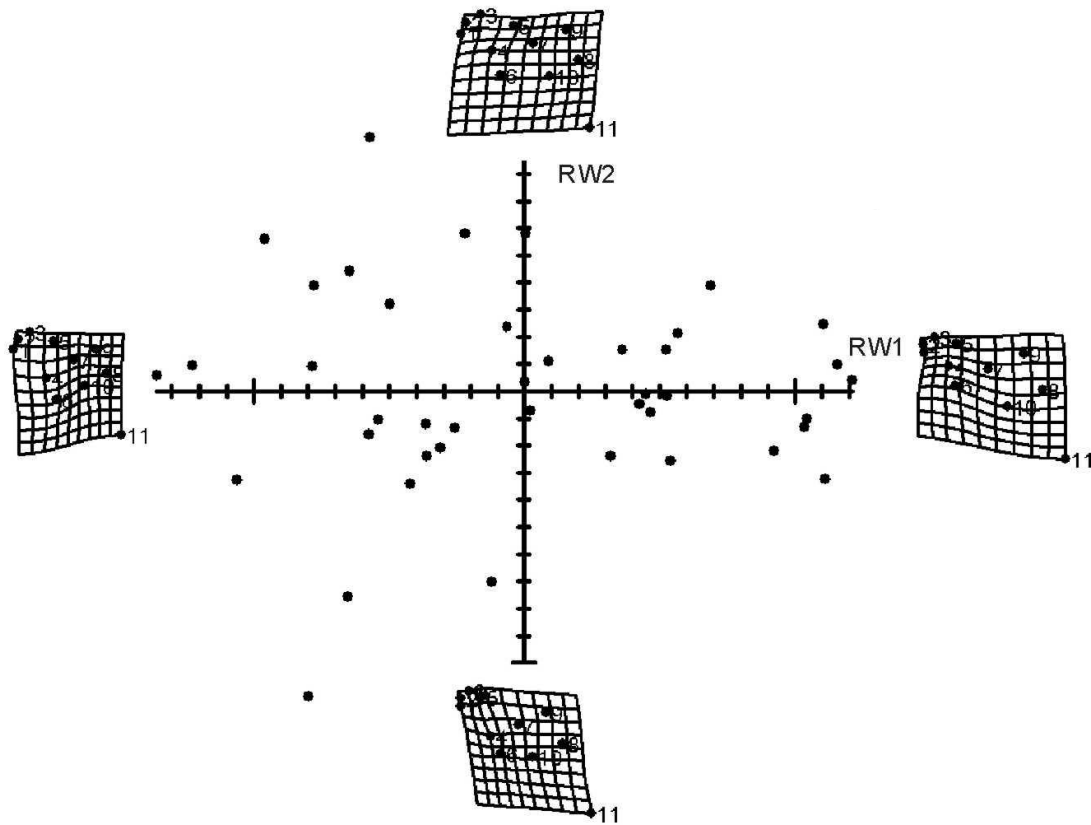


Figura 36: Grafico representativo de los dos primeros descriptivos de la forma (relative warps) para el análisis intra-lacustre de los individuos adultos capturados en el Lago Morenito *O. hatcheri*. En los extremos de cada eje se muestra las respectivas grillas de deformación.

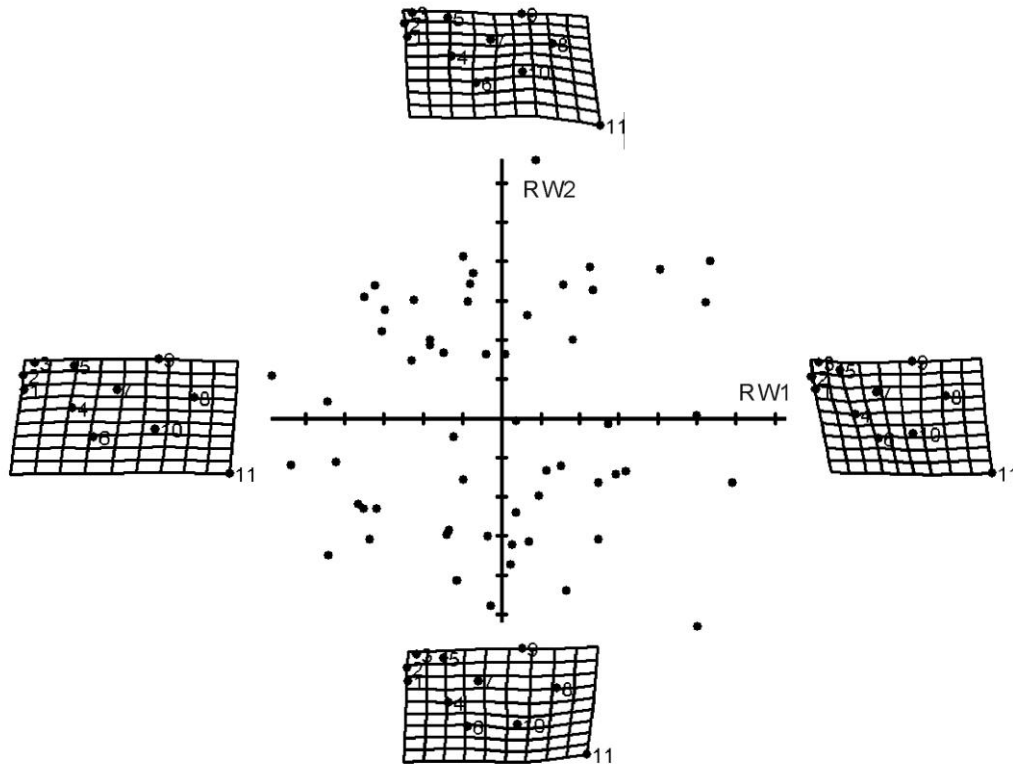


Figura 37: Grafico representativo de los dos primeros descriptivos de la forma (relative warps) para el análisis intra-lacustre de los individuos adultos capturados en el Lago Carrilafquen *O. hatcheri*. En los extremos de cada eje se muestra las respectivas grillas de deformación.

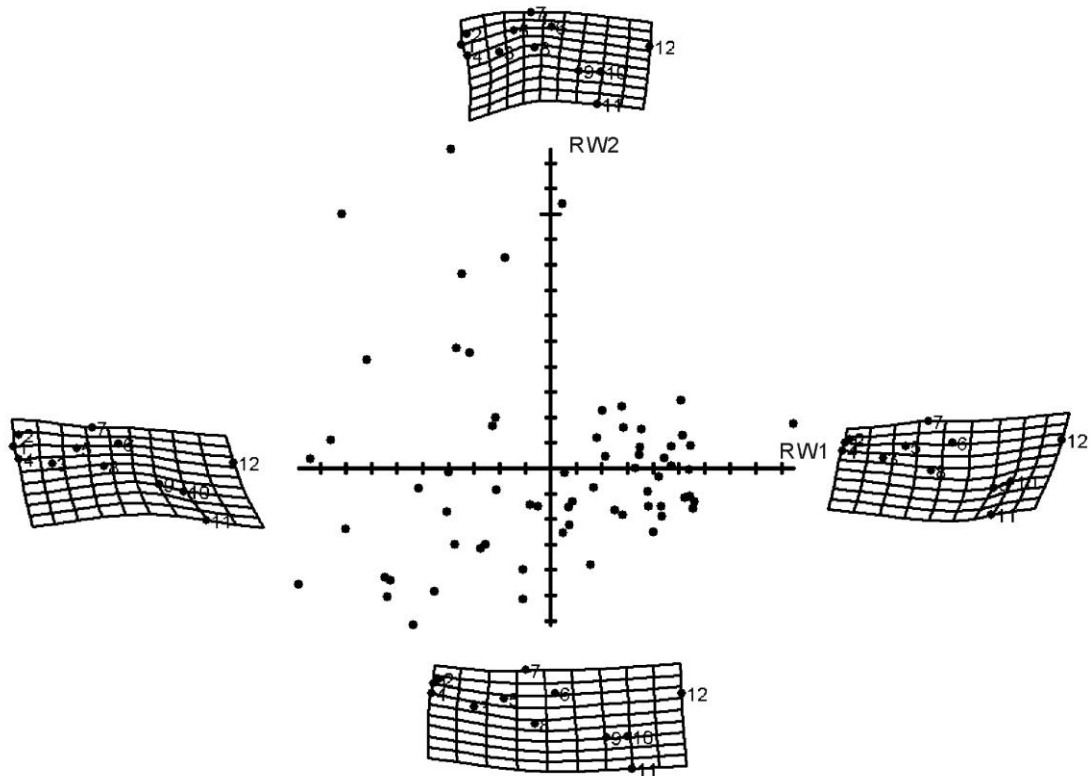


Figura 38: Grafico representativo de los dos primeros descriptivos de la forma (relative warps) para el análisis de los individuos adultos criados en Chascomús y los silvestres pertenecientes a la Laguna San Lorenzo, *O. bonariensis*. En los extremos de cada eje se muestra las respectivas grillas de deformación.

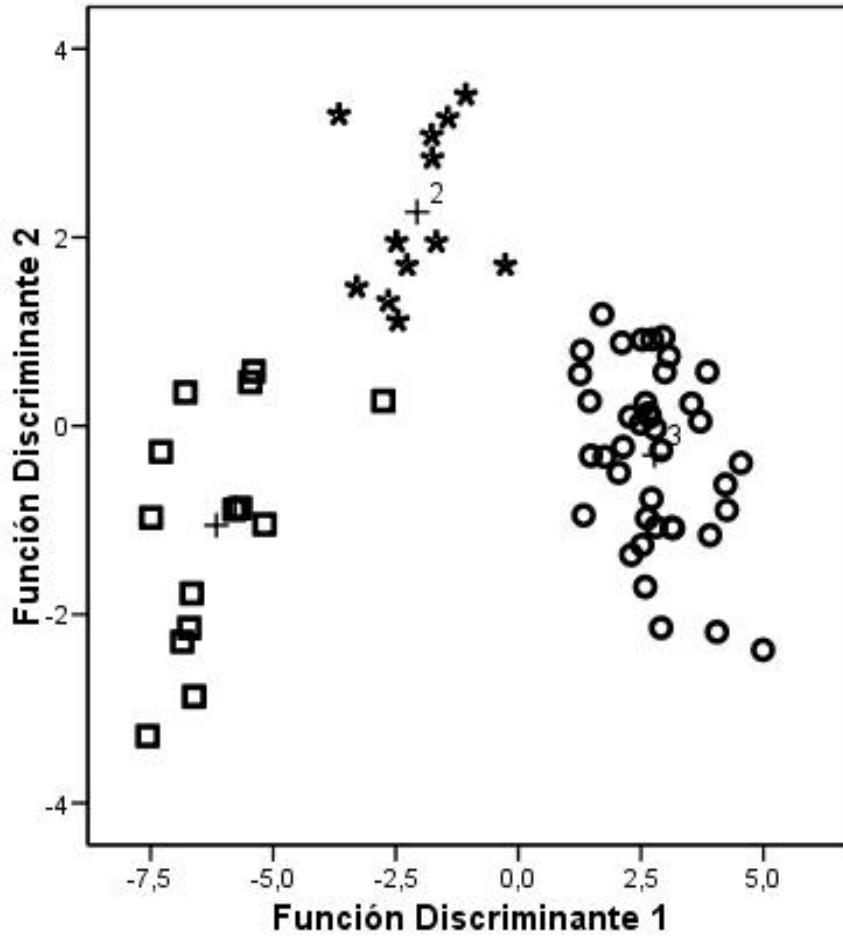


Figura 39: *O. bonariensis*. Primera y segunda función discriminante comparando los individuos criados en estanques circulares con los silvestres. Cuadrados: individuos de 2 años, siempre alimentados con balanceado y criados en estanque circular. Estrellas: individuos de 2 años, el primer año de vida fueron alimentados con zooplancton y criados en jaula, el segundo año de vida se alimentaron con balanceado y criados en tanque circular. Círculos: individuos silvestres del Lago San Lorenzo.

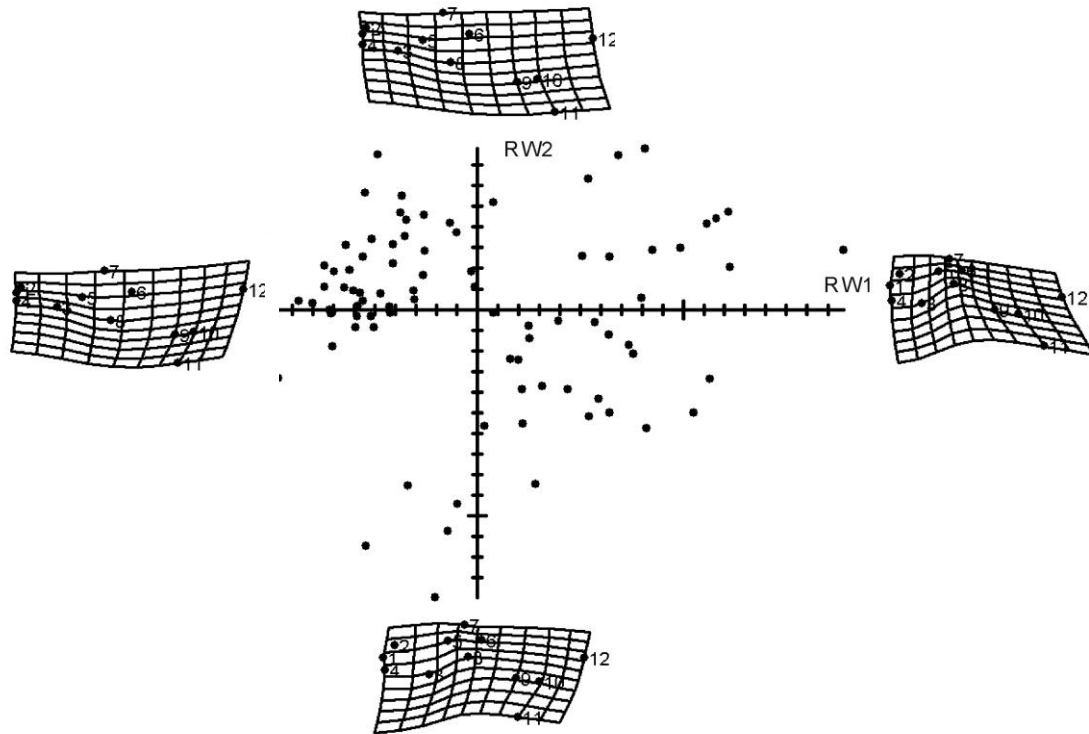


Figura 40: Grafico representativo de los dos primeros descriptivos de la forma (relative warps) para el análisis de los individuos adultos criados en Chascomús y los silvestres pertenecientes a la Laguna San Lorenzo, *O. bonariensis*. En los extremos de cada eje se muestra las respectivas grillas de deformación.

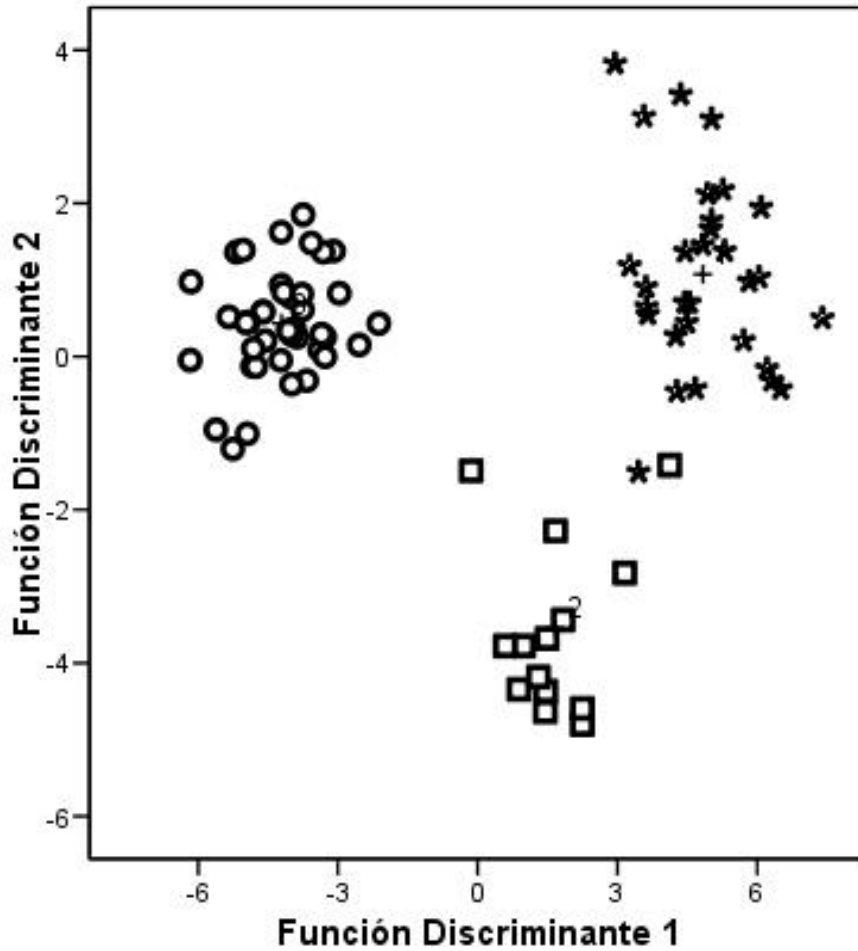
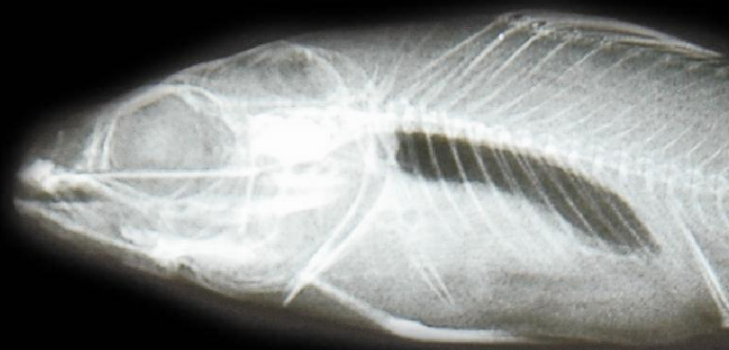


Figura 41: Primeras funciones discriminantes significativas en el análisis discriminante realizado en individuos de *O. bonariensis* silvestres capturados en el Lago San Lorenzo, individuos de dos años alimentados con balanceado y criados en circular e individuos de 6 años alimentados y criados en las mismas condiciones. Estrellas, cuadrados y círculos respectivamente.

CAPÍTULO 3

Embriones y Larvas de Percas



Capítulo 3: Embriones y Larvas de *Percichthys trucha*

Materiales y Métodos

Descripción del desarrollo embrionario y larval

Adultos de *P. trucha* fueron capturados en el lago Morenito en diciembre 2006 y 2007 (41°05'S, 71°30'O, 758m.s.n.m.) y en Laguna Blanca (39°02'S, 70°21'O, 1230m.s.n.m.) en noviembre de 2007, con redes de enmalle (3 paños de 15, 30, y 40mm entre nudos). En Morenito se capturaron 48 individuos adultos y en Laguna Blanca 400, en un programa de control de población mediante pesca artesanal. Las redes fueron colocadas paralelas a la costa en la zona litoral (Tabla 8). Todos los ejemplares reproductivos, coincidieron con el morfotipo *deep benthic* de Ruzzante *et al.* (1998) también llamado comúnmente como “perca de boca chica”, con una relación media entre la longitud del maxilar y el largo estándar de 0.073 (rango: 0,054 - 0,090). De estos individuos se obtuvieron ovocitos y esperma por trabajo manual y huevos por fecundación en seco (Barnabé 1990). Con agua del lago, se hidrataron los huevos y se eliminó el exceso de esperma. Los distintos períodos ontogenéticos: embrión, embrión libre, larva y juvenil, fueron definidos respectivamente, por la fecundación, eclosión, primera alimentación externa y metamorfosis de acuerdo a Balon (1990).

Todos los huevos fueron trasladados en conservadora al CENSALBA. Los huevos provenientes de Morenito 2006 se incubaron a dos temperaturas, 11°C y 18°C, $\pm 1^\circ\text{C}$. Éstas están dentro del rango de temperaturas para un desarrollo normal (8 a 20°C, Fuster de Plaza & Plaza 1955) y dentro del rango de temperaturas de preferencia encontradas para juveniles de *P. trucha* 12,9 a 21,2°C (Aigo 2010). Las temperaturas solo fueron controladas durante

el período de desarrollo embrionario (fecundación-eclosión), posterior a ello los individuos fueron mantenidos en acuarios a temperatura ambiente. Los huevos obtenidos de una misma pareja procedentes de Morenito 2007 fueron incubados una a 15 y 19°C en 4 acuarios de 200 l y otra a 19°C en un acuario de 200 l. Los huevos provenientes de Laguna Blanca 2007 fueron incubados a 10 y 19°C, separados en 6 acuarios (provenientes de una pareja). En el caso de Morenito 2007 y Laguna Blanca se mantuvieron las temperaturas de incubación durante todo el proceso de estudio.

Después de la fecundación, los huevos provenientes de Morenito 2006, fueron fotografiados (A, B y C, 11 y 18°C) bajo microscopio estereoscópico con una cámara acoplada (NIKON D70). Las fotografías fueron tomadas dos veces por día, durante los primeros 3 días y luego diariamente hasta eclosión.

La cronología del desarrollo embrionario fue considerada en términos de horas después de la activación (HDA) y en UTA (producto entre la temperatura media del agua y el tiempo en días). Esta nomenclatura equivale a embriones y larvas, definidos por la fecundación, eclosión y metamorfosis acorde a Yamagami (1988).

En los individuos provenientes de Morenito 2006, se observó y contó el número de individuos que se alimentaron por primera vez, dentro de los 4 DE. Cada 12 horas se extrajeron muestras de embriones libres y larvas durante los primeros 4 DE y luego cada 24 horas. Los individuos fueron anestesiados y sacrificados con exceso de benzocaína, fijados en alcohol 70% y posteriormente en formaldehído al 4%. Se extrajo los otolitos 'sagita' bajo lupa, con la ayuda de agujas de vidrio. Los otolitos fueron fijados en un portaobjetos con la cara cóncava hacia arriba y cubiertos con poliestireno (DPX). Los otolitos fueron observados y fotografiados con un microscopio de luz transmitida. Las medidas tomadas

fueron, perpendiculares a sus ejes mayores (largo y ancho) y se realizó conteo de los anillos de crecimiento desde el centro a la periferia con el programa *Image Pro Plus*.

Todos los embriones libres recién eclosionados y larvas, se observaron con microscopio estereoscópico y fueron anestesiados, fotografiados y medidos. Las medidas tomadas fueron: altura y longitud del saco vitelino (ASV, LV), diámetro antero-posterior del ojo (DO), longitud del dentario (LD), longitud del maxilar (LM), y longitud estándar (LE) (Fig. 42).

Por otra parte, se separaron embriones libres recién eclosionados (Morenito 2006, 11°C, N=100, Morenito 2007, 15 y 19°C y Laguna Blanca 2007, 10 y 19°C, N=30 en cada temperatura). Estos individuos fueron criados en acuarios de 100 l y alimentados *ad-libitum* con zooplancton, compuesto en su mayor parte por cladóceros y copépodos.

Plasticidad fenotípica en la ontogenia temprana

Las larvas de 15 y 30 días después de la eclosión (DE) (Morenito 2006, 11°C, Morenito 2007, 15 y 19°C, y Laguna Blanca 2007, 10 y 19°C) fueron anestesiadas con benzocaína (0,05 g.l⁻¹) y fotografiadas. La forma del cuerpo fue cuantificada a través de la digitalización de las coordenadas cartesianas de 15 puntos homólogos en el flanco izquierdo de cada individuo, en la región del tronco y cabeza, se usó análisis de morfometría geométrica (AMG) (Fig. 43, Tabla 9). Posteriormente, las larvas fueron reanimadas y devueltas a su acuario.

Las larvas de 30 DE provenientes de Morenito 2006 (11°C), fueron sacrificadas con exceso de benzocaína, fijadas en formaldehído 4%, fotografiadas y disecadas para extraer el primer arco branquial del lado izquierdo. Sobre el mismo se midió el largo de los 4

rastrillos branquiales más largos, localizados en el ángulo que se forma entre las dos ramas del arco. Las mediciones de los rastrillos branquiales y de los individuos se hicieron con la ayuda de microscopio, cámara de video y el programa *Image-Pro Plus*.

Con el objeto, de evaluar el diámetro del ojo a lo largo del desarrollo (1, 15 y 30 DE; Morenito 2006, 11 y 18°C; Morenito 2007, 15 y 19°C y Laguna Blanca 2007, 10 y 19°C), se relacionó el logaritmo decimal del diámetro del ojo con el logaritmo decimal de la longitud estándar (LE) y se puso a prueba la hipótesis de pendiente igual a 1.

Se realizaron análisis discriminantes (AD) para probar las diferencias entre parejas parentales y temperaturas de incubación, usando la matriz de forma proveniente del AMG. Posteriormente se obtuvieron los relative warps (RW) o descriptivos de la forma, de cada grupo por separado. Éstos fueron relacionados con los residuales obtenidos entre el logaritmo decimal de las medidas lineales: diámetro del ojo; longitud del dentario y longitud del maxilar (DO, LD y LM) y el logaritmo decimal de la longitud estándar (LE). Los análisis de regresión y correlación fueron realizados con los paquetes estadísticos SPSS® y SIGMAPLOT®.

Morfología experimental a partir de embriones libres recién eclosionados

Morfología a distintas temperaturas de incubación: Al momento de eclosión se anestesiaron con benzocaína (0,05 g.l⁻¹) y fotografiaron en su flanco izquierdo, 24 individuos incubados a 10°C y 30 individuos incubados a 19°C provenientes de Laguna Blanca y 23 individuos incubados a 15°C y 24 individuos incubados a 19°C provenientes del lago Morenito. Las imágenes fueron digitalizadas colocándose un total de 9 puntos homólogos en cabeza y tronco de cada individuo (Tabla 10, Fig. 44). Se cuantificó la variación de forma con AMG.

Morfología de larvas con distintos días de primera alimentación: al momento de eclosión se separaron 120 individuos de Laguna Blanca (19°C) y 80 individuos de Morenito (19°C), fueron colocados en un acuario de 200 l a temperatura ambiente, sin alimento disponible, el primer día se extrajeron 20 individuos, se los colocó en un acuario de 5 l con zooplancton *ad-libitum*. Este proceso se repitió por un total de 6 días en los individuos de Laguna Blanca y por 4 días en los individuos de Morenito, de tal manera de ofrecerles primera alimentación en distintos momentos. A los 15 DDE, para los individuos de Laguna Blanca, y a los 30 DDE, para los individuos de Morenito, los peces fueron anestesiados con benzocaína (0,05 g.l⁻¹) y fotografiados en su flanco izquierdo. Se colocaron 9 puntos homólogos (Tabla 10) los cuales fueron analizados con AMG.

Variación morfológica larval con distintas temperaturas de incubación: los embriones libres recién eclosionados, luego de ser fotografiados fueron reanimados y colocados por separado en acuarios de 2 l, debidamente identificados, alimentados a saciedad con zooplancton y mantenidos a la temperatura de incubación correspondiente. Se tomaron fotografías cada 15 días, obteniéndose 5 imágenes por cada individuo (60 días) en los ejemplares provenientes de Laguna Blanca y 4 imágenes por cada ejemplar (45 días) proveniente del lago Morenito. Las imágenes fueron digitalizadas colocándose un total de 9 puntos homólogos en cabeza y tronco de cada individuo (Tabla 10, Fig. 45). Se cuantificaron las variaciones de forma con AMG.

Variaciones morfológicas inducidas por el alimento, Copépodos vs. *Daphnia*: Sesenta embriones libres recién eclosionados provenientes de Laguna Blanca, incubados a 10°C, fueron separados en 4 lotes de 15 individuos cada uno y colocados en acuarios de 100 l. Dos lotes fueron alimentados *ad-libitum* con copépodos (*Calanoidea*) y los otros dos

con *Daphnia*. Los acuarios fueron mantenidos a temperatura ambiente (media 12,4°C, rango 10 a 15°C) durante todo el experimento. Al cabo de 23 días se anestesió con benzocaína (0,05 g.l⁻¹) y se fotografió bajo lupa cada individuo en su flanco izquierdo, las imágenes fueron examinadas con AMG. Se colocaron un total de 13 puntos homólogos en cabeza y tronco de cada individuo (Tabla 11 y Fig. 46).

Morfología de larvas de distintas parejas a 30 DDE: Al momento de eclosión se colectaron 60 embriones libres de dos parejas provenientes del lago Morenito y 30 embriones libres provenientes de Laguna Blanca, incubados a la misma temperatura (19°C). Los embriones de las tres parejas, fueron colocados en acuarios de 150 l a temperatura ambiente (media 12,4°C, rango 10 a 15°C). El alimento (zooplancton) estuvo todo el tiempo disponible. A los 30 DE, las larvas fueron anestesiadas con benzocaína (0,05 g.l⁻¹) y fotografiadas bajo lupa. Las imágenes fueron digitalizadas colocándose 9 puntos homólogos (Tabla 10) y analizadas con AMG.

Resultados

Descripción del desarrollo embrionario y larval

Los huevos de *P. trucha* (Morenito 2006, 11 y 18°C) son adherentes, amarillos y transparentes, con una gota oleosa anaranjada transparente. Luego las ovas se vuelven translúcidas. Las características generales del desarrollo no mostraron apreciables diferencias entre las temperaturas estudiadas (11 y 18°C). Sin embargo, se observó que el desarrollo a bajas temperaturas implica un tiempo ligeramente mayor que el esperado a partir de las UTA. Particularmente, esto se puede observar en los diferentes grados de desarrollo alcanzados a las distintas temperaturas de incubación, con igual cantidad de UTA (Tabla 12, Fig. 47).

Los embriones libres (5,4mm largo total (LT), 11 y 18°C) tienen un saco vitelino amarillo con una gota oleosa anaranjada. El pliegue impar se extiende desde el ano hasta la parte media del saco vitelino en la zona dorsal. Las aletas pectorales tienen de 3 a 4 actinotriquios. Los cromatóforos son negros y anaranjados y se encuentran distribuidos mayormente en el dorso de la cabeza y en la zona lateral y dorsal del tronco. Conforme pasa el tiempo se van distribuyendo por todo el cuerpo, predominando los cromatóforos en colores anaranjados y ocreos.

A 11°C y el 2^{do} DE se observa la vejiga gaseosa, dientes cónicos y 4 arcos branquiales. En el 4^{to} DE se observa el desarrollo de las lamelas branquiales. Luego de la eclosión, el diámetro del saco vitelino disminuye encontrándose el 4^{to} DE solo la gota oleosa. Esta se consume totalmente dos días después (6^{to} DE). Inmediatamente después de la eclosión, se ofreció alimento vivo a los embriones libres, mayormente copépodos de

227 μ m de ancho, observándose que la primera alimentación se verifica en el 30% de las larvas el segundo DE. El restante 70% comenzó a alimentarse el 3^{er} y 4^{to} DE. La actividad de alimentación fue claramente heterogénea y se observó gran voracidad al momento de la captura de presas. Es interesante notar que solo el 1% de los embriones libres presentaron morfologías anormales, la más común de éstas fue la desviación de la columna vertebral. Estos individuos murieron en el 10^{mo} DE.

Los otolitos sagita son largos y con forma discoidal y tienden a ser ovalados conforme avanza el desarrollo. No existen diferencias significativas entre el número de anillos de crecimiento diario de los otolitos sagita del lado derecho e izquierdo (*Paired t-test*, $t= 1,143$, $N= 20$, $P> 0,26$), por esto solo se utilizó los valores de los otolitos izquierdos. El número de anillos de crecimiento al momento de eclosión fue de 10 (en 7 de 20 otolitos) a 11 (en 13 de 20 otolitos). Por lo tanto, los embriones libres recién eclosionados tenían menos anillos (10 a 11) en sus otolitos que los días que habían pasado desde que se visualizó la formación de la capsula ótica (14 a 19) (Tabla 12).

El análisis de los depósitos diarios de incrementos en los anillos en embriones libres y larvas, mostró una relación significativa entre el número de anillos y la edad (Regresión, $F= 456$, $N= 20$, $P< 0,001$; intervalo de confianza del 95% para pendiente de 0,98 a 1,19) que no rechaza la hipótesis del depósito de un anillo por día.

Plasticidad fenotípica en la ontogenia temprana

En embriones libres de 1 DE (Morenito 2006, 11°C, Morenito 2007 15 y 19°C y Laguna blanca 10 y 19°C), longitud del saco vitelino (LV) mostró un 89,2% de variación ($100 \cdot \text{rango} \cdot \text{media}^{-1}$). Para cada combinación de pareja y temperatura los porcentajes de variación oscilaron desde 19,0 a 44,3%. El DO de los embriones libres y el logaritmo

decimal del LV muestran una significativa covariación ($F=12,703$; $N=116$, $P<0,001$; Fig. 48) con un efecto significativo de las parejas ($F=25,876$; $N=116$, $P<0,001$) y las temperaturas de incubación ($F=26,249$; $N=116$, $P<0,001$).

El AMG en larvas de 15 DE (de todas las parejas y temperaturas), explicó un 54% de la variación en los tres primeros RWs. El AD por parejas (misma hembra) mostró dos FDs significativas (FD1, Wilks' $\lambda=0,030$; $N=71$, $P<0,001$ y FD2, Wilks' $\lambda=0,313$; $N=71$, $P<0,001$) con un 100% de casos correctamente clasificados que explican el 100% de la variación. El AD entre temperaturas de incubación mostró 3 FDs significativas con el 100% de los casos correctamente clasificados que explican el 100% de la variación (FD1, Wilks' $\lambda=0,040$; $N=71$, $P<0,001$; FD2, Wilks' $\lambda=0,272$; $N=71$, $P<0,001$ y FD3, Wilks' $\lambda=0,636$; $N=71$, $P<0,001$, Fig. 49). Existe dependencia de la forma (RWs obtenidos para cada pareja y temperatura de incubación) con el LE. Además, se encontraron cambios de los RWs y las medidas lineales entre parejas y temperaturas de incubación (Tabla 13).

En larvas de 30 DE, las diferencias entre parejas y entre temperaturas de incubación (MANOVA) fueron significativas para el residual del logaritmo decimal del DO (Pareja, $F=8,447$; $N=47$, $P<0,006$; Temperatura, $F=19,570$; $N=47$, $P<0,001$) y para el residual del logaritmo decimal del LD (Pareja, $F=6,557$; $N=47$, $P<0,014$; Temperatura, $F=15,885$; $N=47$, $P<0,001$). Además, se observó relación significativa entre el residual del logaritmo decimal del DO y los residuales de los logaritmos decimales de las longitudes de dentario y maxilar (Fig. 50, Tabla 13).

La relación entre el logaritmo decimal del DO y el LE fue estudiada a lo largo del desarrollo (1, 15 y 30 DE), en todas las parejas y temperaturas de incubación, mostrando

una pendiente leve pero significativamente menor a 1 en todos los casos, excepto en Laguna blanca incubado 10°C, el cual fue isométrico. El porcentaje de variación del LM mostró altos valores para cada pareja y temperatura de incubación en individuos de 15 y 30 DE (Tabla 13). Al considerar todos los datos reunidos se encontró valores aún más altos, en larvas de 15 DE un 78% y en larvas de 30 DE un 85%.

Morfología experimental a partir de embriones libres recién eclosionados.

Morfología a distintas temperaturas de incubación: en los individuos provenientes de Laguna Blanca, los dos primeros RWs explicaron el 68,58% de la variación de la forma (N=54; RW1=43,19% y RW2=25,38%; Fig. 51). Al observar las grillas de deformación sobre el RW1 se sitúan individuos curvados sobre el saco vitelino, con ojo elevado y adelantado y cuerpo corto. En el extremo contrario se sitúan los individuos no curvados sobre el saco vitelino. Sobre el RW2 se observan individuos con ano adelantado y el punto de inserción de la aleta dorsal atrasado. En el otro extremo se encuentran los individuos con ano atrasado.

El AD según temperaturas de incubación, produjo una función discriminante significativa (FD1, Wilks' lambda= 0,195; N=54, $P < 0,001$). Esta función clasificó correctamente el 98,1% de los casos, explicando el 100% de la variación. Al graficar la FD1 con la talla se observa que la función discriminante separa los embriones hermanos incubados a distinta temperatura. No se observa diferencia entre los rangos de talla de las parejas (Fig. 52).

En los individuos provenientes del lago Morenito, los primeros RWs explicaron el 57,47% de la variación de la forma (N=47; RW1= 39,30% y RW2= 18,17%; Fig. 53). Al observar las grillas de deformación, se ve individuos con ojo elevado y levemente

adelantado, ano adelantado y punto anterior de inserción de la aleta dorsal atrasado, en el otro extremo se sitúan individuos con ojo bajo, ano atrasado y punto anterior de inserción de la aleta dorsal adelantado. En el RW2 se sitúan individuos curvados sobre el saco vitelino y en el extremo contrario los individuos no curvados. El AD según temperaturas de incubación produjo una función discriminante significativa (FD1, Wilks' lambda= 0,256; N=47, $P < 0,001$). Esta función clasificó correctamente el 95,7% de los casos, explicando el 100% de la variación. Al graficar la FD1 con la talla de los individuos se ve que separa individuos incubados a 15°C de individuos incubados a 19°C y rangos de tallas similares (Fig. 54).

Trayectoria de las variaciones morfológicas tempranas (embriones libres y larvas) para distintas temperaturas de incubación: Los individuos de Laguna Blanca mostraron dos primeros RWs que explican el 68,14% de la variación de forma (N=143; RW1=46,19% y RW2=21,95%; Fig. 55). Al observar las grillas de deformación, en el RW1 se sitúan los individuos con dentario corto, cabeza corta y cuerpo angosto. En el otro extremo se encuentran individuos con dentario largo y cabeza larga. Sobre el RW2 se sitúan individuos con ojo bajo y cuerpo corto, en el otro extremo se encuentran individuos con ojo elevado y cuerpo largo.

El AD según temperaturas de incubación (2) produjo una función discriminante significativa (FD1, Wilks' lambda= 0,404, N=143, $P < 0,001$). Esta función clasificó correctamente el 87,4% de los casos, explicando el 100% de la variación (Fig. 56). El cambio embrión libre a larva implica necesariamente un cambio de forma asociado a talla. En efecto, los individuos incubados a 10°C, mostraron diferencias significativas entre los DE para la varianza (Levene = 7,498, $P < 0,001$), con una progresiva reducción de la misma

(Fig. 57). Lo mismo pudo ser observado en el caso de los individuos incubados a 19°C (Fig. 58) pero no pudo probarse dado el bajo número de individuos (N=3).

En el caso de los individuos provenientes de Morenito, los dos primeros RWs explicaron el 71,19% de la variación de forma (N=82; RW1=57,66% y RW2=13,53%; Fig. 59). Las grillas de deformación del RW1 se encuentran individuos con dentario largo, ojo bajo, cabeza larga y cuerpo alto. En el extremo positivo encontramos individuos con dentario corto, cabeza corta y cuerpo angosto. Sobre el RW2 se sitúan individuos con dentario corto, ojo elevado, cuerpo largo y levemente alto. En el otro extremo del eje se sitúan individuos con dentario largo y cuerpo corto. El AD según la temperatura de incubación y desarrollo mostró una función discriminante significativa (FD1, Wilks' lambda= 0,609; N=82, $P < 0,001$). Esta función clasificó correctamente el 75,6% de los casos, explicando el 100% de la variación. Al graficar esta función versus la longitud estándar se observa que las nubes de puntos solapan (Fig. 60).

Si bien en este caso no se observaron diferencias para la varianza entre DE, sí se observa en cambio, una clara trayectoria de la forma. Para ambas temperaturas se observa un levantamiento de la cabeza, un aumento del alto corporal y aumento del largo de la porción cefálica anterior (Fig. 61 a y b).

Distintos días de primera alimentación: en los ejemplares provenientes de Laguna Blanca, los primeros dos RWs explicaron el 61,43% de la variación de forma (N=39; RW1=42,2% y RW2= 19,23%; Fig. 62). Al observar las grillas de deformación, sobre el RW1 se sitúan individuos con ojo elevado y el punto anterior de inserción de la aleta dorsal adelantado. En el otro extremo los individuos con el punto anterior de la aleta dorsal atrasado. Sobre el RW2 se encuentran individuos con ojo en posición dorsal, cabeza corta y

dentario corto. En el extremo contrario observamos individuos con ojo en posición ventral, cabeza larga y dentario largo. El AD entre días de primera alimentación no produjo funciones discriminantes significativas.

En los ejemplares provenientes del lago Morenito, los primeros RWs explicaron el 76,85% de la variación morfológica (N=21; RW1=58,61% y RW2=18,24%; Fig. 63). Las grillas de deformación, muestran individuos con cabeza y cuerpo cortos y la inserción de la aleta dorsal levemente atrasada. En el otro extremo vemos individuos con cabeza y cuerpo largos y la inserción de la aleta dorsal levemente adelantada. En el RW2 se sitúan individuos con el ojo atrasado y en el extremo positivo individuos con el ojo adelantado. El AD según días de primera alimentación produjo una función discriminante significativa (FD1, Wilks' lambda= 0,0004; $P < 0,001$) que clasificó correctamente el 75,5% de los casos y explicó el 100% de la variación. Al graficar la FD1 versus la talla se visualiza que esta función separa los individuos que recibieron primera alimentación 1^{er} y 2^{do} DE de los que recibieron primera alimentación 3^{er} y 4^{to} DE (Fig. 64). Los rangos de tallas están parcialmente solapados.

Variaciones morfológicas inducidas por el alimento, copépodos vs. *Daphnia*: Los dos primeros RWs explicaron el 45,43% de la variación morfológica encontrada (N= 29; RW1= 25,34% y RW2= 20,08%; Fig. 65). Al observar las grillas de deformación se sitúan en el RW1 individuos con dentario largo y ojo elevado en el extremo negativo e individuos con dentario corto y ojo en posición ventral en el otro extremo. Sobre el RW2 se observa individuos con cuerpo corto y ojo retrasado y bajo en el extremo negativo y en el extremo positivo individuos con cuerpo largo y ojo adelantado. No existe relación significativa entre

los RW y la talla. El AD según el tipo de alimento consumido, no produjo funciones discriminantes significativas.

Morfología de larvas de distintas parejas a 30 DE: los dos primeros RWs explicaron el 62,77% de la variación de forma (N=40; RW1=48,8% y RW2=13,97%; Fig. 66). En las grillas de deformación para el RW1 se sitúan individuos con el ojo bajo y atrasado, punto anterior de inserción de la aleta dorsal atrasado y cuerpo corto. En el extremo contrario los individuos con ojo adelantado y cuerpo largo. Sobre el RW2 se encuentran individuos con dentario largo y cuerpo corto. En el otro extremo se sitúan individuos con dentario largo y cuerpo largo. El AD produjo dos funciones discriminantes significativas (FD1, Wilks' lambda= 0,042; N=40, $P < 0,001$ y FD2, Wilks' lambda= 0,434; N=40, $P < 0,05$). Estas funciones clasificaron correctamente el 97,5% de los casos, explicando el 100% de la variación, separando claramente las tres parejas (Fig. 67).

Tabla 8: Detalle de los individuos capturados en los distintos muestreos realizados para buscar ejemplares adultos maduros de *Perchthys trucha*. Se muestran los distintos sitios de captura el número total de adultos capturados, los adultos utilizados para la fecundación y los lotes de incubación estudiados.

Lugar y fecha	Morenito 2006	Morenito 2007	Laguna Blanca
Total de adultos capturados	80	48	400
Adultos maduros	2 machos y 1 hembra	1 macho y 1 hembra	1 macho y 1 hembra
Lotes de incubación	A 11°C	15°C	10°C
	A 18°C		
	B 11°C	19°C	19°C
	B 18°C		

Tabla 9: Número y definición de cada punto homólogo digitalizado en larvas de 15 y 30 días después de la eclosión estudiando la plasticidad fenotípica temprana, Figura 43.

Número	Definición
1	Punto anterior del dentario
2	Punto inferior del maxilar
3	Punto infero-posterior del hueso dentario
4	Punto inferior del hueso retroarticular
5	Ángulo interior del primer arco branquial (entre epirranquial y ceratobranquial)
6	Ano
7	Extremo posterior de la base de la aleta pectoral
8	Punto vertical al punto 7 en línea dorsal
9	Punto anterior de la médula
10	Punto anterior del hueso supraoccipital
11	Centro de la placa olfatoria
12	Punto anterior del hueso premaxilar
13	Borde anterior del ojo
14	Borde posterior del ojo
15	Punto anterior del epibranchial 1

Tabla 10: Definición de puntos homólogos digitalizados en imágenes de embriones libres y el número correspondiente a cada punto homólogo utilizado, Figura 44.

Nº punto	Definición
1	Punto anterior del dentario
2	Punto inferior del interopércular
3	Ano
4	Punto posterior del supraoccipital
5, 6, 7 y 8	Bordes del ojo (dorso-ventral y antero-posterior)
9	Punto anterior de inserción de la aleta dorsal

Tabla 11: Definición de puntos homólogos digitalizados, individuos de 23 días después de la eclosión, mantenidos a temperatura ambiente alimentados con distintos alimentos (copépodos vs. *Daphnias*), número de cada punto utilizado en el análisis, Figura 46.

Nº punto	Definición
1	Punto anterior del premaxilar
2	Punto anterior del dentario
3	Punto posterior del dentario
4	Punto antero-ventral del preopercular
5	Punto inferior del hueso interopercular
6	Ano
7	Borde posterior del pliegue inferior que sale del ano
8	Punto anterior de inserción de la aleta dorsal
9	Punto posterior del hueso supraoccipital
10, 11, 12 y 13	Bordes del ojo (dorso-ventral y antero-posterior)

Tabla 12: Formación de estructuras durante el desarrollo embrionario, en embriones hermanos incubados a distintas temperaturas. HDF, horas después de la fecundación y UTA unidades térmicas acumuladas.

Estructura (a 11°C)	HDF	UTA	Estructura (a 18°C)	HDF	UTA
Blástula a Gástrula	28	13	Blástula	4	3
			Comienzo de la organización axial	28	21
Notocorda, vesículas ópticas, mesodermo paraxial, cristalino, cromatóforos dorsales	148	68	Vesículas ópticas y óticas	52	39
Vesículas óticas	172	79	Otolitos, cromatóforos, Ojos pigmentados. El embrión se encuentra curvado y con movimientos. Movimientos mandibulares	148	111
Embrión curvado. Cromatóforos dorsales	220	101			
Ojo pigmentado. Circulación vitelina	248	114	Circulación vitelina	172	129
			Latidos cardíacos	220	165
Cromatóforos dorsales estrellados	320	147	Cromatóforos dorsales estrellados	248	186
Curvatura del embrión completa, muchos movimientos	368	168	Curvatura del embrión completa, muchos movimientos	268	201
Eclosión	504 a 628	231 a 288	Eclosión	271 a 369	203 a 277

Tabla 13: Relación entre el análisis de morfometría geométrica y las medidas morfológicas en larvas *P. trucha*. Se han indicado solo las correlaciones significativas. DE, días desde la eclosión. N= número de individuos utilizados en cada análisis. RW relative warps extraídos del análisis de morfometría geométrica. LE longitud estándar, LMS longitud de la mandíbula superior, LMI longitud de la mandíbula inferior, DO diámetro del ojo. Los espacios en blanco corresponden a correlaciones sin significancia.

DE	Parejas progenitoras	Morenito 2006	Morenito 2007		Laguna Blanca	
	Temperaturas de Incubación (°C)	11	15	19	10	19
15	n=	24	7	6	18	16
	Variación explicada por los primeros 3 RWs (%)	66	78	83	57	62
	RW1 vs LE Corr. Pearson / P<	0.455 / 0.025		-0.857 / 0.029	-0.515 / 0.029	
	RW2 vs res log ₁₀ LMS Corr. Pearson / P<	-0.423 / 0.039			0.497 / 0.036	
	RW3 vs LE Corr. Pearson / P<					-0.508 / 0.045
	RW3 vs res log ₁₀ LMS Corr. Pearson / P<				-0.540 / 0.021	
	RW3 vs res log ₁₀ LMI Corr. Pearson / P<				-0.625 / 0.006	
	RW3 vs res log ₁₀ DO Corr. Pearson / P<	0.453 / 0.026			-0.491 / 0.038	-0.537 / 0.032
	100. LMS rango. LMS media ⁻¹	47	49	15	32	49
30	n=	12	7	6	14	8
	res log ₁₀ LMS vs res log ₁₀ DO Corr. Pearson / P<	0.761 / 0.004	0.934 / 0.002			0.887 / 0.003
	res log ₁₀ LMI vs res log ₁₀ DO Corr. Pearson / P<	0.650 / 0.023	0.980 / 0.001		0.784 / 0.001	0.840 / 0.009
	100. LMS rango. LMI media ⁻¹	43	57	38	34	21

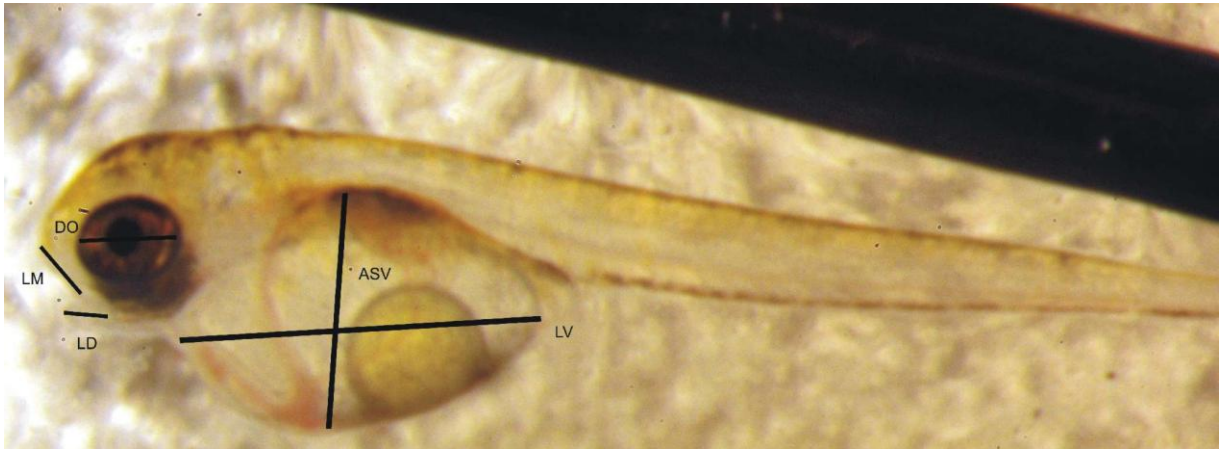


Figura 42: Imagen de un embrión libre recién eclosionado de *P. trucha*, proveniente del Lago Morenito, incubado a 15°C, en líneas negras están marcadas las medidas lineales tomadas en cada embrión, LM longitud del maxilar, LD longitud del dentario, DO diámetro antero-posterior del ojo, ASV alto del saco vitelino, LV largo del saco vitelino. La barra negra superior indica verticalmente 1mm.

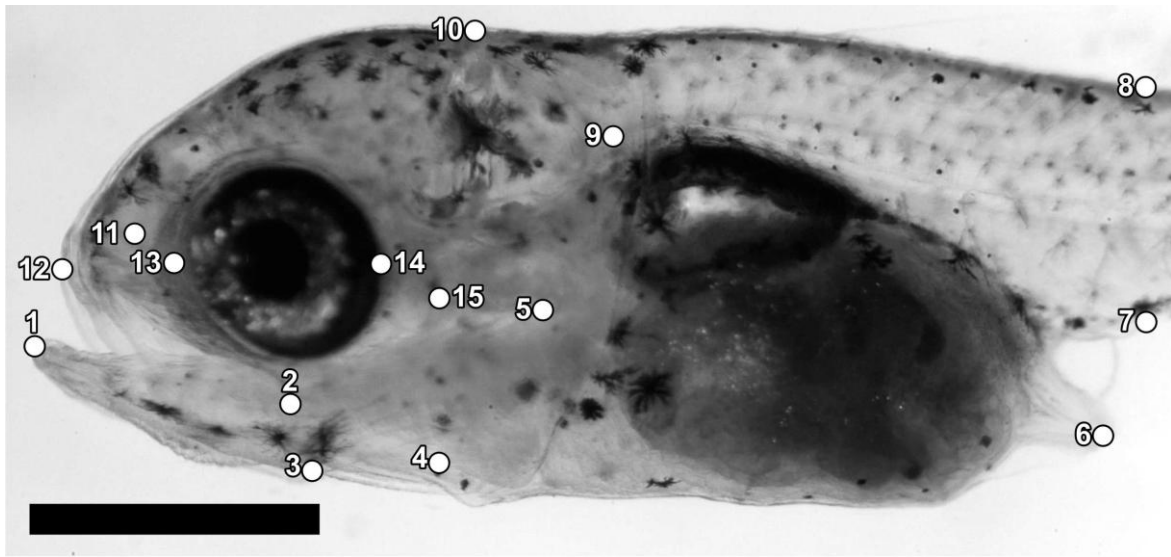


Figura 43: Foto de un individuo de *P. trucha* de 15 días después de la eclosión, DE. Círculos blancos, puntos homólogos utilizados para analizar la forma con morfometría geométrica, AMG, la barra entera corresponde a 1mm.

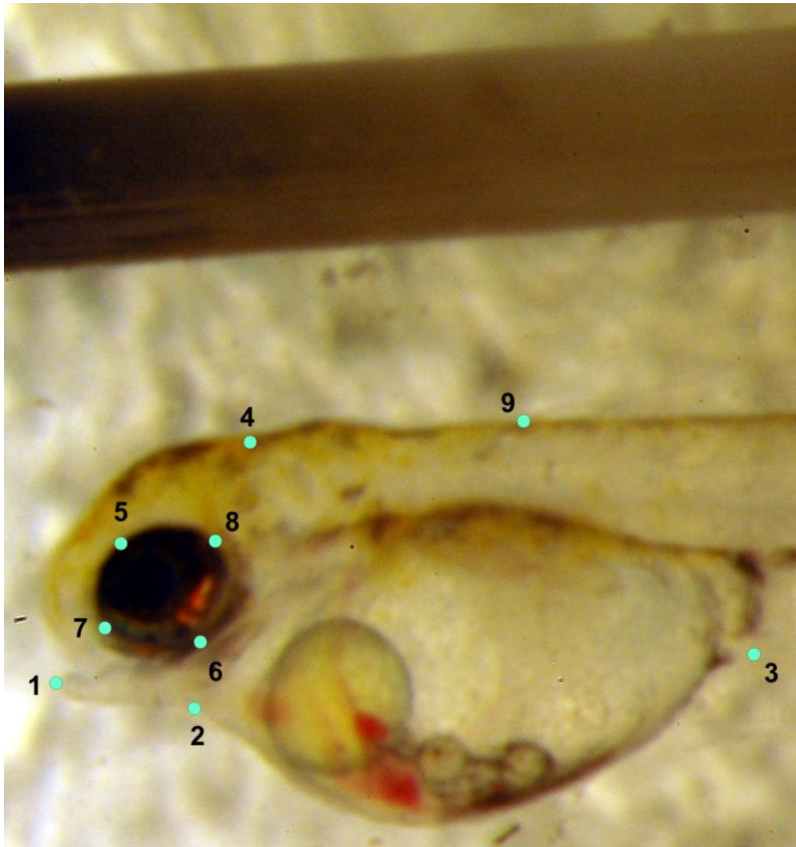


Figura 44: Embrión libre de *P. trucha*. Se muestra en círculos verdes los puntos homólogos digitalizados, la barra negra superior indica verticalmente 1mm. Ver tabla 10.

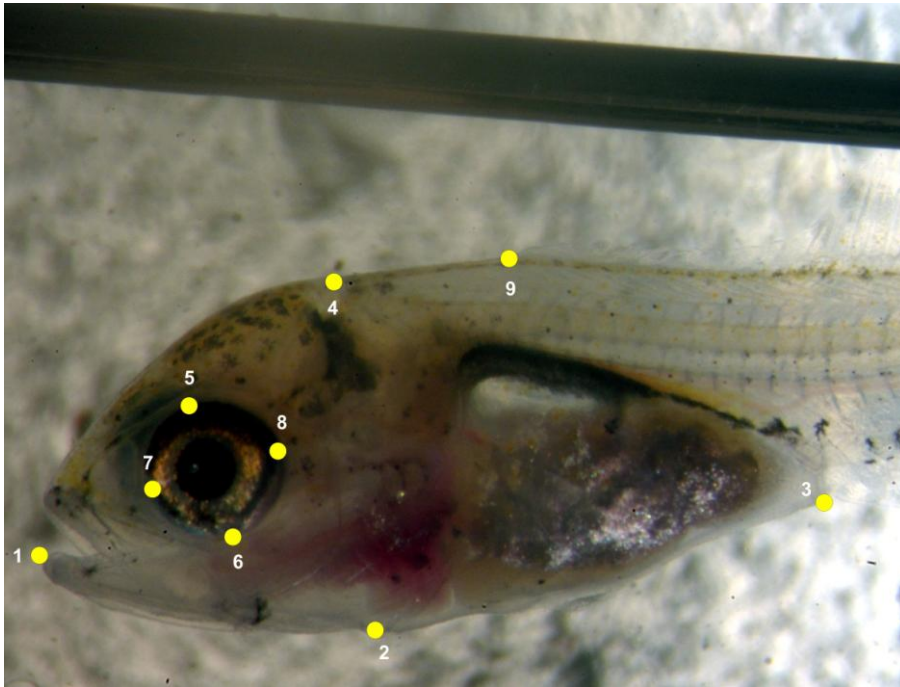


Figura 45: Imagen de una larva de *P. trucha* con 30 días después de la eclosión, DE. Círculos amarillo, puntos homólogos digitalizados, la barra negra superior indica verticalmente 1mm. Ver tabla 10.

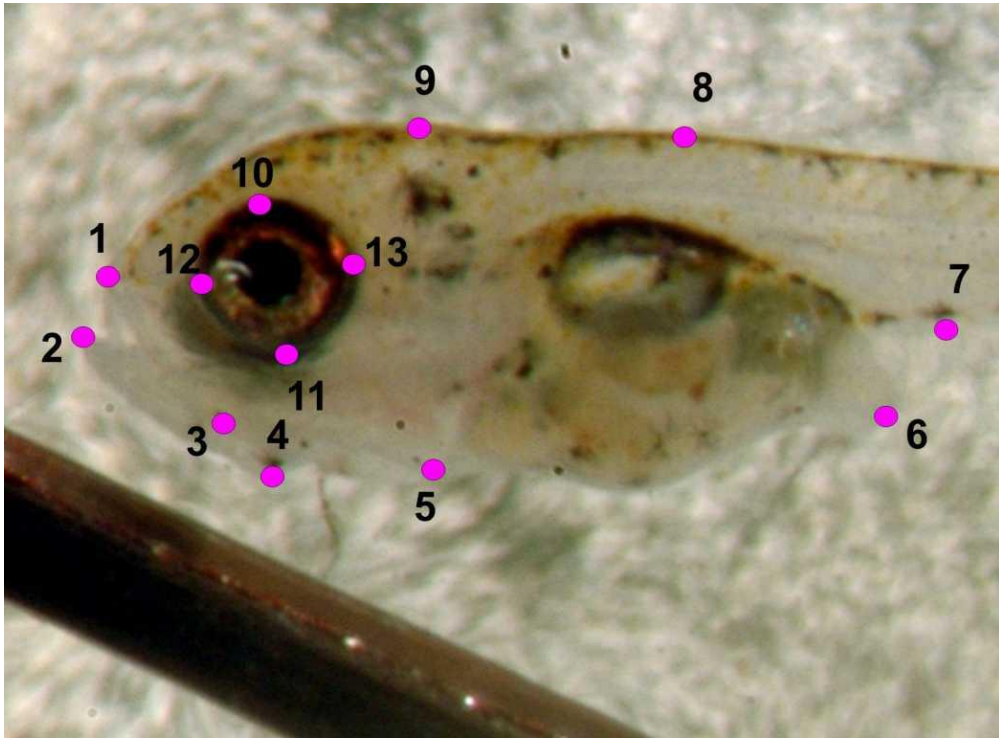


Figura 46: Imagen de larva de 23 días después de la eclosión, DE. Círculos rosas, puntos homólogos, utilizados en la comparación y análisis morfométrico entre alimentados con copéodos y *Daphnias*. La barra negra inferior indica verticalmente 1mm. Ver tabla 11, para la definición de los puntos homólogos.

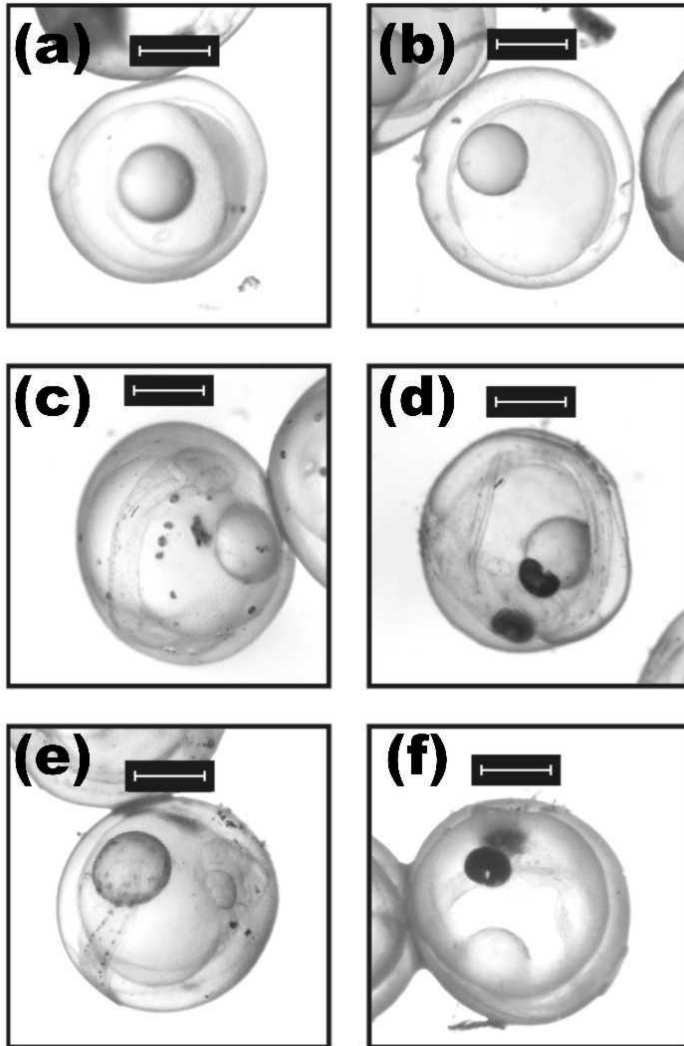


Figura 47: Desarrollo embrionario en *P. trucha* en a), c) y e) embriones incubados a 11°C con igual unidades térmicas acumuladas, UTA que en b), d) y f) incubados a 18°C. Las barras representan 1mm.

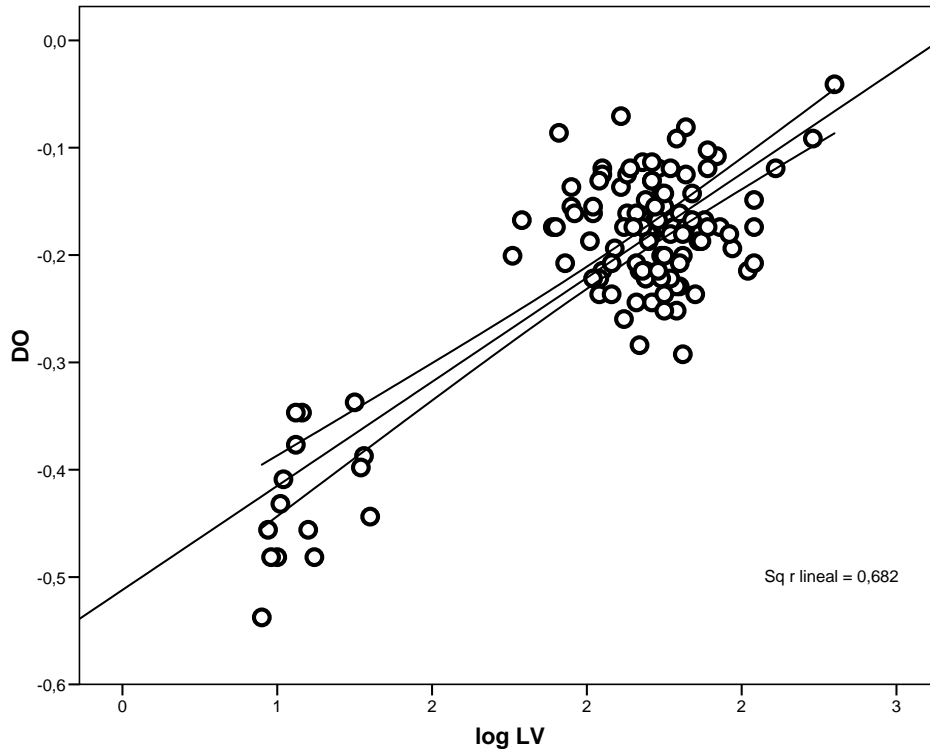


Figura 48: Co-variación del diámetro del ojo con el logaritmo decimal de la longitud del saco vitelino, en embriones libres al momento de eclosión de *P. trucha*, todas las comparaciones.

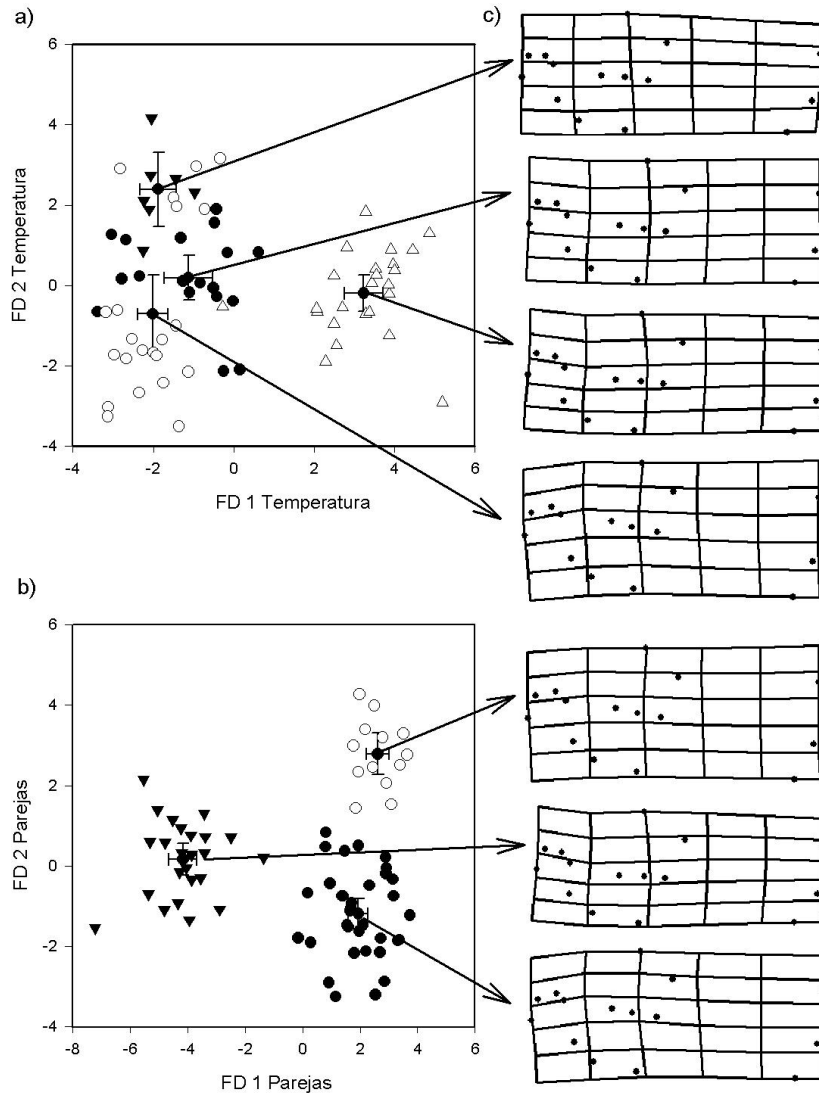


Figura 49: Se muestra los resultados de los análisis discriminantes realizados en embriones libres recién eclosionados: a) primera y segunda función discriminante por temperatura de incubación, b) primera y segunda función discriminante por parejas. Incubados a 15, 10, 11 y 19°C en triángulos negros, círculos negros, triángulos blancos y círculos blancos. c) Grillas de deformación para cada media de las funciones discriminantes.

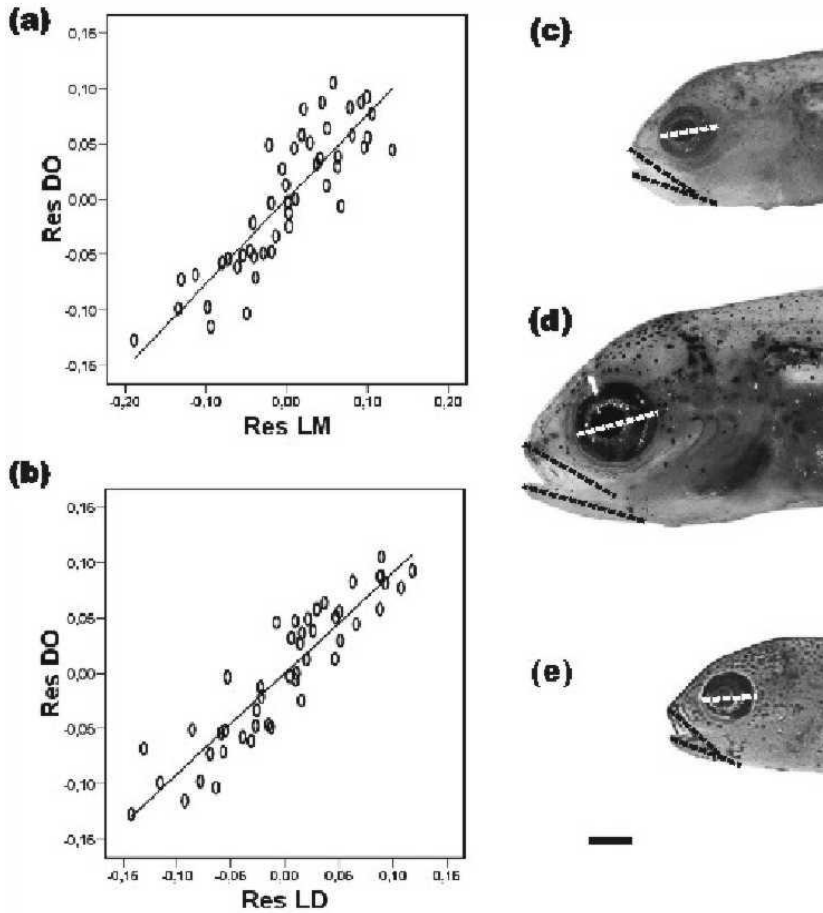


Figura 50: Individuos de *P. trutta* con 30 días después de la eclosión a) y b) Residuales doble logarítmicos, a) Diámetro antero-posterior del ojo vs. longitud del maxilar, b) Diámetro antero-posterior del ojo vs. longitud del dentario, c), d) y e) Imágenes en líneas cortadas negras se muestran las longitudes del maxilar y dentario y en líneas cortadas blancas se muestra el diámetro antero-posterior del ojo. c) Individuo sobre la línea media que se encuentra en el extremo superior, d) Individuos en la parte media de la línea media y e) Individuo sobre la línea en el extremo inferior.

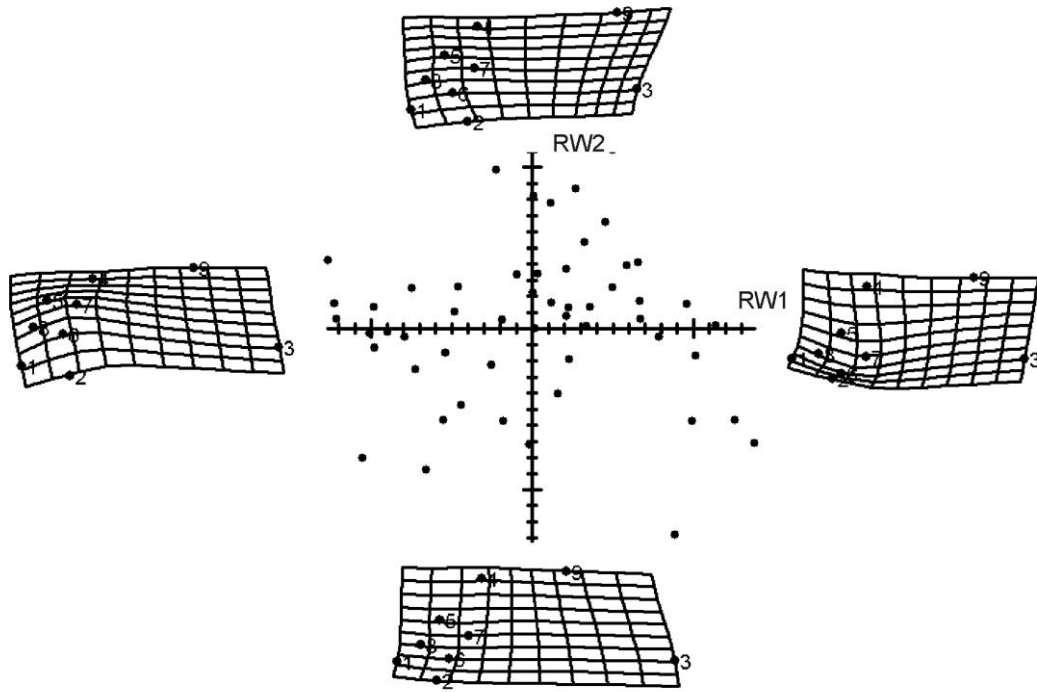


Figura 51: Variación de la forma en los primeros dos descriptores, en individuos provenientes de Laguna blanca, incubados a distintas temperaturas. En los extremos de los ejes se encuentran las grillas de deformación correspondientes.

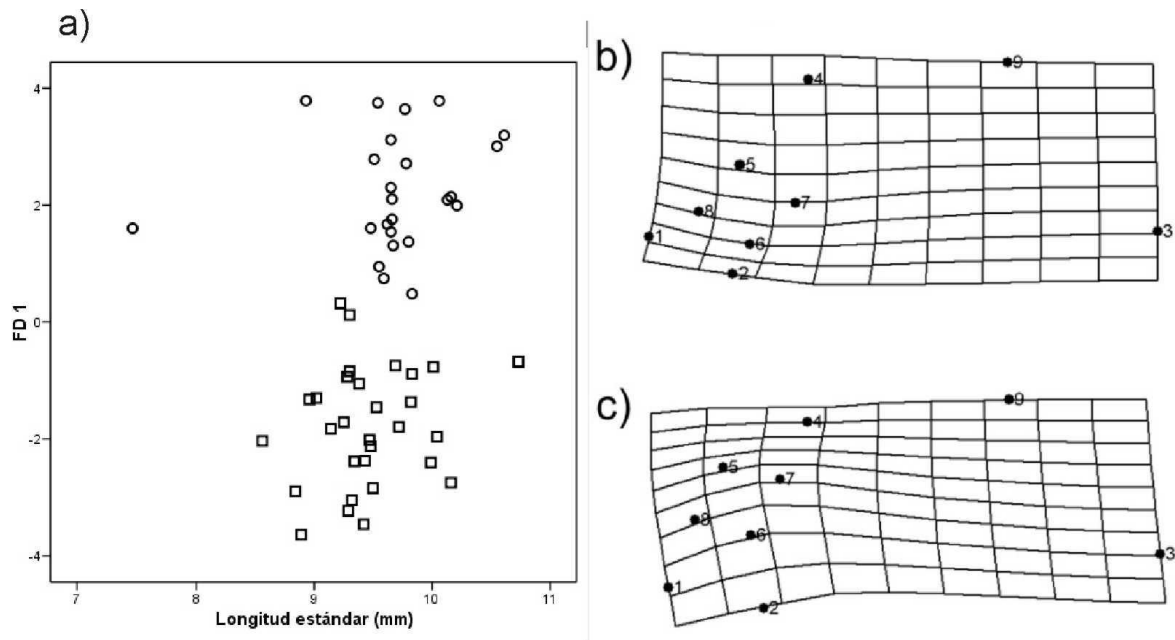


Figura 52: Primera función discriminante versus la longitud estándar. Comparación entre embriones libres recién eclosionados, hermanos, incubados a distintas temperaturas 10 y 19°C (círculos y cuadrados) respectivamente, b) y c) grilla de deformación.

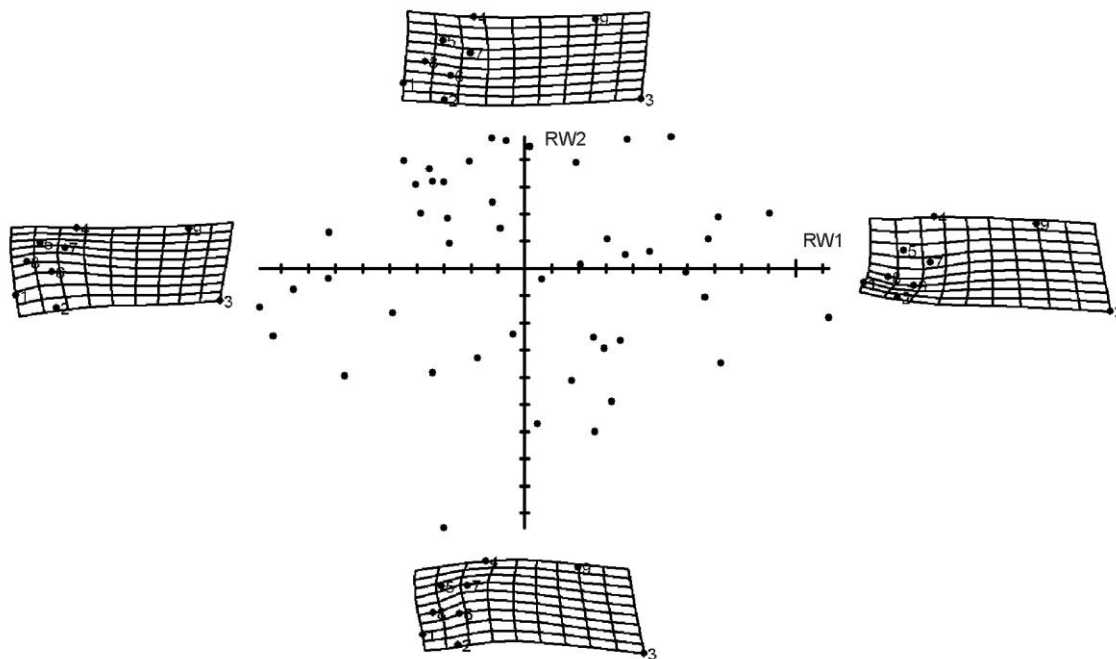


Figura 53: Descriptivos de la forma para embriones libres recién eclosionados (Lago Morenito) incubados a distintas temperaturas de *P. trucha*. En los extremos de los ejes se muestran las grillas de deformación.

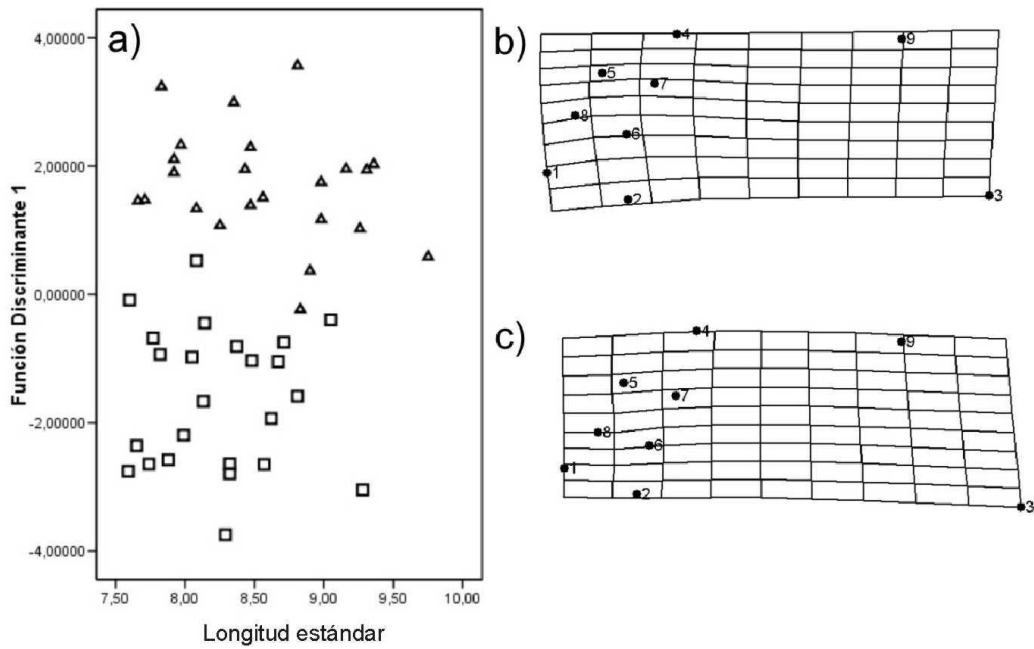


Figura 54: primera función discriminante versus la longitud estándar, en embriones libres recién eclosionados provenientes del Lago Morenito. Individuos incubados a 15 y 19°C, triángulos y cuadrados respectivamente (a). Grilla de deformación extraídas del análisis de morfometría geométrica.

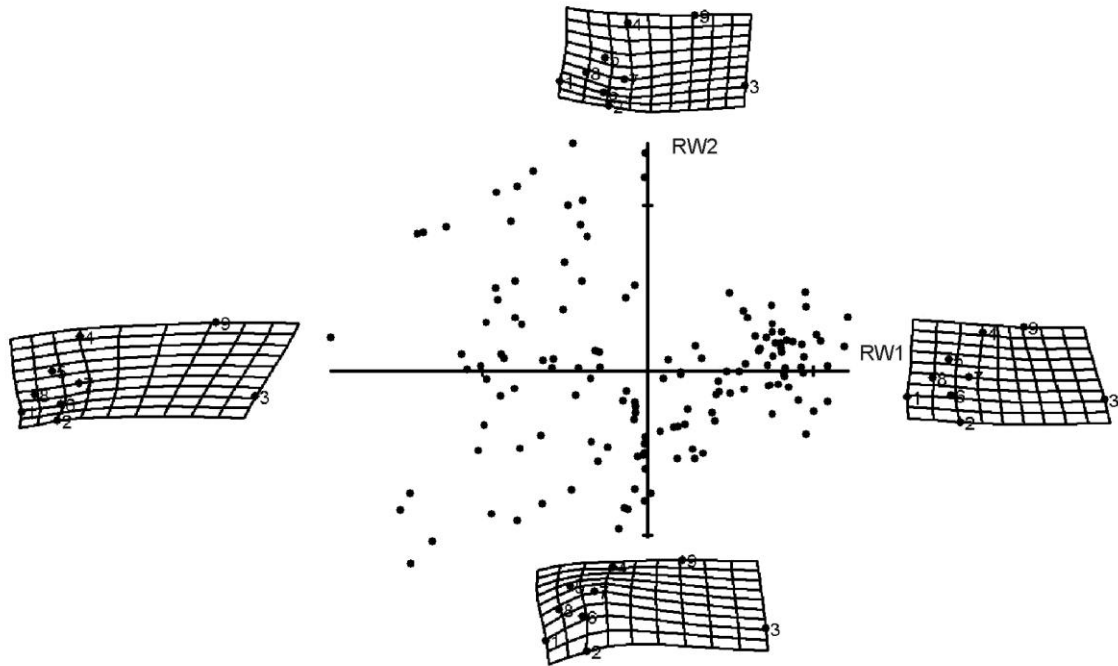


Figura 55: descriptivos de forma para el estudio de la variación morfológica a lo largo de la ontogenia temprana en embriones libres y larvas de *P. trucha* en individuos provenientes de Laguna Blanca, en los extremos de la distribución se muestran las grillas de deformación.

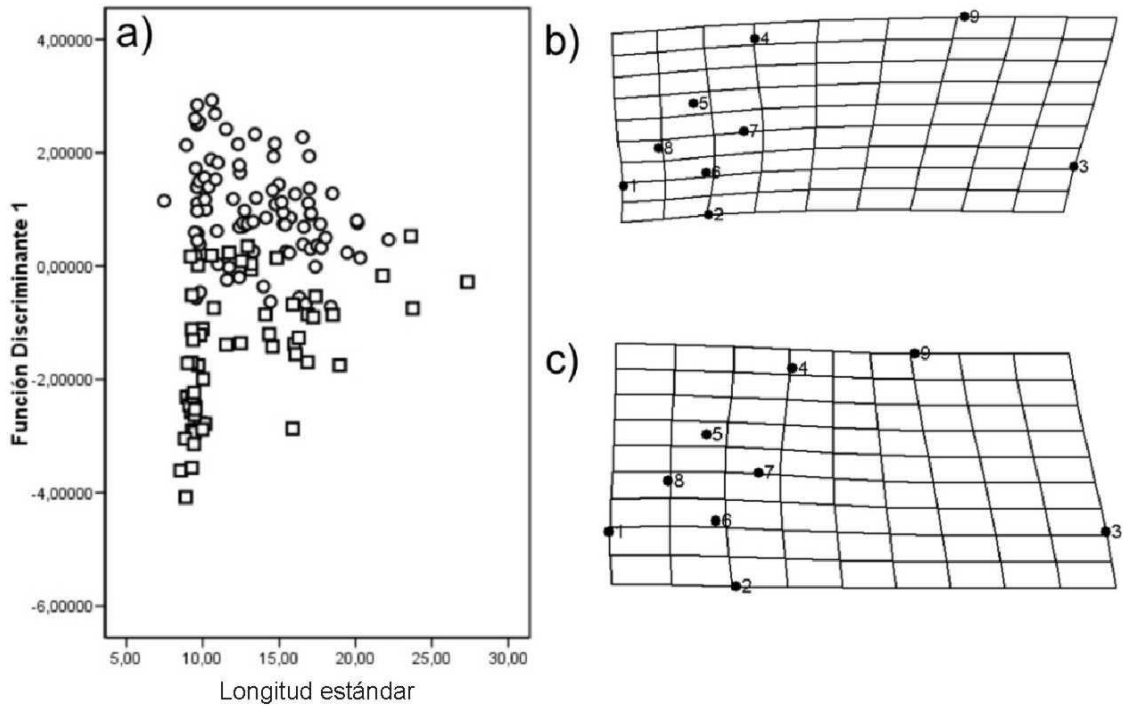


Figura 56: Trayectoria de las variaciones morfológicas tempranas (embriones libres y larvas) para distintas temperaturas de incubación se muestra la función discriminante versus la longitud estándar. Individuos incubados a 10 y 19°C. (círculos y cuadrados) b) y c) grilla de deformación extraídas del análisis de morfometría geométrica.

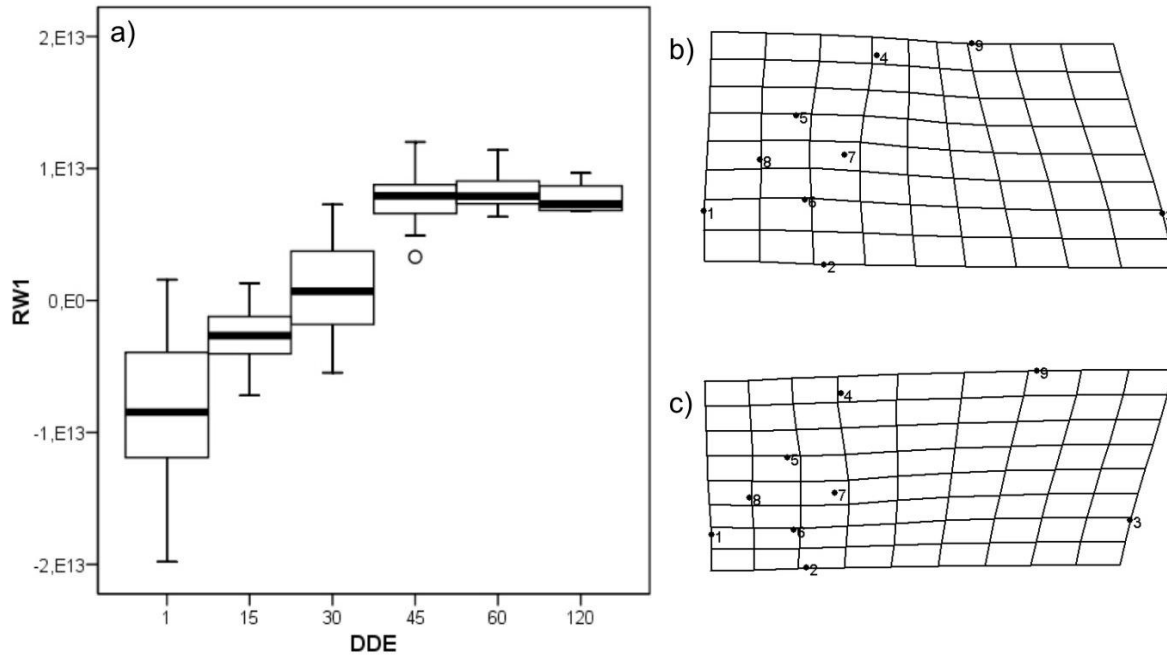


Figura 57: Individuos provenientes de Laguna Blanca incubados a 10°C se muestra la trayectoria ontogenética, desde 1 a 120 días después de la eclosión, relative warprs y grillas de deformación del RW1 en el extremo positivo y negativo.

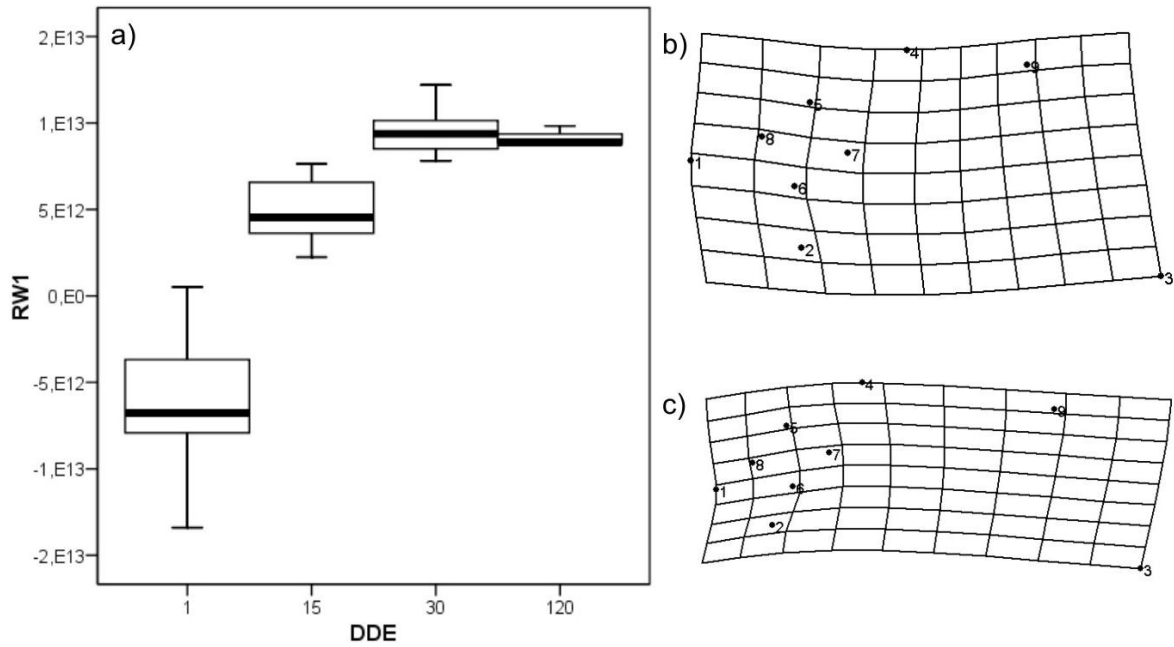


Figura 58: Individuos provenientes de Laguna Blanca incubados a 19°C gráfico de cajas con intervalos del 95%, correspondiente a los distintos días de eclosión. Grillas de deformación del primer descriptivo de forma en el extremo positivo y negativo del eje.

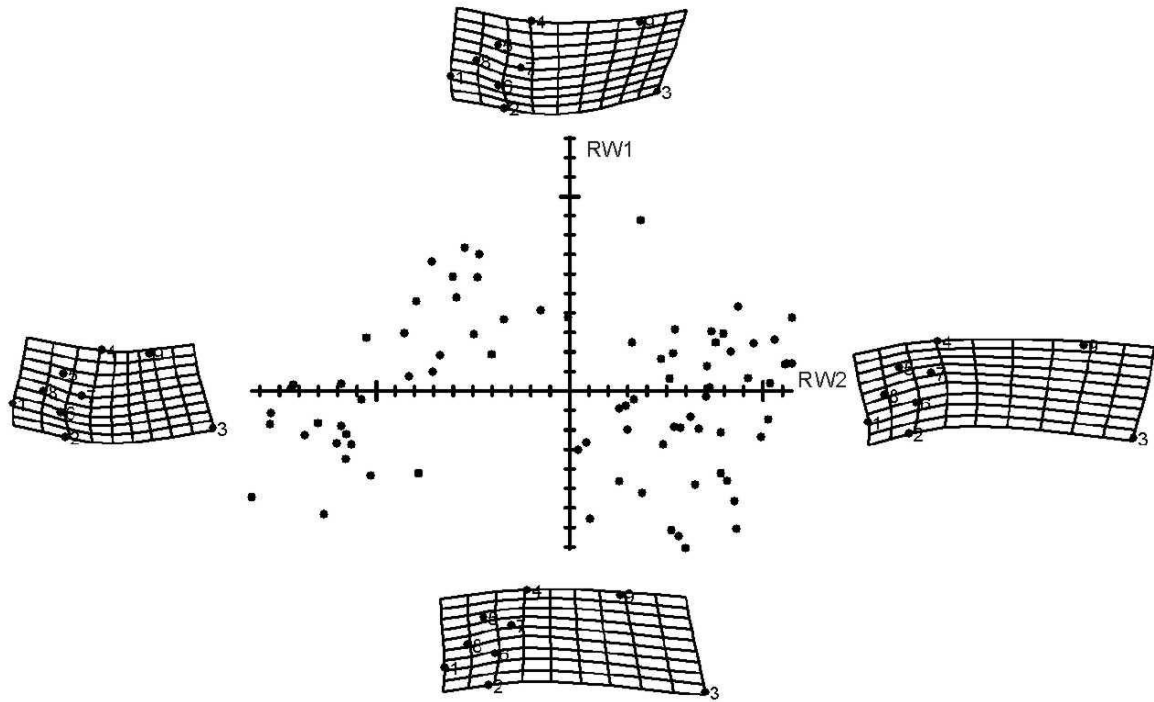


Figura 59: descriptivos de forma para el estudio de la variación morfológica a lo largo de la ontogenia temprana en embriones libres y larvas de *P. trucha* en individuos provenientes de Morenito, en los extremos de la distribución se muestran las grillas de deformación.

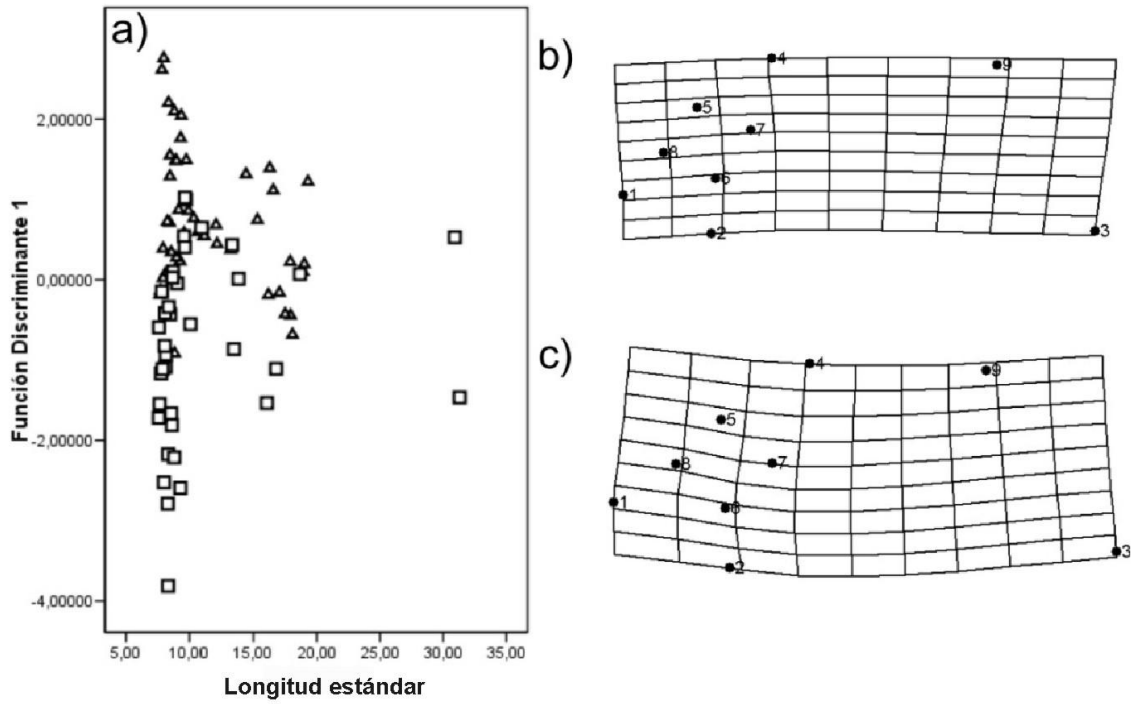


Figura 60: Embriones y larvas provenientes del lago Morenito se muestra la única función discriminante versus la longitud estándar. Se distinguen los individuos según las temperaturas de incubación y desarrollo, 15 y 19°C respectivamente en triángulos y cuadrados. Grilla de deformación que representan a cada grupo.

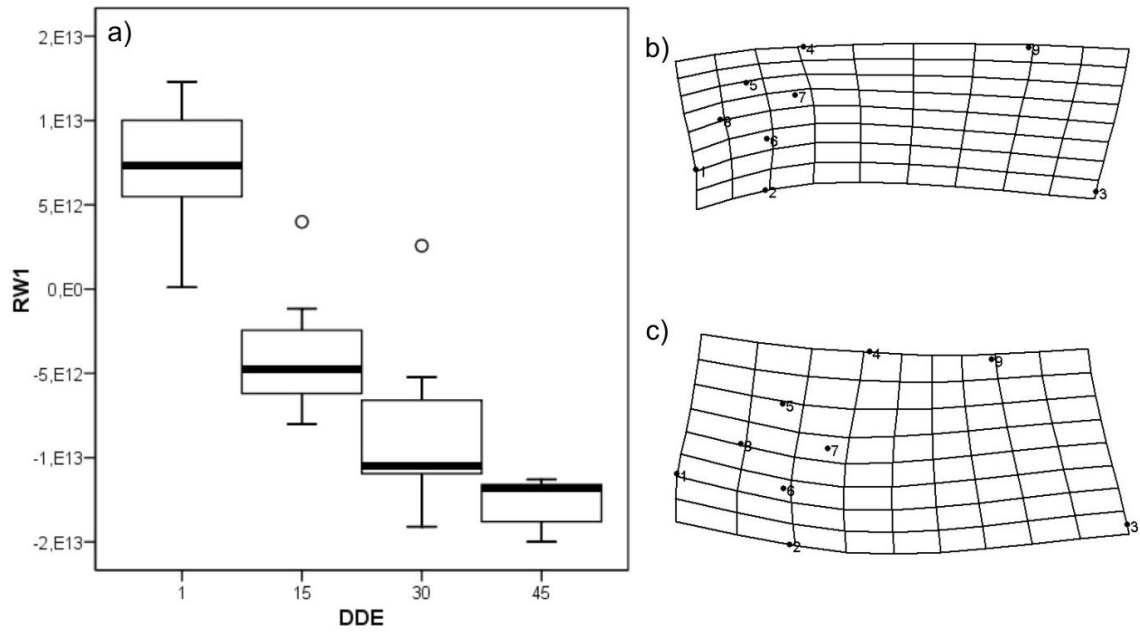


Figura 61 a: Trayectoria ontogenética en individuos provenientes de Morenito incubados y desarrollados a 15°C, desde el 1 días después de la eclosión al día 45. Grillas de deformación para los extremos positivo y negativo del primer relative warps.

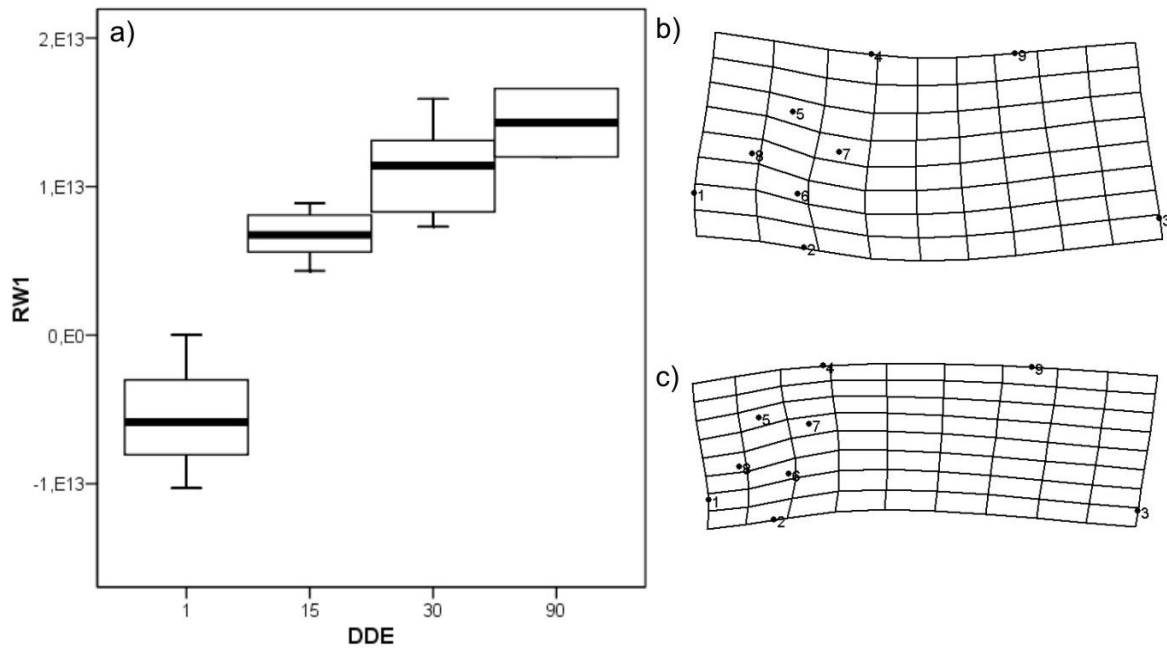


Figura 61 b: Trayectoria ontogenética en individuos provenientes de Morenito incubados y desarrollados a 19°C, en individuos desde el 1 días después de la eclosión hasta 90 días. Grilla de deformación para los extremos positivo y negativo del primer relative warps.

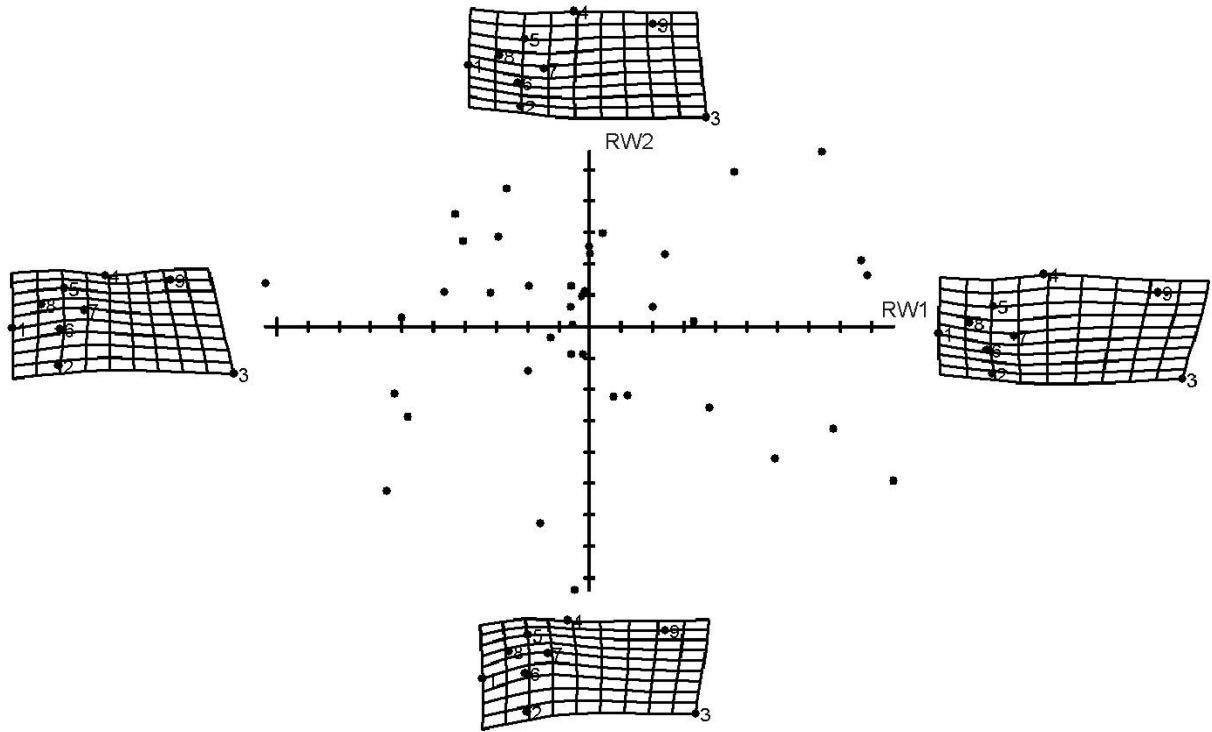


Figura 62: Descriptivos de la forma para larvas hermanas incubadas a la misma temperatura donde la primera alimentación fue ofrecida en distintos momentos, en ejemplares provenientes de Laguna Blanca. En los extremos de la distribución se observan las grillas de deformación correspondientes.

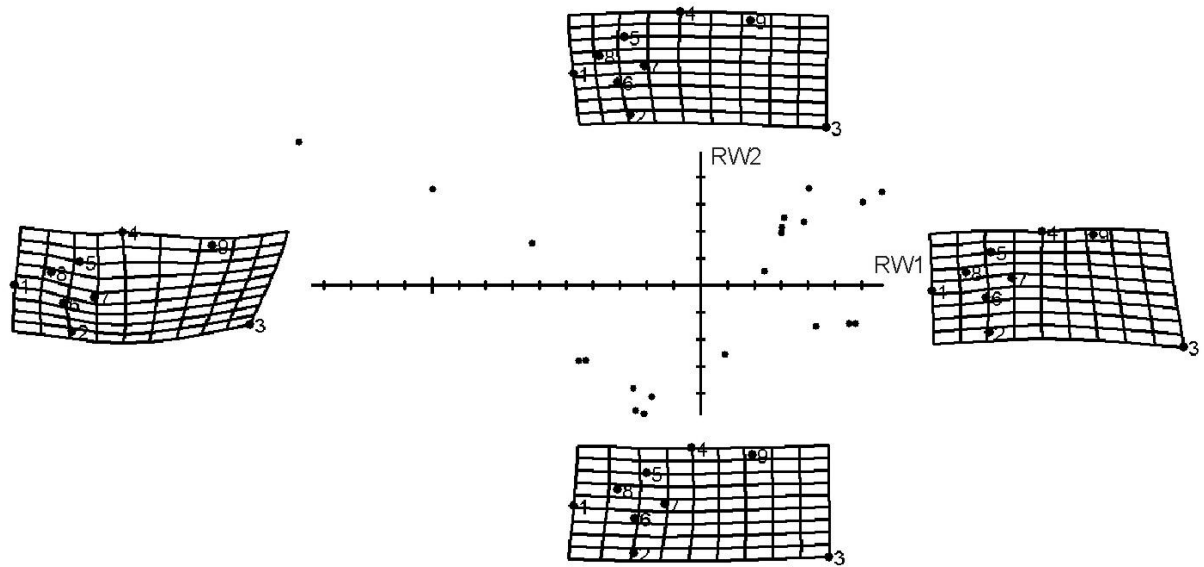


Figura 63: Descriptivos de la forma para larvas hermanas incubadas a la misma temperatura donde la primera alimentación fue ofrecida en distintos momentos, en ejemplares provenientes del Lago Morenito. En los extremos de la distribución se observan las grillas de deformación correspondientes.

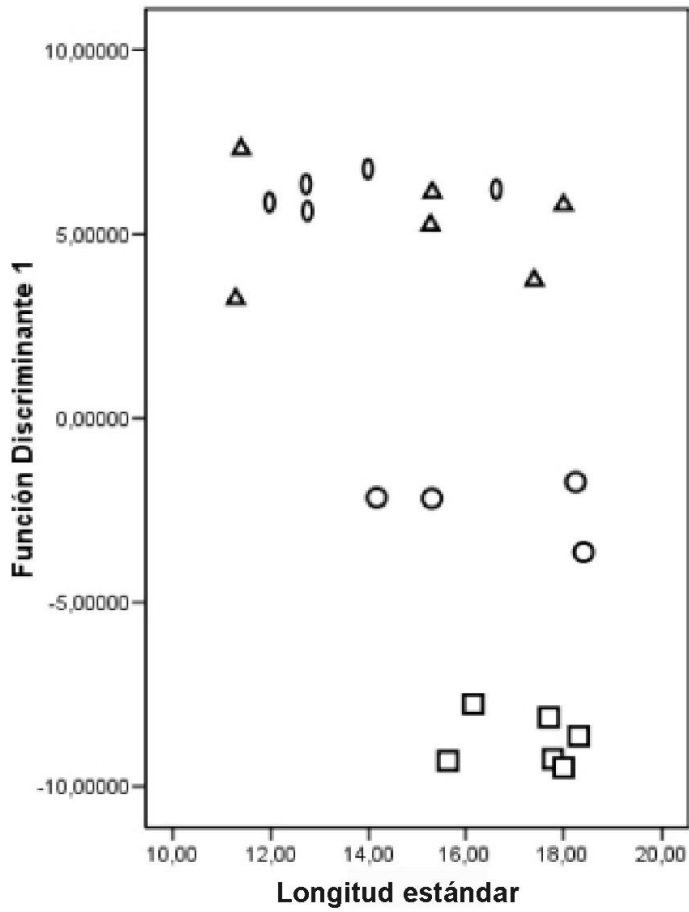


Figura 64: Comparación entre individuos de *P. trucha* con diferentes días de primera alimentación a los 15 días después de la eclosión. Primera función discriminante versus la longitud estándar. Se comparan los individuos alimentados el 1 día de eclosión, segundo, tercero y cuarto (círculos, cuadrados, triángulos y óvalos respectivamente).

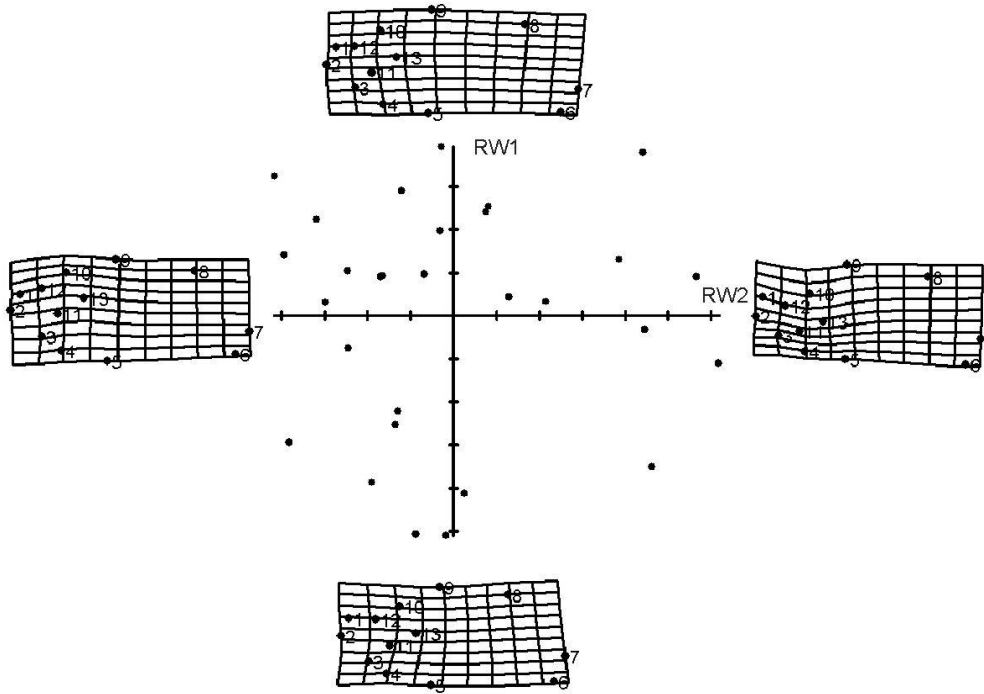


Figura 65: Descriptivos de la forma para larvas de *P. trucha* hermanas incubadas a la misma temperatura, alimentadas un grupo con copépodos y otro con *Daphnia*, en los extremos de la distribución se muestran las grillas de deformación.

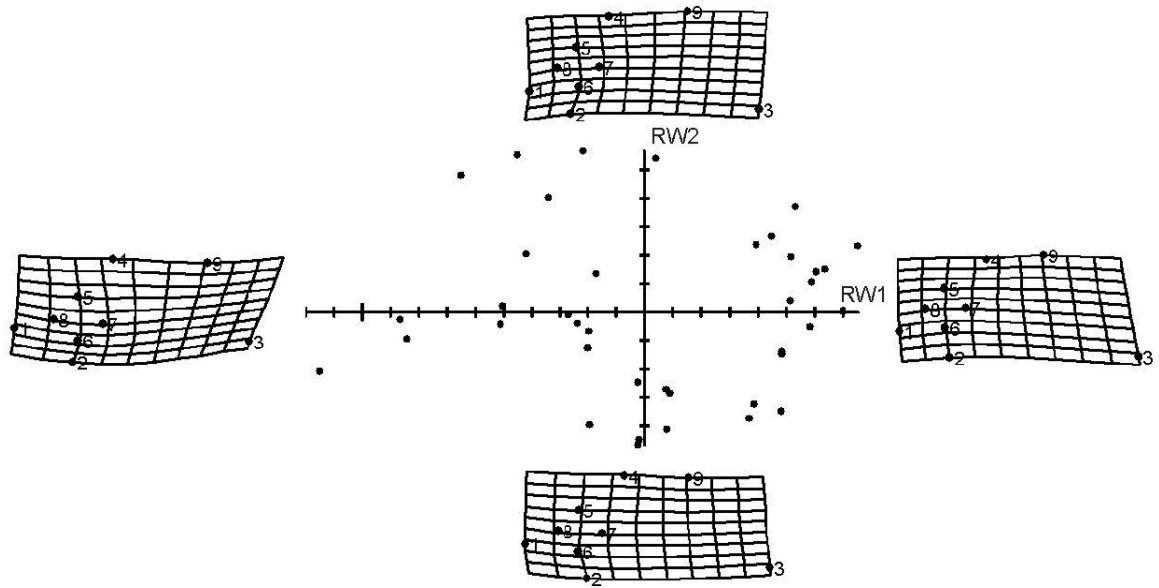


Figura 66: Descriptivos de la forma para el análisis de los individuos de 30 días después de la eclosión, en los extremos de los ejes se encuentran las grillas de deformación correspondientes.

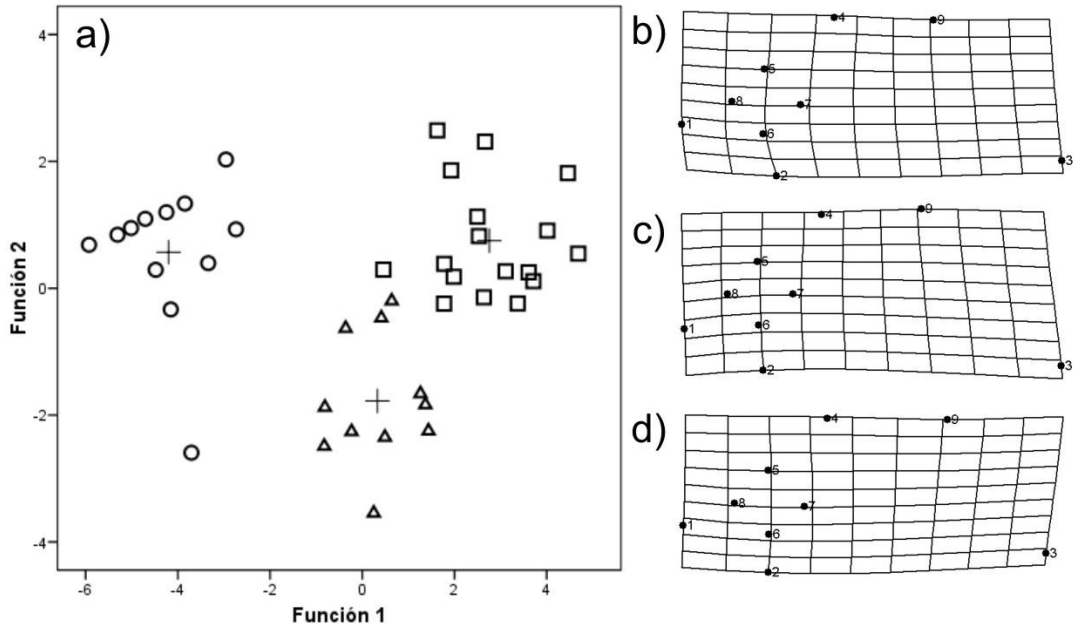
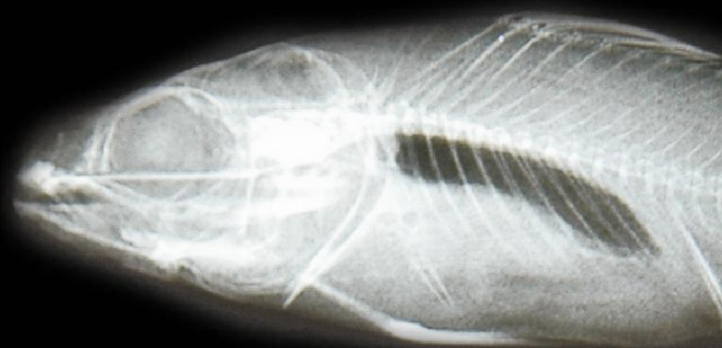


Figura 67: Comparación entre individuos incubados a 19°C con 30 días después de la eclosión, cada grupo pertenece a un sitio de muestreo distinto. Grillas de deformación, para la media de cada grupo (Lago Morenito (esta pareja solo fue utilizada en este análisis) (círculos), Lago Morenito (cuadrados) y Laguna Blanca (triángulos).

CAPÍTULO 4

Juveniles de Percas



Capítulo 4: Juveniles de *Percichthys trucha*

Materiales y Métodos

Variaciones morfológicas en juveniles

Se capturaron individuos en la cola del embalse Alicura, sobre la margen izquierda del río Traful (40°43'06''S, 71°05'55''O, verano 2008). Los ejemplares fueron capturados con red de arrastre a costa, colocados en conservadoras con aireación y trasladados al laboratorio del CENSALBA. En primer lugar se anestesió (benzocaína 0,8%) una parte de los individuos y se tomaron fotografías (Nikon D70) del flanco izquierdo obteniendo las imágenes de los individuos recién capturados. Los restantes individuos fueron separados en tres lotes y cada lote en dos, quedando un total de 6 acuarios (200 l) a temperatura ambiente (media 12.4°C, rango 10 a 15°C) y fotoperíodo natural, con tres tipos de alimento (balanceado, zooplancton y *Tubifex* sp.). El alimento balanceado (formulado acorde a Hualde *et al.* 2011) fue usado como alimento duro y sin movilidad. El zooplancton estuvo formado en un 70% por *Daphnia* sp. y copépodos (calanoideos y ciclopoideos), éste se utilizó como alimento con gran movilidad y pequeño tamaño. El *Tubifex* sp. se utilizó como alimento con escasa movilidad y gran tamaño. La elección de las dietas se realizó en relación a: disponibilidad y tratando de conseguir distintos grados de similitud con la dieta natural conocida para juveniles (10,6 a 77,8mm LE); la cual está compuesta por larvas de quironómidos, *Daphnia* sp., y copépodos cyclopoideos (Ruzzante *et al.* 2003).

En todos los casos el alimento se ofreció a saciedad, dos veces al día, con una diferencia de 4 horas entre cada administración. Los individuos fueron anestesiados y fotografiados (Nikon D70) en su flanco izquierdo. A los 70 días de tratamiento, se fotografiaron los tres lotes. A los 110 días y 150 días se fotografiaron solo los individuos

alimentados con *Tubifex* sp. (Tabla 14) ya que posteriormente a la toma de las imágenes los lotes 1 y 2 se vieron ampliamente parasitados por el ciliado, *Ichthyophthirius multifiliis* (punto blanco) y no se pudo controlar la enfermedad.

También fueron capturados individuos juveniles silvestres en el río Pichileufu (41°05'46''S, 70°50'04''O, verano 2009) y en el río Caleufu (40°23'52''S, 70°44'17''O, primavera 2007) con pesca eléctrica (Smith-Root 12B model, Vancouver, WA, USA) y en el Embalse Piedra del Águila (40°27'22''S, 70°39'50''O, verano 2009) y en el río Negro (38°59'22''S, 67°59'24''O, verano 2007) con red de arrastre de costa. Los individuos fueron anestesiados y fotografiados (Tabla 14, resumen de datos obtenidos).

Se llevaron a cabo dos análisis morfométricos, uno del cuerpo y otro del detalle cefálico. En ambos casos se realizó las siguientes comparaciones:

- a) Entre individuos recién capturados provenientes de Traful, Pichileufu, Caleufu, río Negro y Embalse Piedra del Águila (para el análisis de la forma del cuerpo) y provenientes de Traful, Pichileufu y Embalse Piedra del Águila (para el análisis cefálico). Se trabajó con un total de 130 individuos y 12 puntos homólogos (Tabla 15 y Fig. 68) en el cuerpo entero y con 106 individuos y otros 12 puntos homólogos (Tabla 16 y Fig. 69) en el detalle cefálico de cada individuo.
- b) Comparación de la forma corporal y cefálica entre individuos alimentados con tres dietas provenientes del río Traful, las dietas se ofrecieron durante 70 días y se estudió la variación de forma en relación a los individuos recién capturados.

- c) Comparación de individuos recién capturados en el río Traful con individuos alimentados con *Tubifex* sp. por 70, 110 y 150 días, se estudio la variación de forma en cuerpo y cabeza. Se trabajó con un total de 162 individuos en el análisis corporal y 144 para el detalle cefálico.

La forma corporal y cefálica se analizó con morfometría geométrica (AMG). En el estudio en vistas laterales completas (cuerpo) se utilizó 3 puntos homólogos para corregir errores relacionados con la curvatura del cuerpo (*unbend*). Con los partial warps (PWs), tanto con la variable uniforme como con la no-uniforme, se realizó análisis discriminantes (AD). Las comparaciones entre los tipos de alimento y el tiempo de exposición se realizaron en todos los casos a través de análisis de ANOVA. Los análisis estadísticos se realizaron usando los paquetes estadísticos SPSS® y SIGMAPLOT®.

Resultados

Variaciones morfológicas en juveniles

El análisis de MG para la forma corporal de individuos provenientes de cuatro ríos y un embalse mostró un 51,42% de variación, explicada por los primeros RWs (RW1= 39,45; RW2= 11,97; N= 203; Fig. 70). El AD entre los cinco cuerpos de agua analizados mostró cuatro funciones discriminantes (FDs) significativas que clasificaron correctamente el 95,6% y explicaron el 100% de la variación de forma (FD1, Wilks' lambda= 0,016; N=203, $P < 0,001$; FD2 Wilks' lambda= 0,118; N=203, $P < 0,001$; FD3, Wilks' lambda= 0,346; N=203, $P < 0,001$ y FD4 Wilks' lambda= 0,697; N=203, $P < 0,001$). El análisis de MG en la forma cefálica de individuos juveniles provenientes de dos ríos y un embalse mostró un 65,97% de variación para los primeros RWs (RW1= 53,84; RW2= 12,13; N= 151; Fig. 71). El AD entre estos tres cuerpos de agua mostró dos FD significativas las que clasificaron correctamente en un 95,4% de los casos y explicaron el 100% de la variación (DF1, Wilks' lambda= 0,048; N=151, $P < 0,001$ y DF2 Wilks' lambda= 0,361; N=151, $P < 0,001$).

Inducción de plasticidad en juveniles

Tratamientos con distintos (4) tipos de alimento: El AMG para la forma corporal, explicó un 40,3% de la variación morfológica en los primeros descriptores (RW1= 23,18% y RW2= 17,12%, Tabla 17; Fig. 72).

El RW1 (Pearson $r = 0,260$; N=130, $P = 0,003$) y el RW2 (Pearson $r = 0,186$; N=130, $P < 0,033$) correlacionaron positivamente con la longitud estándar (LE) (Fig. 73). Pese a esto, las nubes de puntos según talla se encuentran parcialmente solapadas, especialmente las nubes pertenecientes a los individuos sometidos a tratamiento.

El AD produjo dos FDs significativas que clasificaron correctamente el 89,2% de los casos y explican el 95,3% de la variación. FD1 (Wilks' lambda=0,100; N=130, $P < 0,001$) y FD2 (Wilks' lambda= 0,397; N=130, $P < 0,001$; Fig. 74). FD1 separó los individuos recién capturados y el FD2 separó a los individuos alimentados con *Tubifex* sp. del resto de los grupos. Los individuos tratados mostraron cuerpos más robustos y mandíbulas más largas que los individuos silvestres (recién capturados).

El AMG para el detalle cefálico explicó un 29,96% (RW1, Tabla 17; Fig. 75) y un 20,83% (RW2) de la variación. No existe correlación de la forma con la LE.

Al comparar entre los tipos de alimento ofrecidos (4), el AD produjo una FD significativa que clasificó correctamente el 85,8% de los casos y explicó 100% de la variación (FD1, Wilks' lambda= 0,139; N= 106, $P < 0,001$). Esta función separó los individuos recién capturados de los individuos sometidos a tratamiento (Fig. 76). Los individuos tratados mostraron mandíbulas más largas y ojos más grandes que los individuos recién capturados.

Trayectoria de la variación morfológica, individuos alimentados con *Tubifex* sp.: El análisis de la forma corporal mostró que el RW1 explicó un 32,81% (Tabla 17; Fig. 77) de la variación encontrada y el RW2 explicó el 14,74%. Los tres primeros RWs se relacionaron con el LE, RW1 (Pearson $r=0,283$; N=162, $P < 0,001$; Fig. 78), RW2 (Pearson $r=0,504$; N=162, $P < 0,001$) y RW3 (Pearson $r=-0,246$; N=162, $P < 0,001$).

El AD según el tiempo de tratamiento (4), produjo 3 FDs significativas que clasifican correctamente el 91,4% de los casos y explican 100% de la variación (FD1 Wilks' lambda= 0,050; N=162, $P < 0,001$; FD2 Wilks' lambda= 0,263; N=162, $P < 0,001$; Fig. 79 y FD3 Wilks' lambda= 0,557; N=162, $P < 0,001$). Al observar la gráfica de los dos

primeros discriminantes se ve las cuatro nubes de puntos separadas. La trayectoria de la forma mostró en un primer momento una elongación de la mandíbula que alcanzó su máximo a los 110 días de tratamiento. Luego con 150 días se produce un acortamiento de la mandíbula, incluso mayor al observado en los individuos recién capturados.

El AMG para el detalle cefálico en individuos alimentados exclusivamente con *Tubifex* sp. explicó un 30,81% (Tabla 17) de la variación para el RW1 y un 22,04% para el RW2 (Fig. 80). Existe relación negativa entre el RW1 y el LE (Pearson $r=-0,386$; $N=144$, $P<0,001$). Las tallas de los individuos alimentados con *Tubifex* sp. por 150 días se separan de las nubes de puntos de los restantes tratamientos (Fig. 81).

El AD produjo 3 FDs significativas que clasificaron correctamente el 91,7% de los casos y explican 100% de la variación (FD1, Wilks' lambda= 0,037; $P<0,001$; FD2 Wilks' lambda= 0,161; $P<0,001$ y FD3, Wilks' lambda= 0,458; $P<0,001$). La FD1 separó los individuos alimentados con *Tubifex* sp. por 110 días de los restantes individuos, y la FD2 separó los individuos alimentados con *Tubifex* sp. por 150 días (Fig. 82). La trayectoria de la forma cefálica no mostró cambios en primer momento. A los 110 días de tratamiento, se observa un acortamiento de las mandíbulas y luego una elongación, aun mayor que lo observado en los individuos silvestres.

Tabla 14: Cuadro de resumen de las distintas comparaciones realizadas en el presente capítulo. Se detallan los alimentos ofrecidos y los tiempos de alimentación, para cada grupo, con x se marcan las comparaciones.

	Trafal	Balanceado	Zooplancton	<i>Tubifex</i> sp.	Otros lagos
Tiempo 0	X				X
Tiempo 1 (70 días)		X	X	X	
Tiempo 2 (110 días)				X	
Tiempo 3 (150 días)				X	

Tabla 15: Definición de puntos homólogos digitalizados en el análisis corporal de *P. trucha* juveniles. Número de cada punto homólogo utilizado N, Figura 68. *Unbend* puntos seleccionados para corrección de curvaturas.

Nº punto	Definición
1	Extremo anterior del premaxilar (<i>unbend</i>)
2	Extremo posterior del maxilar
3	Extremo inferior de la intersección entre opérculo y preopérculo
4	Extremo posterior del opérculo
5	Ano
6	Punto ventral de la sección transversal del pedúnculo caudal
7	Extremo medio posterior del pedúnculo caudal (<i>unbend</i>)
8	Punto dorsal de la sección transversal del pedúnculo caudal
9	Extremo posterior de inserción de aleta dorsal
10	Extremo anterior de inserción de aleta dorsal
11	Centro del ojo
12	Punto medio a la altura del ano (<i>unbend</i>)

Tabla 16: Definición de los puntos homólogos digitalizados en el análisis cefálico de *P.*

trucha juveniles. Número de cada punto homólogo utilizado N, Figura 69.

Nº punto	Definición
1	Extremo anterior del premaxilar
2	Extremo anterior del dentario
3	Extremo posterior del maxilar
4	Extremo posterior del dentario
5	Punto inferior de la intersección entre opérculo y preopérculo
6	Extremo posterior del opérculo
7	Extremo dorsal del preopérculo
8, 9, 10 y 11	Bordes del ojo (Antero-posterior y ventral-dorsal)
12	Centro de la Narina

Tabla 17: Variaciones morfológicas observadas in juveniles de *P. trucha*, diversidad de la variación en las comparaciones b) y c) realizadas para la forma corporal y cefálica. RW (relative warps) porcentaje de la variación explicada en cada caso.

Análisis de la forma corporal	RW1 b) (23.18%)		RW1 c) (32.81%)	
	Recién capturados	2.0×10^{24}	Recién capturados	2.0×10^{24}
	<i>Tubifex</i> sp. (70 días)	2.6×10^{24}	<i>Tubifex</i> sp. (70 días)	2.8×10^{24}
	Balaceado (70 días)	1.5×10^{24}	<i>Tubifex</i> sp. (110 días)	1.3×10^{24}
	Zooplankton (70 días)	2.1×10^{24}	<i>Tubifex</i> sp. (150 días)	1.1×10^{24}
Análisis de la forma cefálica	RW1 b) (29.96%)		RW1 c) (30.81%)	
	Recién capturados	1.6×10^{25}	Recién capturados	1.7×10^{25}
	<i>Tubifex</i> sp. (70 días)	2.1×10^{25}	<i>Tubifex</i> sp. (70 días)	1.8×10^{25}
	Balaceado (70 días)	1.1×10^{25}	<i>Tubifex</i> sp. (110 días)	5.4×10^{24}
	Zooplankton (70 días)	5.4×10^{24}	<i>Tubifex</i> sp. (150 días)	1.3×10^{25}

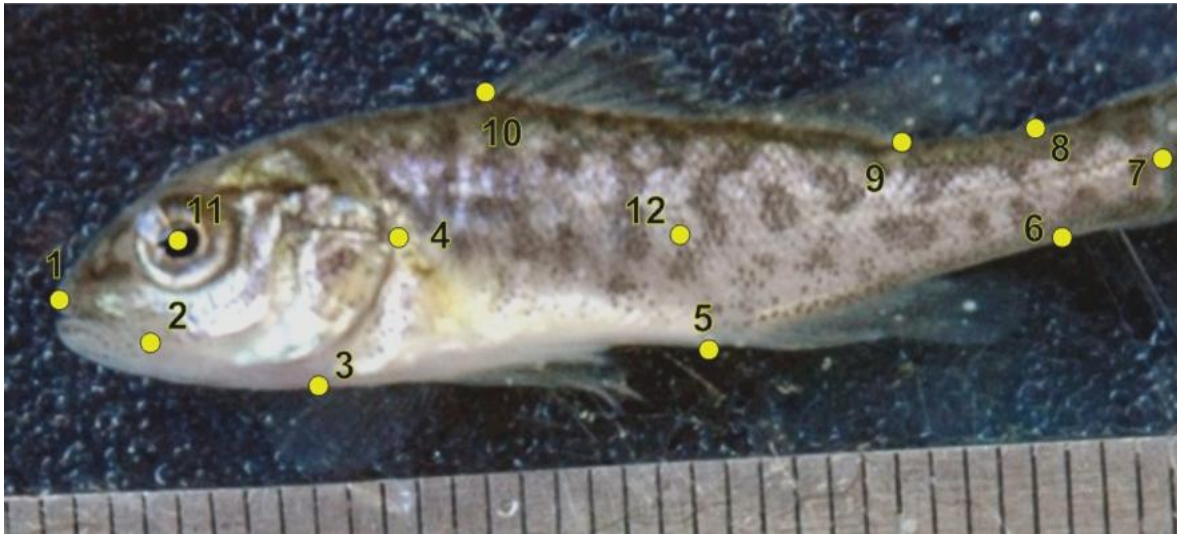


Figura 68: Imagen de un individuo juvenil de *P. trucha* recién capturado en el río Traful. En círculos amarillos se muestran los puntos homólogos digitalizados, para el análisis corporal, con su número de identificación. Se indica una escala milimetrada.

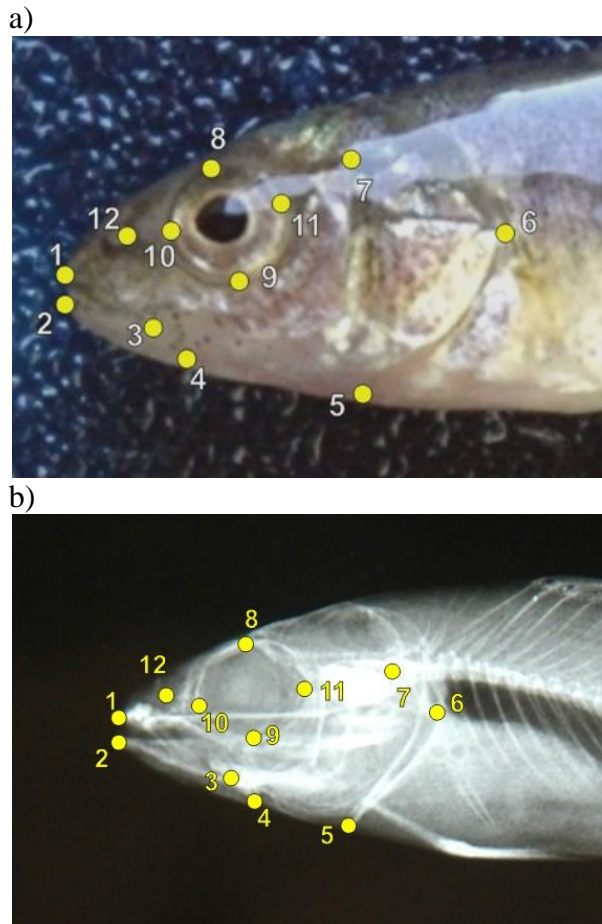


Figura 69: a) Imagen de un individuo juvenil de *P. trucha* recién capturado en el río Traful.
b) Imagen radiográfica tomada por un mamógrafo, individuos río Traful, se pueden observar las relaciones esqueléticas. En círculos amarillos se detallan los puntos homólogos digitalizados en los análisis cefálicos, con sus números de identificación, Tabla16.

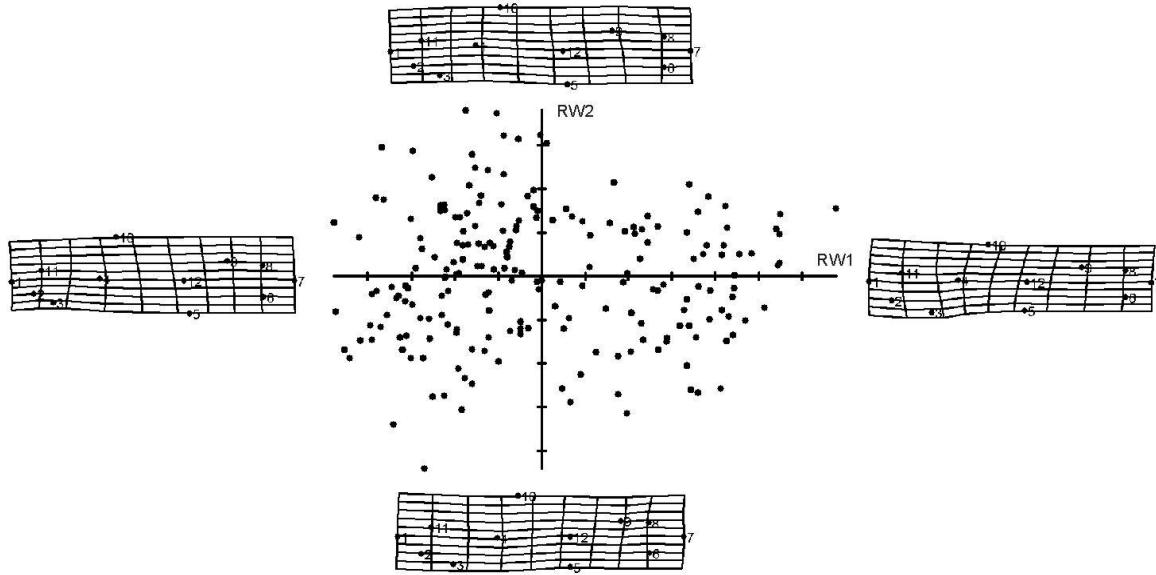


Figura 70: Descriptivos de la forma corporal en individuos juveniles silvestres capturados en Trafal, Pichileufu, Caleufu, río Negro y Embalse Piedra del Águila de *P. trucha*. En los extremos de los ejes se muestran las grillas de deformación correspondientes.

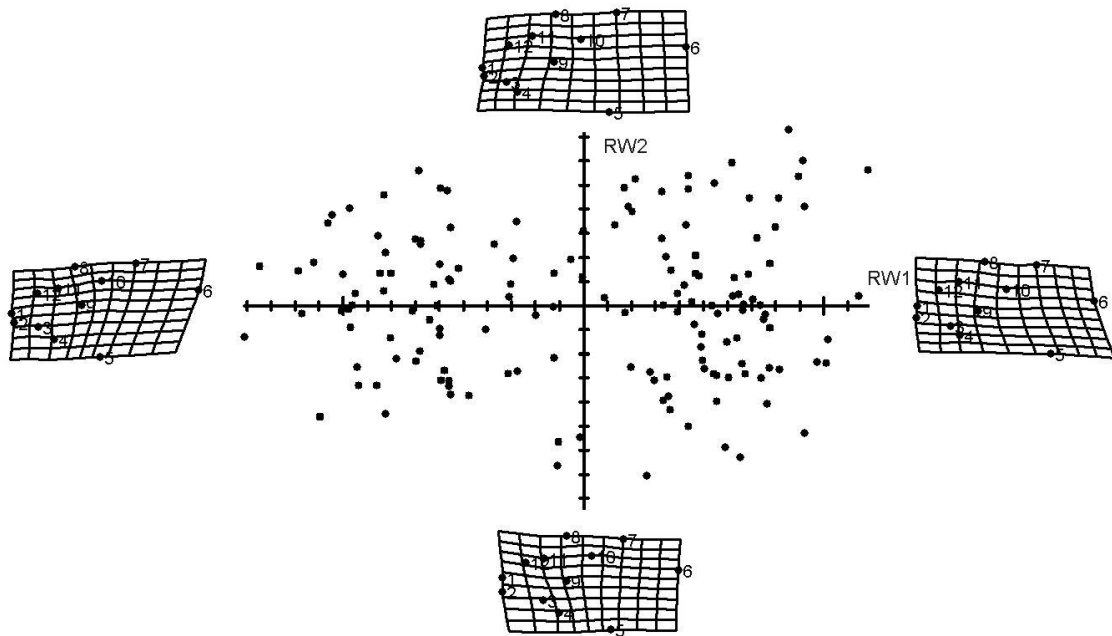


Figura 71: Descriptivos de la forma cefálica en individuos juveniles silvestres capturados en Trafal, Pichileufu y Embalse Piedra del Águila de *P. trucha*. En los extremos de los ejes se muestran las grillas de deformación correspondientes.

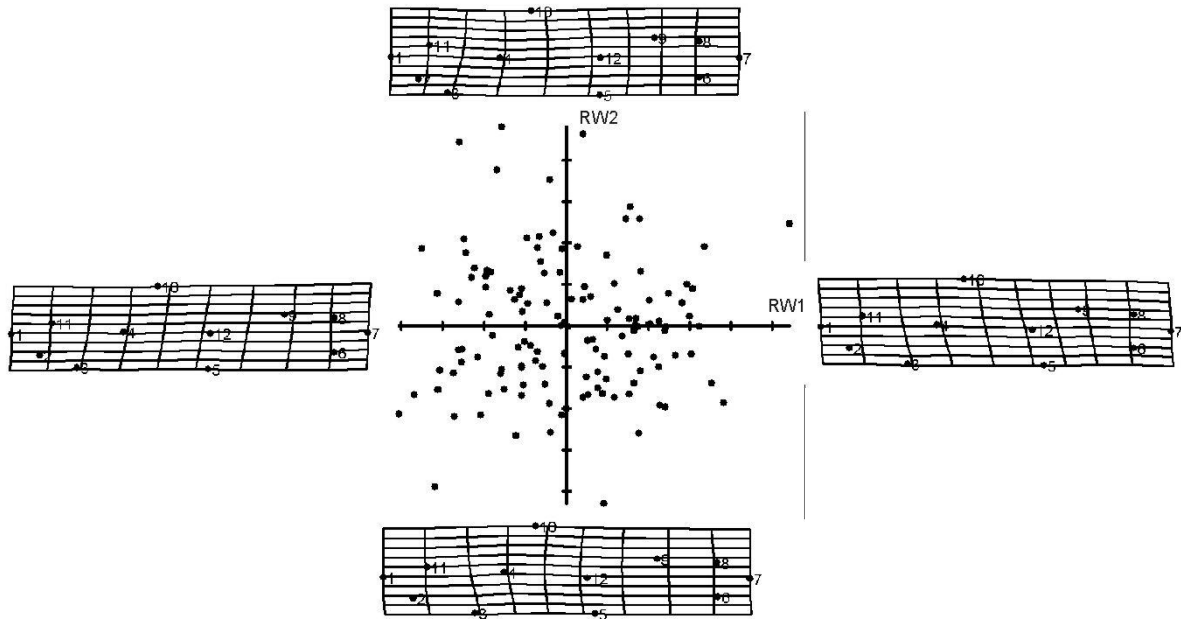


Figura 72: Descriptivos de la forma corporal en individuos juveniles silvestres de *P. trucha*. En la comparación de individuos silvestres recién capturados en el río Traftul y los mismos individuos alimentados por 70 días con balanceado, zooplancton y *Tubifex* sp. En los extremos de los ejes se visualizan las grillas de deformación correspondientes.

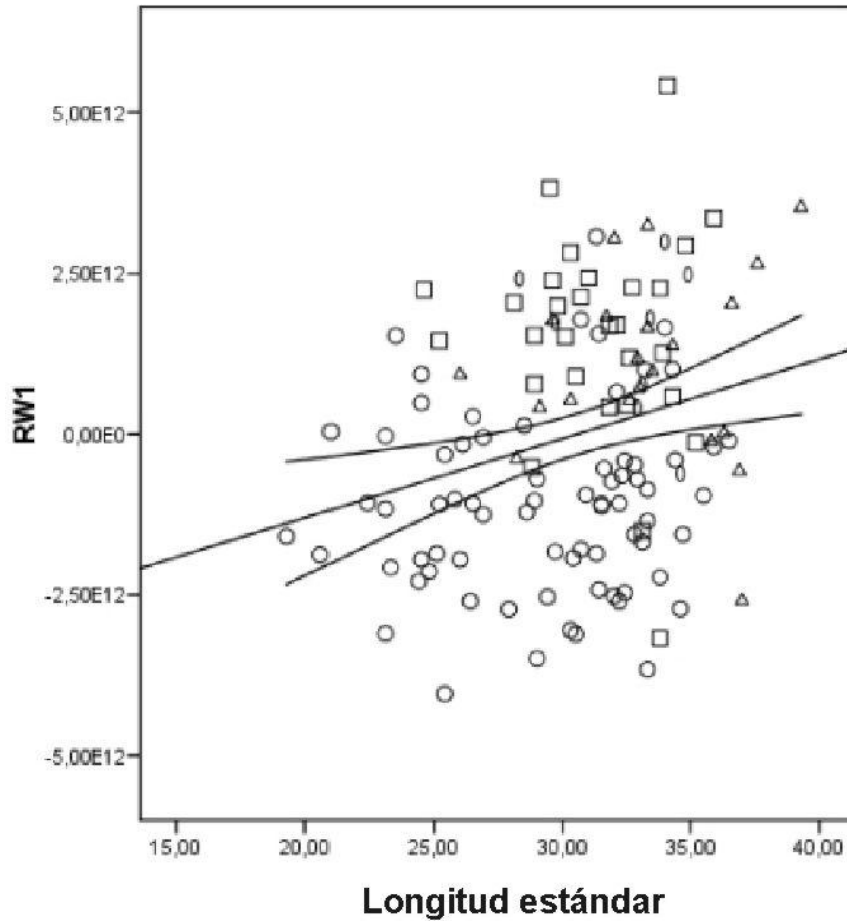


Figura 73: Análisis de comparación entre dietas. Primer descriptivo de la forma extraída del análisis de morfometría geométrica versus la longitud estándar. Círculos, individuos recién capturados. Cuadrados, individuos alimentados con *Tubifex* sp. Triángulos, individuos alimentados con zooplancton.

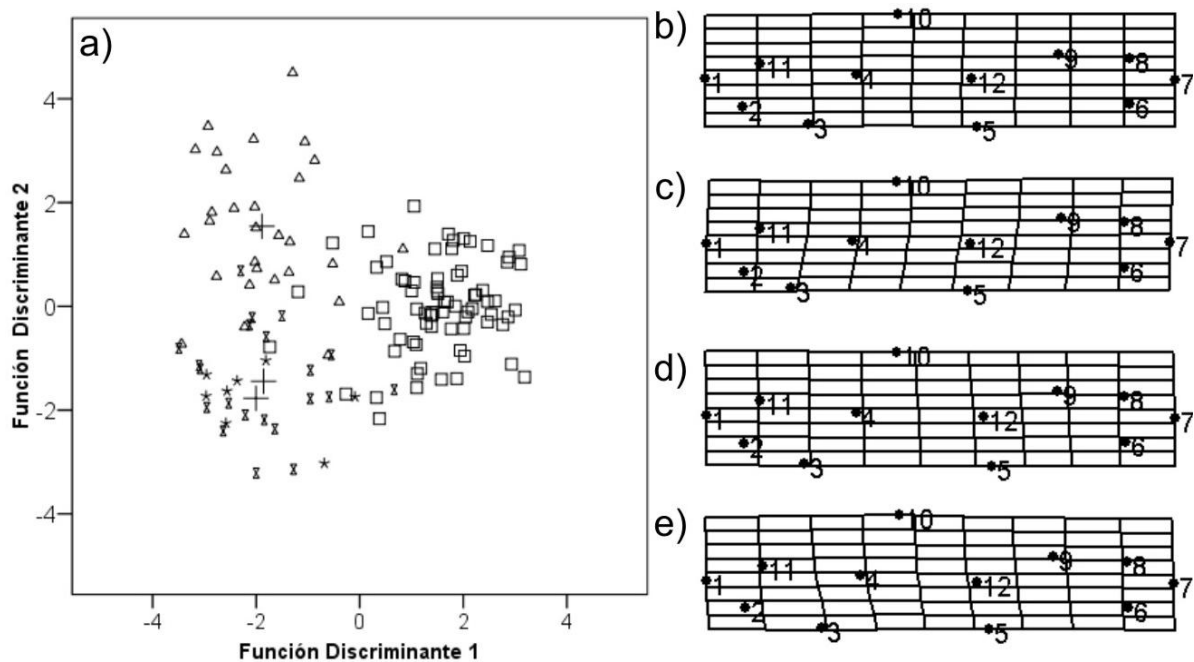


Figura 74: Variación de la forma corporal inducida por el tipo de alimento consumido en 70 días de experimentación. Grillas de deformación: individuos alimentados con *Tubifex* sp., individuos recién capturados (río Trafal) individuos alimentados con zooplancton e individuos alimentados con balanceado, en b), c), d) y e) identificados por triángulos, cuadrados, moños y estrellas respectivamente.

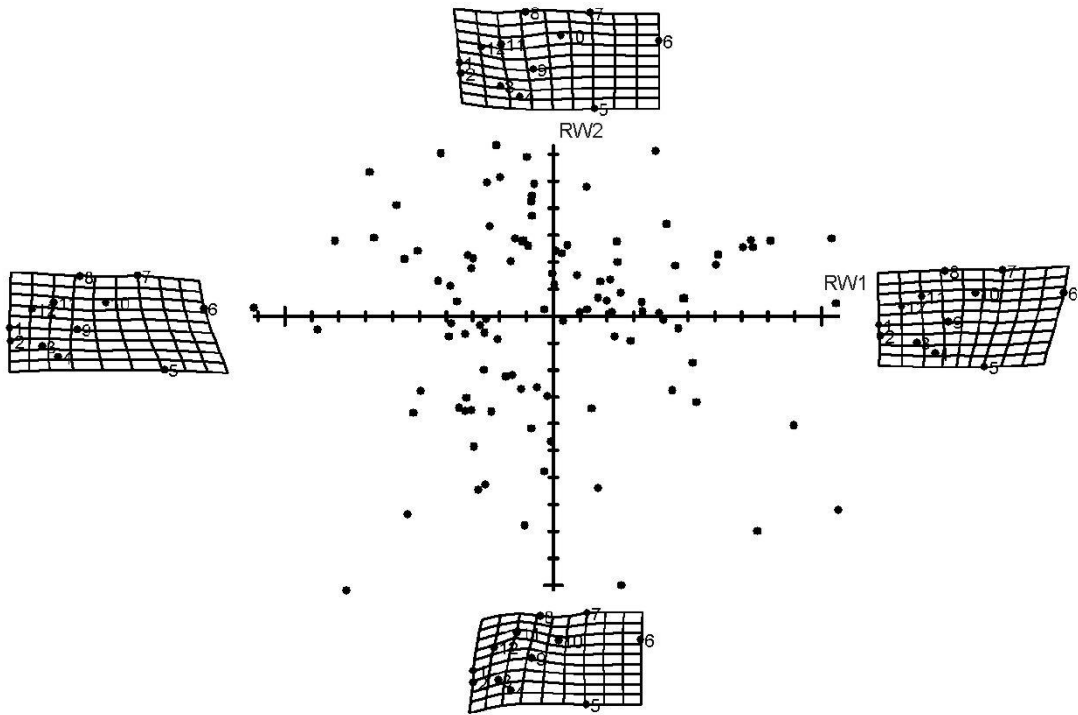


Figura 75: Descriptivos de la forma cefálica en individuos juveniles silvestres de *P. trucha*. En la comparación de individuos silvestres recién capturados en el río Traful y los mismos individuos alimentados por 70 días con balanceado, zooplancton y *Tubifex* sp. En los extremos de los ejes se visualizan las grillas de deformación correspondientes.

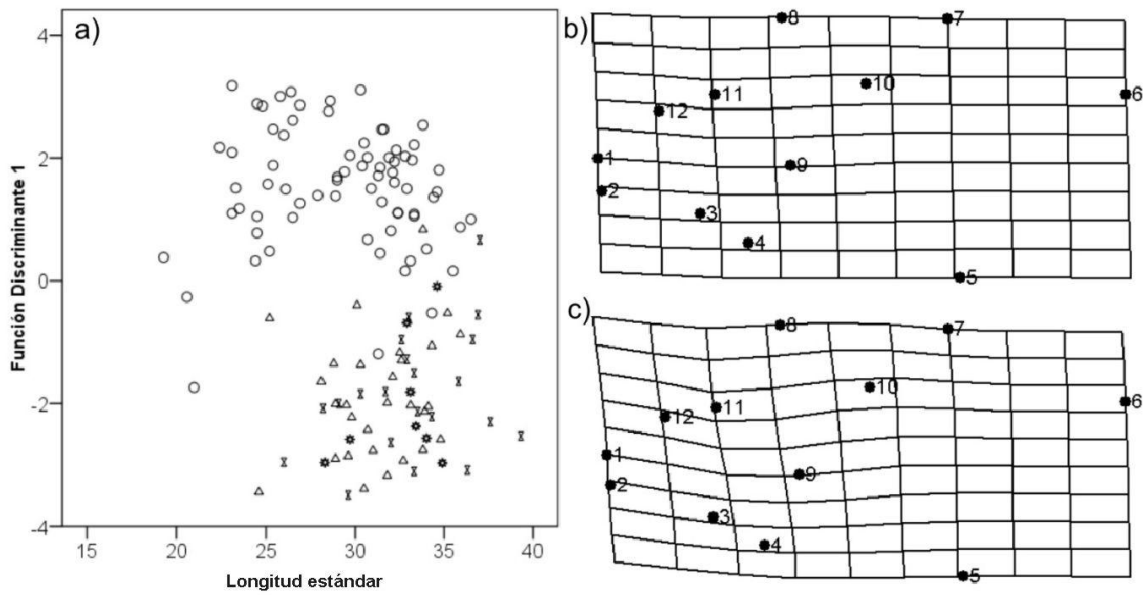


Figura 76: Variación de la forma corporal inducida por el tipo de alimento consumido en 70 días de experimentación. Primera función discriminante versus la longitud estándar. Grillas de deformación: individuos alimentados con *Tubifex* sp., individuos recién capturados (río Traful) individuos alimentados con zooplancton e individuos alimentados con balanceado, en b) y c)) identificados por triángulos, círculos, moños y estrellas respectivamente.

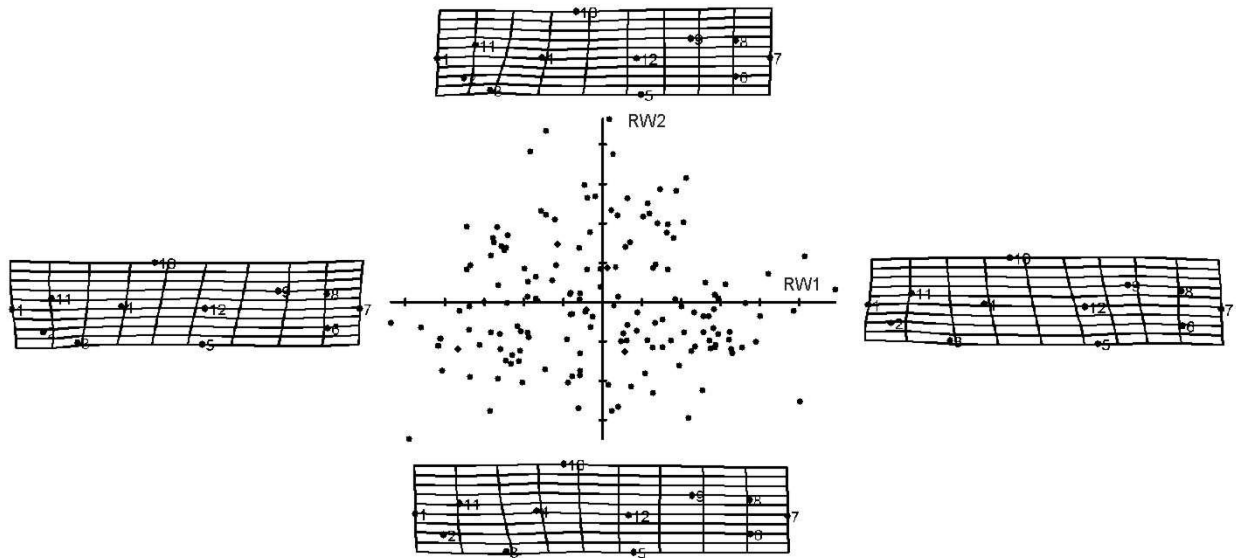


Figura 77: Descriptivos de la forma corporal en individuos juveniles silvestres de *P. trucha*. Comparación de individuos silvestres recién capturados en el río Traful y los mismos individuos alimentados por 70, 110 y 150 días con *Tubifex* sp. En los extremos de los ejes se visualizan las grillas de deformación correspondientes.

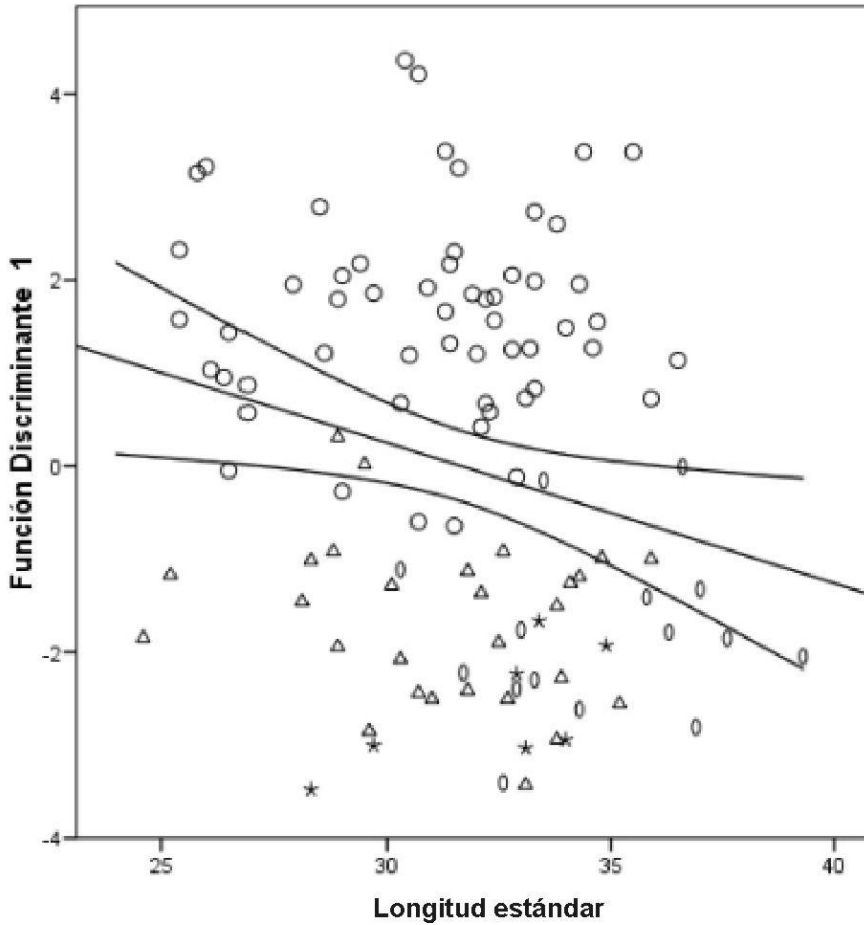


Figura 78: Correlación entre la longitud estándar y la primer función discriminante en individuos con distintos tiempos de sometimiento al tratamiento. En círculos, individuos recién capturados. En cuadrados, individuos alimentados con *Tubifex* por 70 días. En óvalos, individuos alimentados con *Tubifex* por 110 días. Estrellas, individuos alimentados con *Tubifex* por 150 días.

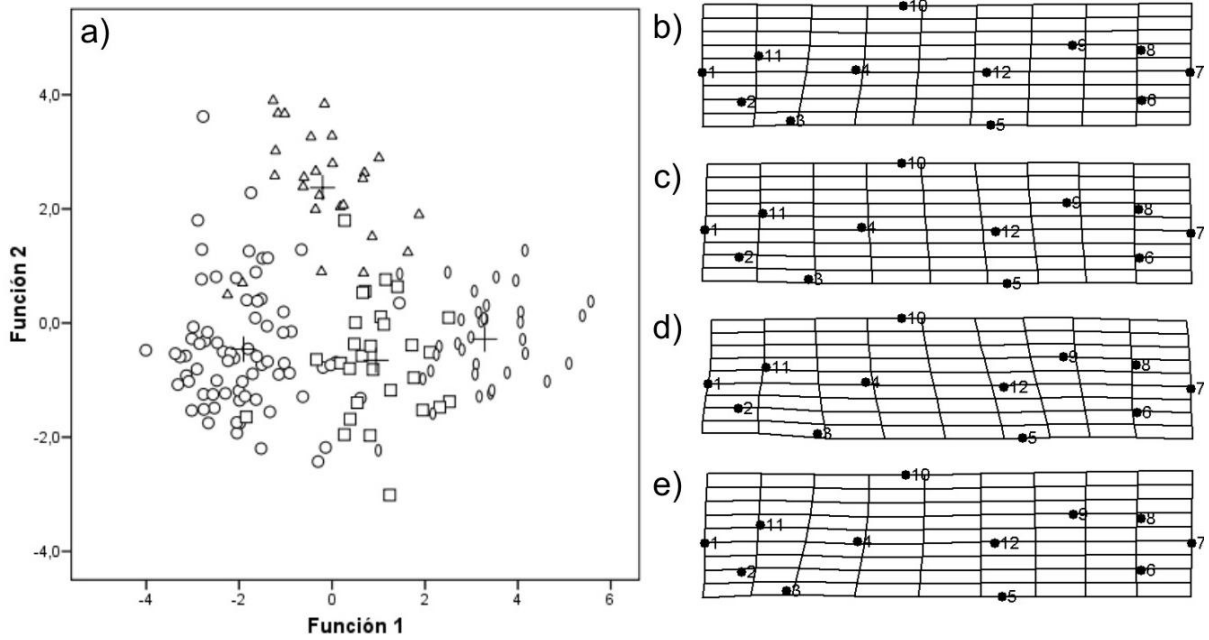


Figura 79: Trayectoria morfológica corporal en juveniles con distintos tiempos de tratamiento, relación entre las primeras funciones discriminantes. Grillas de deformación para la forma media de los individuos pertenecientes a cada grupo. Recién capturados (círculos), alimentados con *Tubifex* sp. por 70 días (cuadrados), alimentados con *Tubifex* sp. por 110 días (óvalos) y alimentados con *Tubifex* sp. por 150 días (triángulos).

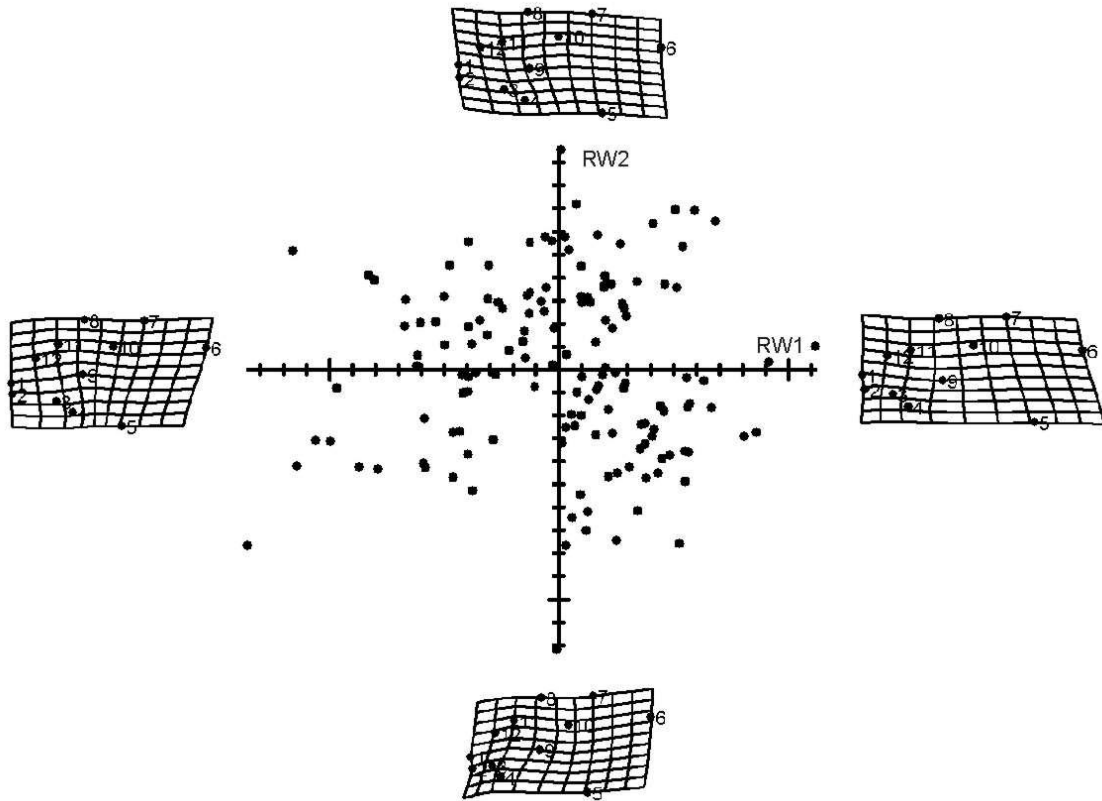


Figura 80: Descriptivos de la forma cefálica en individuos juveniles silvestres de *P. trucha*. Comparación de individuos silvestres recién capturados en el río Traful y los mismos individuos alimentados por 70, 110 y 150 días con *Tubifex* sp. En los extremos de los ejes se visualizan las grillas de deformación correspondientes.

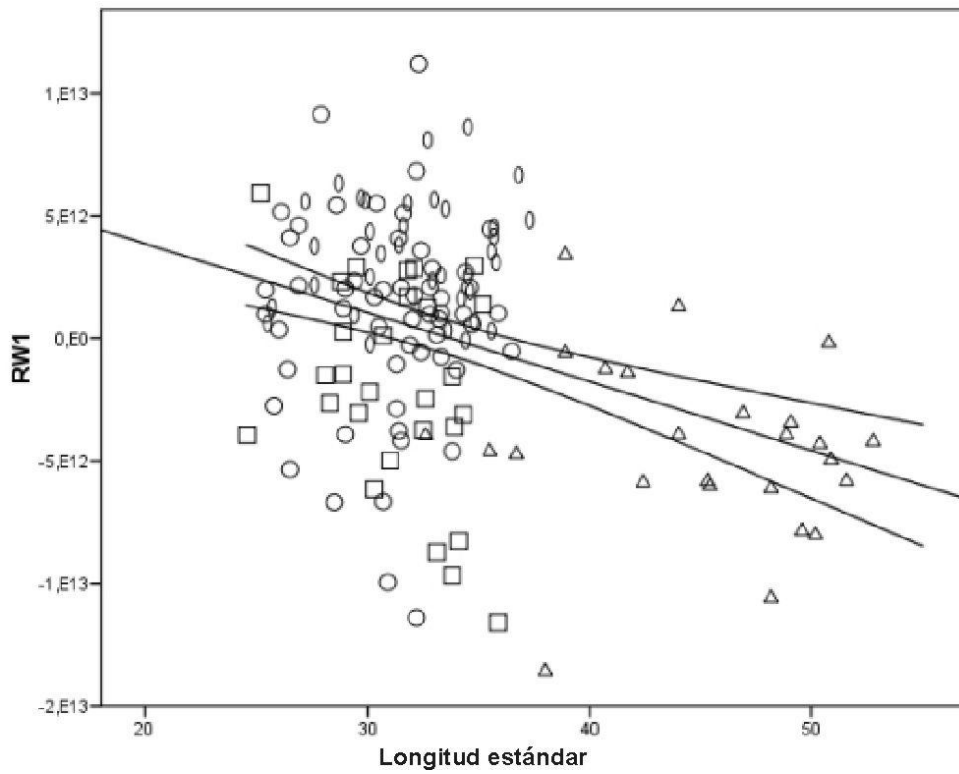


Figura 81: Correlación entre la longitud estándar y el primer descriptivo de la forma en los distintos grupos de individuos expuestos a distintos tiempos de alimentación con un mismo alimento (*Tubifex* sp.). Círculos, individuos recién capturados. Cuadrados, individuos alimentados por 70 días. Óvalos, por 110 días. Triángulos, por 150 días.

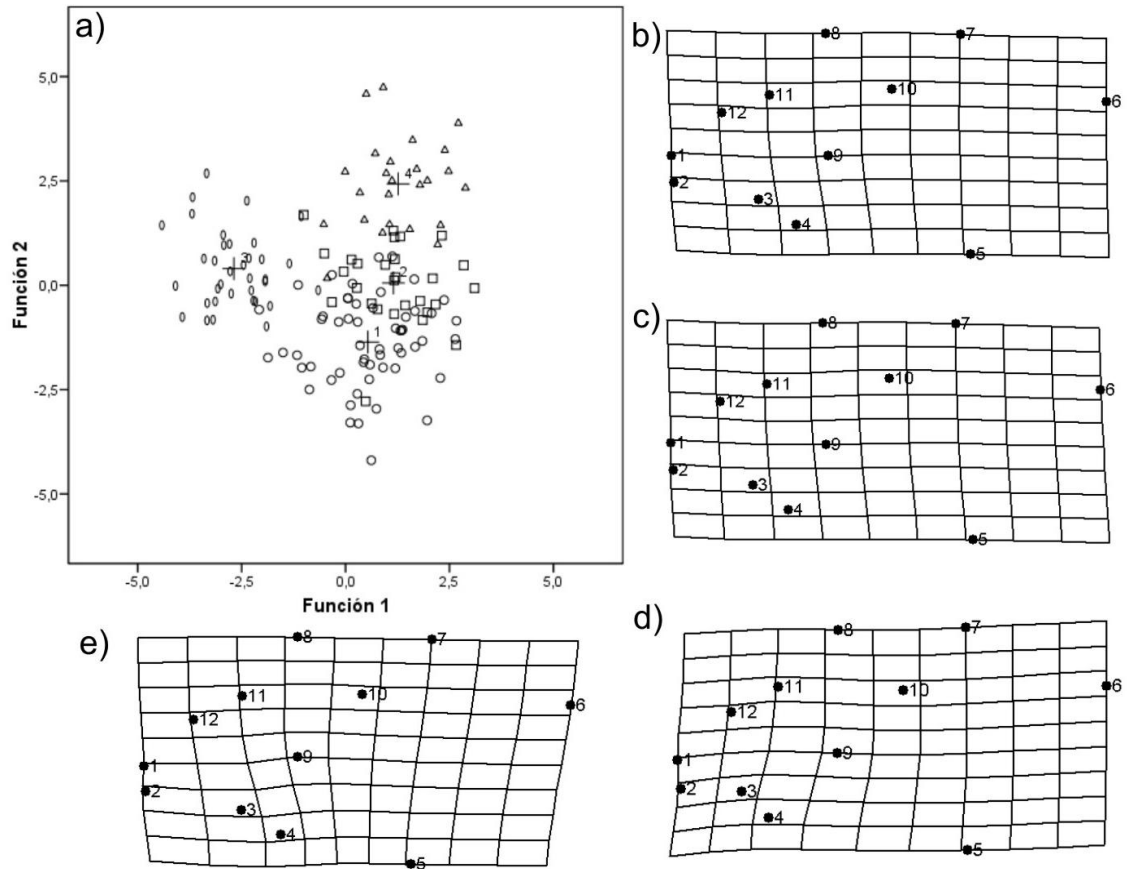


Figura 82: Trayectoria de la forma cefálica inducida por el tiempo de alimentación con una misma dieta *Tubifex* sp. Grillas de deformación, en los individuos de cada grupo: recién capturados (círculos), alimentados por 70 días (cuadrados), alimentados por 110 días (óvalos), e) alimentados por 150 días (triángulos).

CAPÍTULO 5

Comparación de Percas y Pejerreyes



Capítulo 5: *Comparación entre O. hatcheri y P. trucha*

Materiales y Métodos

Comparación inter-específica

Se trabajó con individuos utilizados en los capítulos anteriores, más una muestra de imágenes de individuos adultos de *P. trucha* provenientes de distintas poblaciones (Barriga, J.P, datos no publicados, Tabla 18). Con las imágenes de todos los individuos (N= 749, *O. hatcheri* n=211 y *P. trucha* n=538) se colocaron un total de 9 puntos homólogos (Tabla 19, Fig. 83 y 84) en la cabeza y tronco. La elección de los puntos homólogos se basó en que fueran identificables a lo largo de toda la ontogenia, desde embriones libres recién eclosionados a adultos. La morfología fue estudiada con análisis de morfometría geométrica (AMG), en todos los individuos.

Inducción de plasticidad en Juveniles silvestres de O. hatcheri y P. trucha

A fin de comparar entre especies en qué medida la plasticidad fenotípica cefálica, puede ser inducida por la alimentación consideramos individuos juveniles silvestres e individuos sometidos a distintos tipos de alimento. Se digitalizaron los mismos 9 puntos homólogos que en el aparatado anterior, en todas las imágenes (N= 255, *O. hatcheri* n=84 y *P. trucha* n=171). Se estudió la variación de forma mediante AMG y se realizaron pruebas de homogeneidad de variancia.

Resultados

Comparación inter-específica

El primer RW explicó el 65,54% de la variación de forma. A la izquierda, se sitúan los individuos de *O. hatcheri* y a la derecha los individuos de *P. trucha* (Fig. 85). Las grillas de deformación (Fig. 86) muestran individuos con cabeza pequeña, ojo pequeño en posición anterior, dentario corto, cuerpo largo y el punto anterior de inserción de la aleta dorsal atrasado dentro de la nube de *O. hatcheri* e individuos con cabeza grande, ojo levemente grande, dentario largo, cuerpo alto y corto y el punto anterior de inserción de la aleta dorsal adelantado en la nube de puntos que representa a los individuos de *P. trucha* (Fig. 87 y 88).

El test de Levene, usando como co-variable la longitud estándar (LE), rechazó la igualdad de varianzas entre especies para los tres primeros RWs (Levene RW1 $F=5,249$; $N= 749$, $P\leq 0,02$; Levene RW2 $F=56,066$; $N= 749$, $P\leq 0,01$; Levene RW3 $F=35,538$; $N= 749$, $P\leq 0,01$). Las varianzas son siempre mayores en *O. hatcheri*, principalmente en el primer RW1 (Tabla 20).

La separación de las especies se observa principalmente sobre el RW1 (Fig. 89). Recorriendo el RW2 se observa las formas relacionadas con los distintos estadios del desarrollo (Fig. 89). Es interesante notar que las nubes de los embriones libres recién eclosionados se encuentran solapadas. Al graficar los dos primeros RWs con el LE podemos observar que el RW1 muestra en ambas especies y a lo largo de la ontogenia una clara disminución de la variación, desde embriones libres recién eclosionados, larvas y juveniles, a adultos (Fig. 90). Al graficar el RW2 con la LE se observa cómo en ambas especies, la morfología externa varía a lo largo de la ontogenia (Fig. 91).

Inducción de plasticidad en juveniles silvestres de O. hatcheri y P. trucha

Al comparar los juveniles de ambas especies sometidos a tratamiento el RW1 explica el 90,41% de la variación de forma encontrada (Fig. 92). Las grillas de deformación muestran individuos con cabeza pequeña, cuerpo angosto y largo y el punto anterior de inserción de la aleta dorsal retrasado, en el extremo donde se sitúa la nube de individuos de *O. hatcheri* e individuos con cabeza grande, ojo grande, dentario largo, cuerpo alto y corto y el punto anterior de inserción de la aleta dorsal adelantado en el extremo donde se sitúa la nube de puntos de individuos de *P. trucha*.

La prueba de Levene entre especies usando como covariable la LE rechazó la igualdad de varianzas para los dos primeros RWs, (Levene RW1 $F=2,933$; $N= 255$, $P\leq 0,08$; Levene RW2 $F=13,779$; $N= 255$, $P\leq 0,01$). La varianza del RW1 mostró un valor mayor en *O. hatcheri* (Tabla 21).

Al graficar los dos primeros RWs se observa que en el primero separa las especies (Fig. 93). El gráfico según alimento consumido, muestra que dentro de cada especie las nubes de puntos quedan solapadas, principalmente en *P. trucha*. En *O. hatcheri*, a lo largo del RW2 (Fig. 94), se puede distinguir separación por el tipo de alimento consumido, con la mayoría de los individuos alimentados con zooplancton alejados del resto. El RW1, en relación con la LE, nos muestra dos nubes de puntos claramente distinguibles. Éstas se corresponden con la especie, sin observarse variación morfológica relacionada con la talla de los individuos (Fig. 95).

Tabla 18: Descripción de los sitios de procedencia de las distintas poblaciones estudiadas en la comparación morfológica de *O. hatcheri* y *P. trucha*, en los distintos estadios ontogenéticos. Se detalla número de individuos utilizados. Los sitios marcados con * corresponden a ríos, los que no están identificados provienen de ambientes lénticos y dentro de los marcados con + los embalses.

Períodos Ontogenéticos	Procedencia	<i>O. hatcheri</i> <i>n</i>	<i>P. trucha</i> <i>n</i>	
Embriones libres recién eclosionados	Morenito	41	47	
	Carrilafquen Laguna Blanca		54	
Larvas	Morenito		33	
	Laguna Blanca		82	
Juveniles	Carrilafquen	20 (+ Exp.)	55 (+Exp.)	
	Traful *			
	Piedra del Águila +			
	Pichileufu *			
Adultos	Morenito	9	25 (Barriga)	
	Carrilafquen	46		
	Florentino Ameghino +	11		
	Rosario	21		
	Laguna Blanca			15 (Barriga)
	Alicura +			16 (Barriga)

Tabla 19: Definición de puntos homólogos utilizados. Número de identificación de cada uno.

Nº punto	Definición
1	Extremo anterior del dentario
2	Punto posterior del dentario
3	Ano
4	Extremo posterior del hueso supra-occipital
5, 6, 7 y 8	Bordes del ojo (dorso-ventral y postero-anterior)
9	Extremo anterior de inserción de la aleta dorsal

Tabla 20: Descripción de estadísticos analizados, diversidad morfológica entre las especies estudiadas. Se encuentran resaltados en negritas los valores obtenidos para las varianzas de ambas especies. Entre paréntesis se detalla el porcentaje de explicación de la varianza de cada descriptivo de forma RW.

	Descriptivos	<i>O. hatcheri</i>	<i>P. trucha</i>
RW1 (65,54%)	Media	-2,1x10 ¹³	8,1x10 ¹²
	Mediana	-2,3x10 ¹³	8,6x10 ¹²
	Varianza	4,4x10²⁵	2,3x10²⁵
	Desvío estándar	6,6x10 ¹²	4,8x10 ¹²
	Rango	3,6x10 ¹³	3,0x10 ¹³
	Rango intercuartil	3,0x10 ¹²	4,3x10 ¹²
RW2 (18,01%)	Media	-6,8x10 ¹¹	2,6x10 ¹¹
	Mediana	-1,1x10 ¹²	1,3x10 ¹²
	Varianza	5,5x10²⁵	5,4x10²⁵
	Desvío estándar	7,4x10 ¹²	7,4x10 ¹²
	Rango	3,0x10 ¹³	3,6x10 ¹³
	Rango intercuartil	1,1x10 ¹³	1,1x10 ¹³
RW3 (5,54%)	Media	2,2x10 ¹¹	-8,7x10 ¹⁰
	Mediana	-6,3x10 ¹¹	4,3x10 ¹¹
	Varianza	2,5x10²⁵	1,3x10²⁵
	Desvío estándar	5,0x10 ¹²	3,7x10 ¹²
	Rango	2,4x10 ¹³	2,2x10 ¹³
	Rango intercuartil	7,0x10 ¹²	3,8x10 ¹²

Tabla 21: Descripción estadísticos analizados, magnitud de la plasticidad morfológica entre ambas especies. Se encunetran resaltados en negritas los valores obtenidos para las varianzas de ambas especies. Entre paréntesis se detalla el porcentaje de explicación de la varianza de cada descriptivo de forma RW.

	Descriptivos	<i>O. hatcheri</i>	<i>P. trucha</i>
RW1 (90,41%)	Media	-2,2x10 ¹³	1,1x10 ¹³
	Mediana	-2,2x10 ¹³	1,1x10 ¹³
	Varianza	6,8x10²⁴	4,4x10²⁴
	Desvío estándar	2,6x10 ¹²	2,1x10 ¹²
	Rango	1,5x10 ¹³	1,8x10 ¹³
	Rango intercuartil	2,3x10 ¹²	2,5x10 ¹²
RW2 (3,2%)	Media	7,8x10 ⁹	-3,9x10 ⁻⁹
	Mediana	-8,9x10 ¹¹	-3,2x10 ¹¹
	Varianza	1,7x10²⁵	5,2x10²⁴
	Desvío estándar	4,1x10 ¹²	2,3x10 ¹²
	Rango	1,8x10 ¹³	1,3x10 ¹³
	Rango intercuartil	3,0x10 ¹²	3,0x10 ¹²



Figura 83: Ejemplar de *O. hatcheri*, capturado en el lago Carrilafquen, se muestran los puntos homólogos utilizados para el análisis. Definición de cada uno en la tabla 19. Barra corresponde a 2 cm.



Figura 84: Ejemplar de *P. trucha*, capturado en el lago Morenito, se muestran los puntos homólogos utilizados para el análisis. Definición de cada uno en la tabla 19. Barra corresponde a 2 cm.

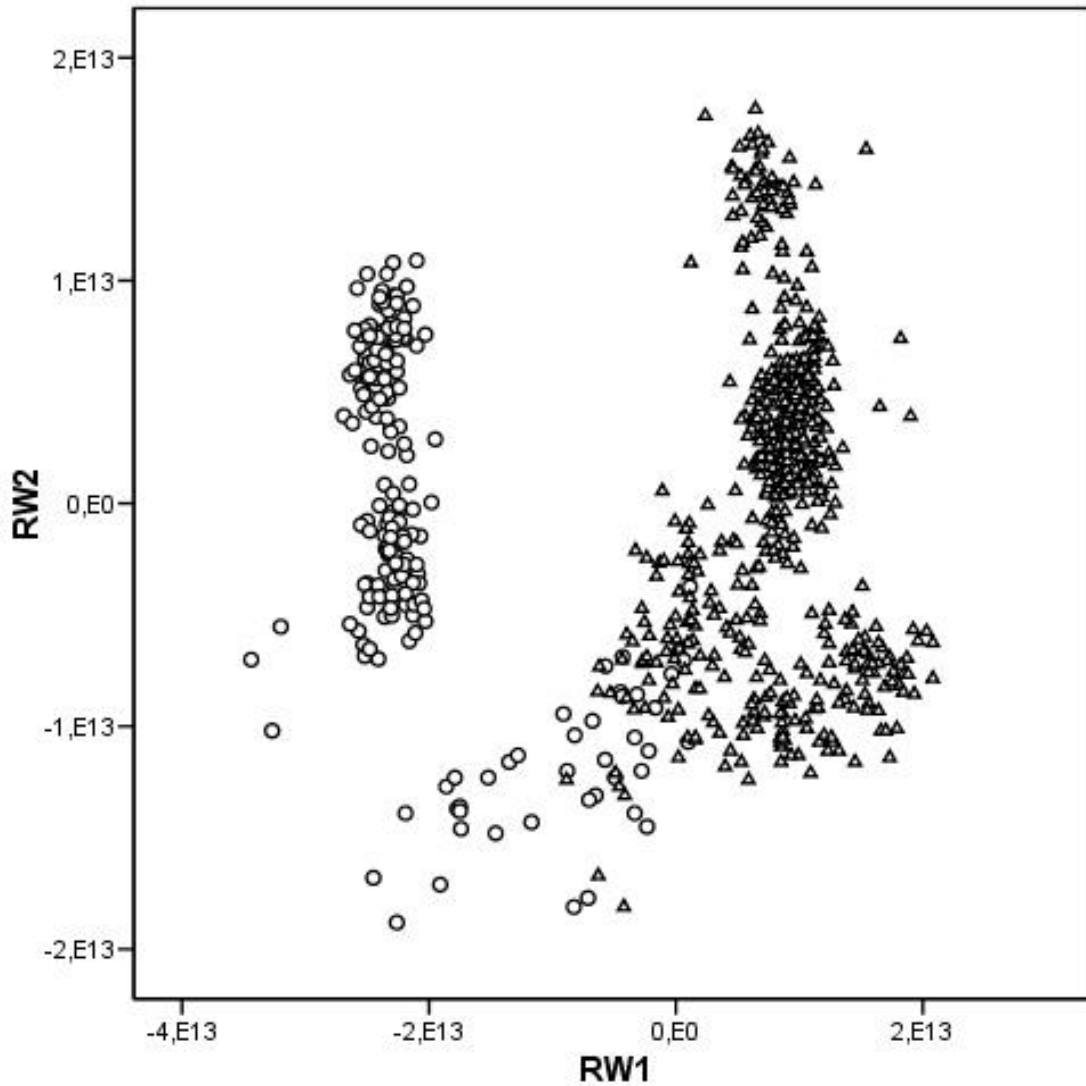


Figura 85: Comparación entre especies de los primeros descriptivos de forma extraídos del análisis de morfometría geométrica. En círculos, individuos de *O. hatcheri*. En triángulos, individuos de *P. trucha*.

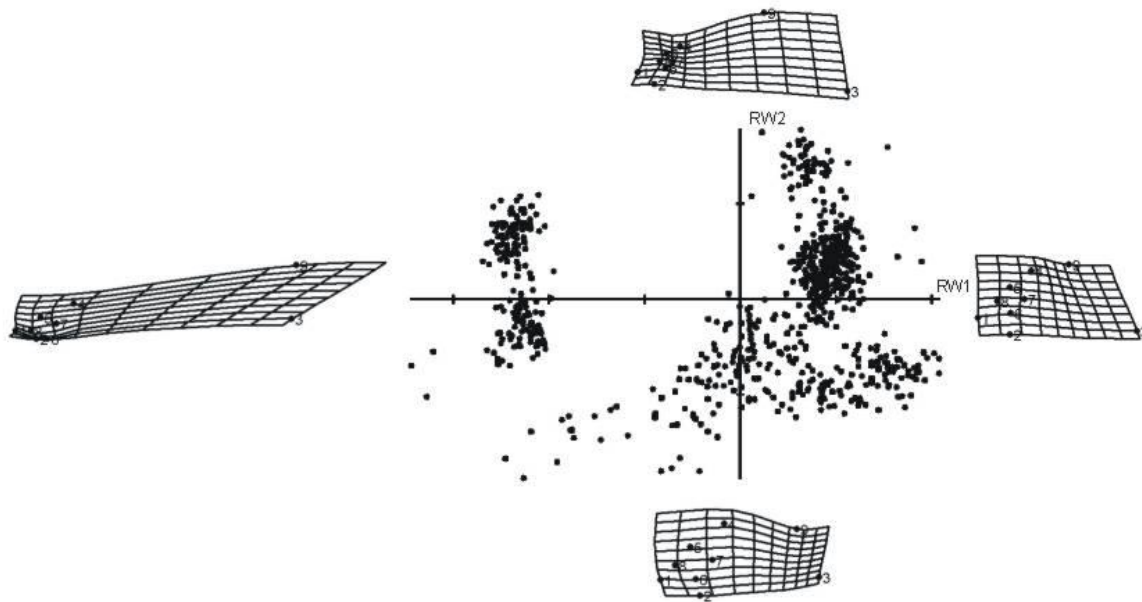


Figura 86: Primeros descriptivos de la forma en la comparación entre especies, sobre el eje de las x se encuentran a la derecha de la distribución los individuos pertenecientes a *O. hatcheri* y en la izquierda se encuentran los individuos pertenecientes a *P. trucha*. En los extremos se muestran las grillas de deformación correspondientes.

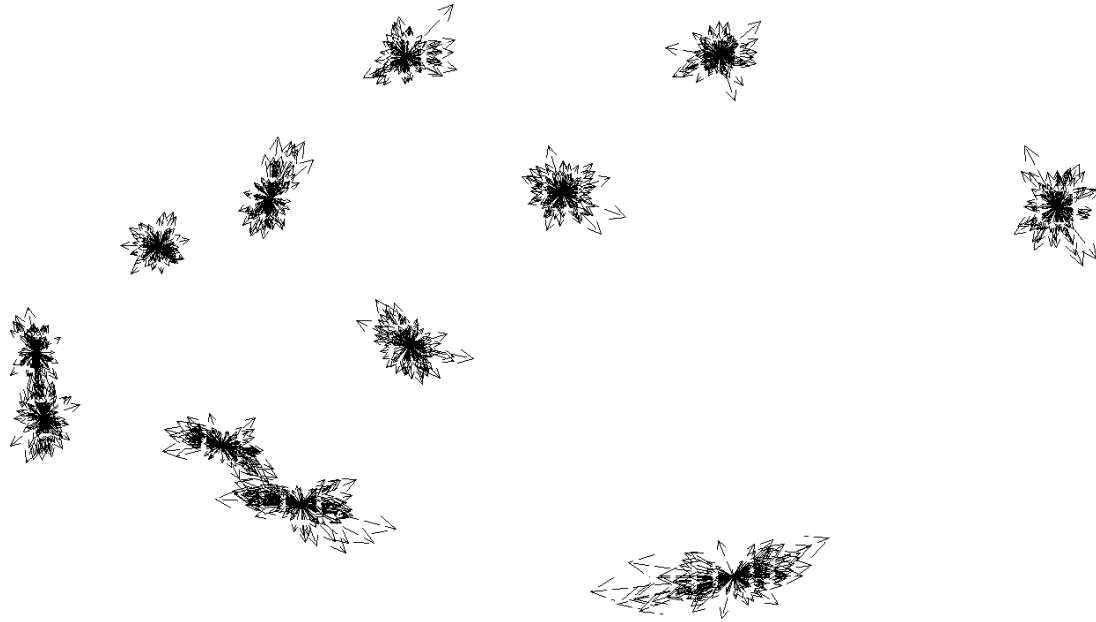


Figura 87: Imagen consenso para *O. hatcheri*, extraída del programa de análisis de morfometría geométrica, se muestran los vectores de dispersión para todos los individuos.

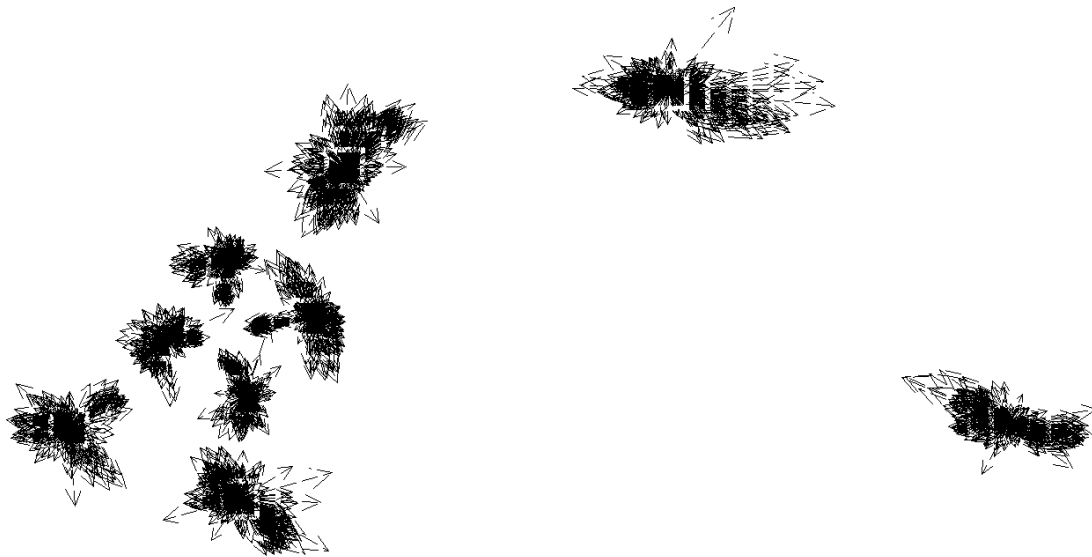


Figura 88: Imagen consenso para *P. trucha*, extraída del programa de análisis de morfometría geométrica se muestran los vectores de dispersión para todos los individuos

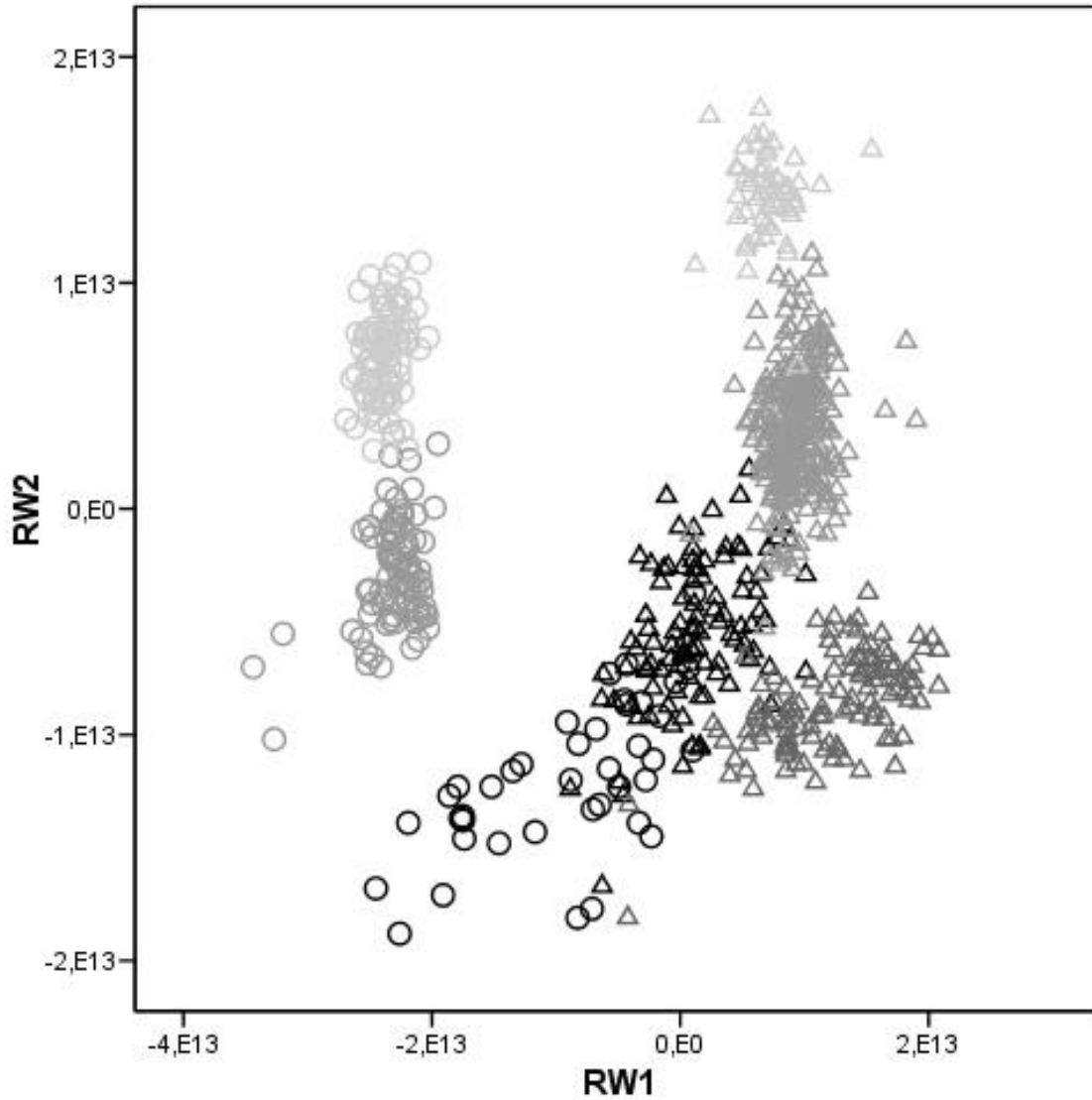


Figura 89: Comparación de la trayectoria de forma a lo largo de la ontogenia. La escala de grises es temporal (embrión libre (negro), larva (gris oscuro), juvenil (gris claro) y adulto (gris muy claro). En *O. hatcheri* no hay larvas. En círculos, individuos de *O. hatcheri*. En triángulos, individuos de *P. trucha*.

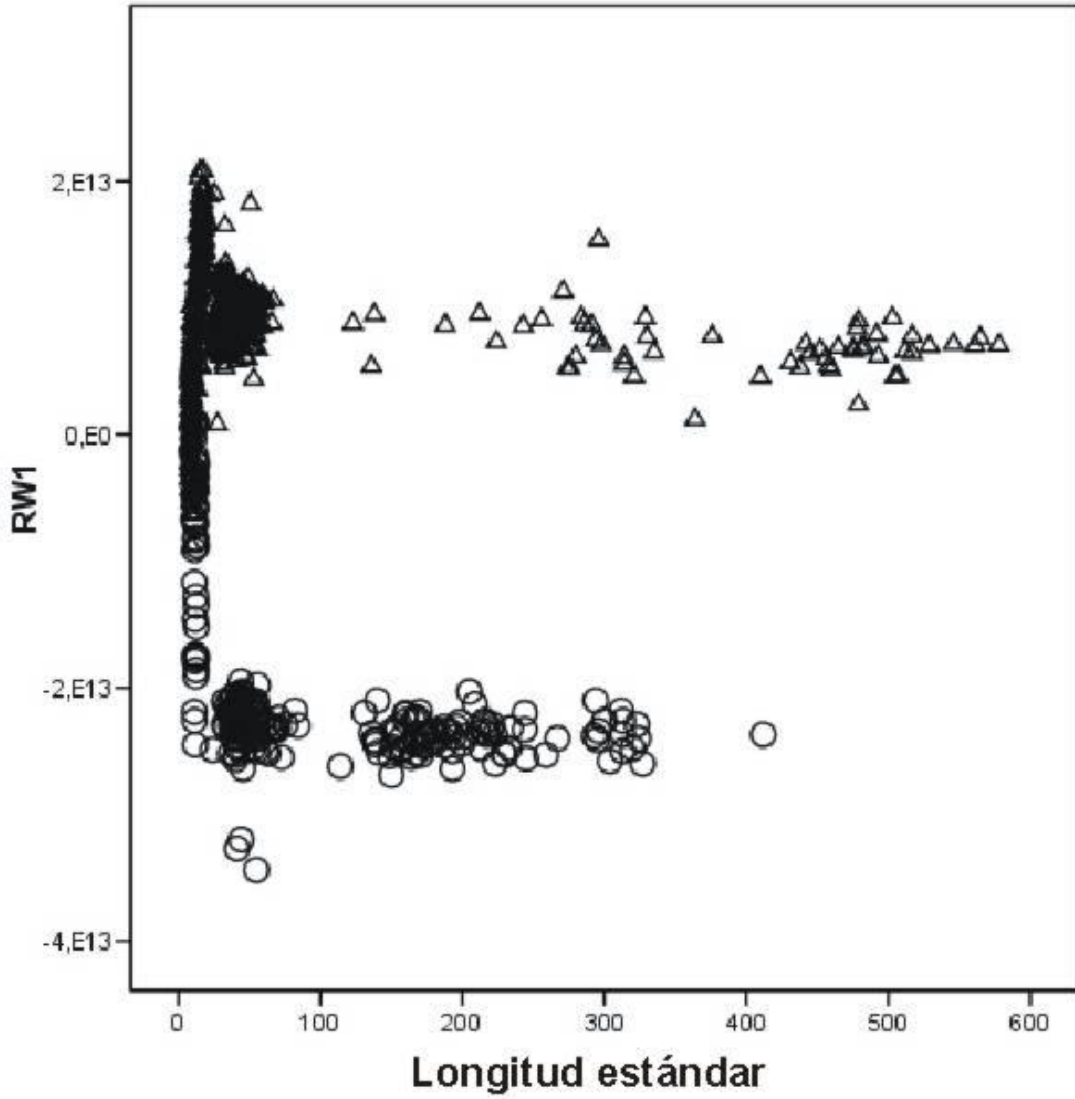


Figura 90: Primer descriptivo de la forma entre las especies estudiadas y la longitud estándar. En círculos, individuos de *O. hatcheri*. En triángulos, individuos de *P. trucha*.

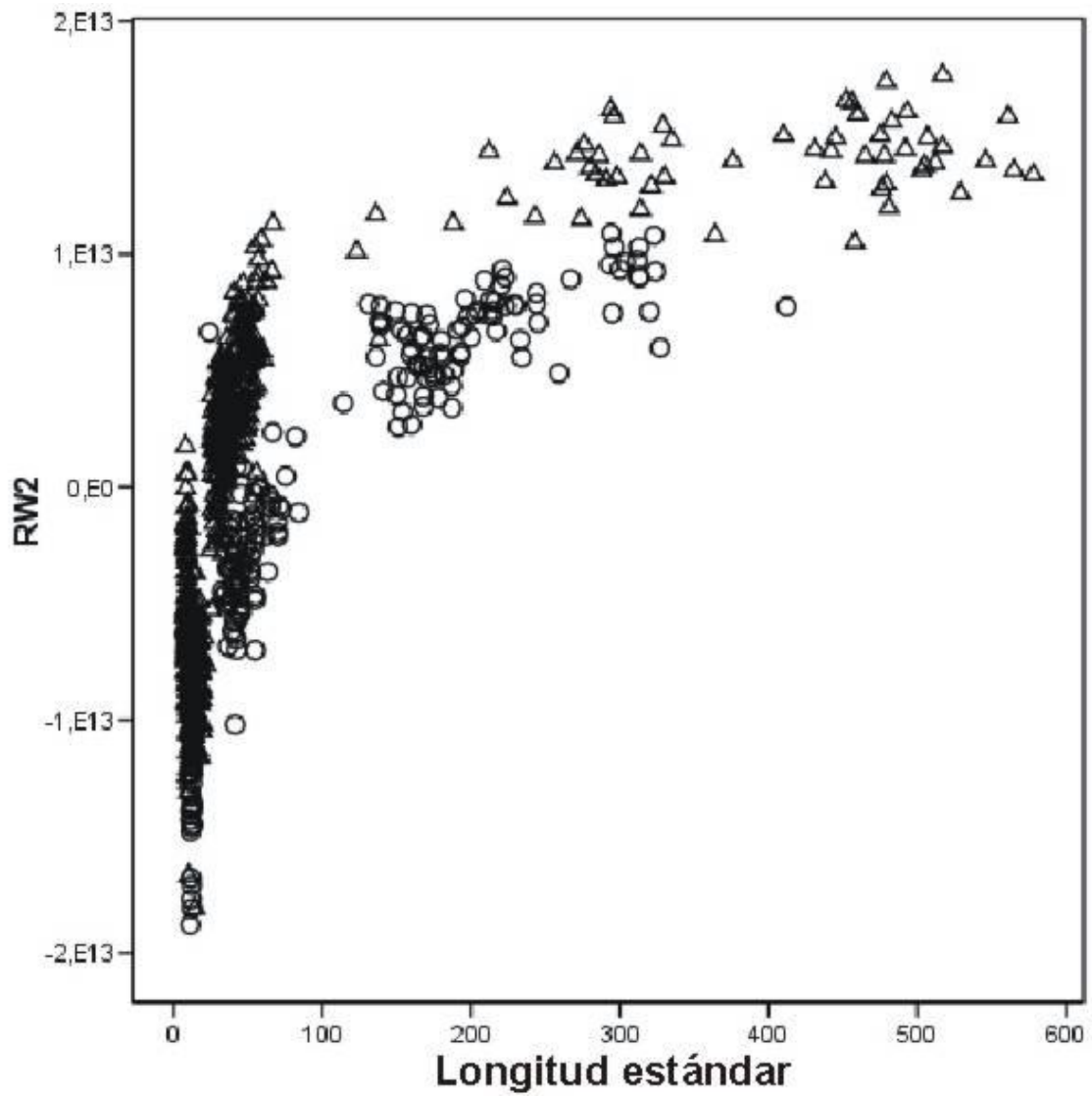


Figura 91: Segundo descriptivo de la forma en ambas especies estudiadas a lo largo de la ontogenia con la longitud estándar. En círculos, individuos de *O. hatcheri*. En triángulos, individuos de *P. trucha*.

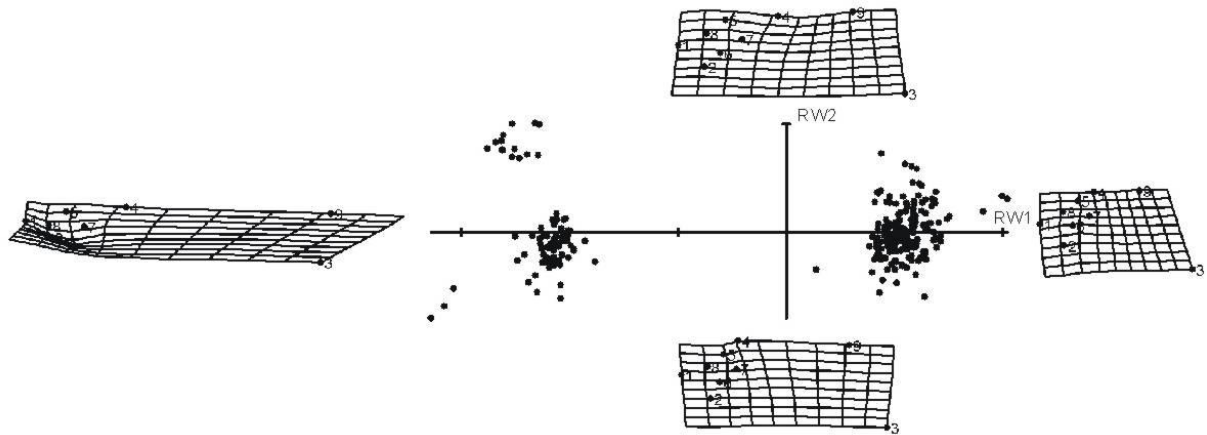


Figura 92: Primeros descriptivos de la forma en la comparación de inducción de la plasticidad en juveniles silvestres de ambas especies, sobre el eje de las x se encuentran a la derecha de la distribución los individuos pertenecientes a *O. hatcheri* y en la izquierda se encuentran los individuos pertenecientes a *P. trucha*. En los extremos se muestran las grillas de deformación correspondientes.

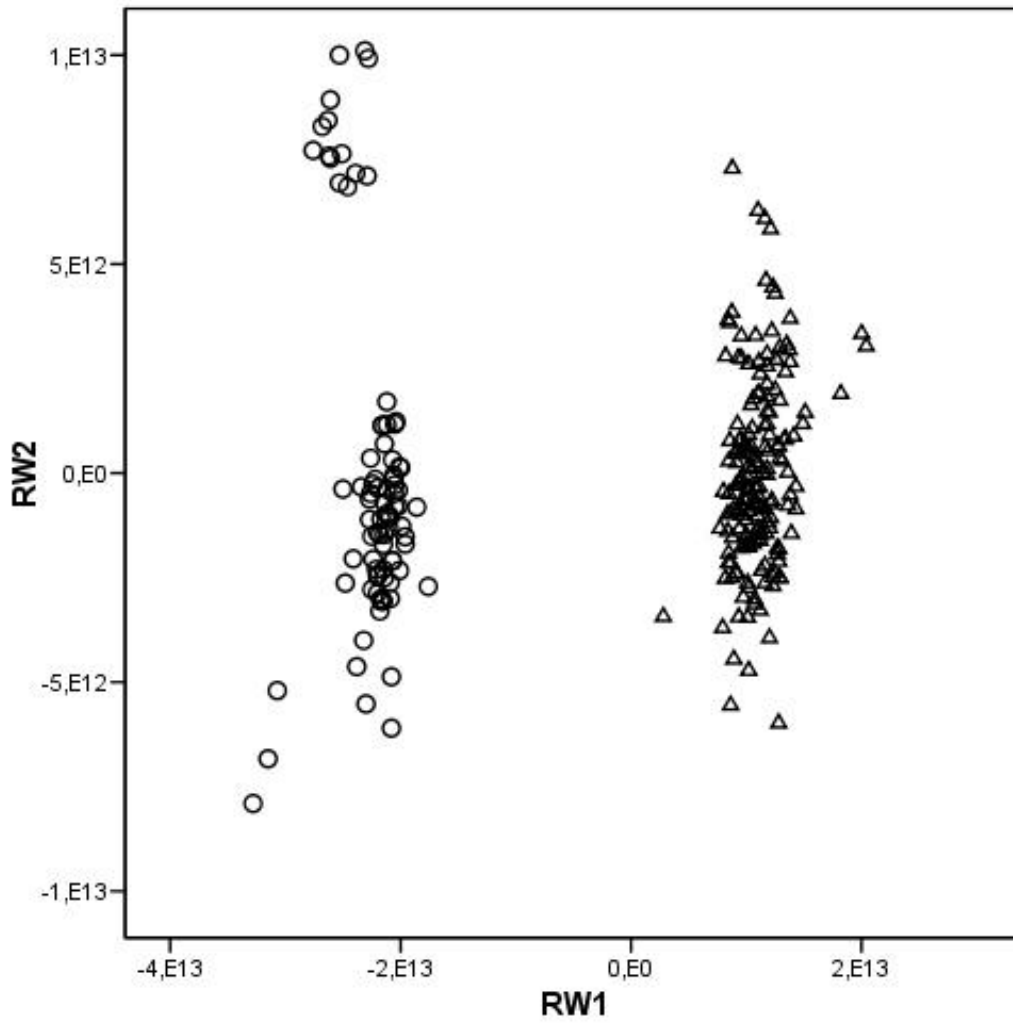


Figura 93: Comparación entre los primeros descriptivos de la forma en el análisis de inducción de plasticidad. En triángulos, individuos de *P. trucha*. En círculos, individuos de *O. hatcheri*.

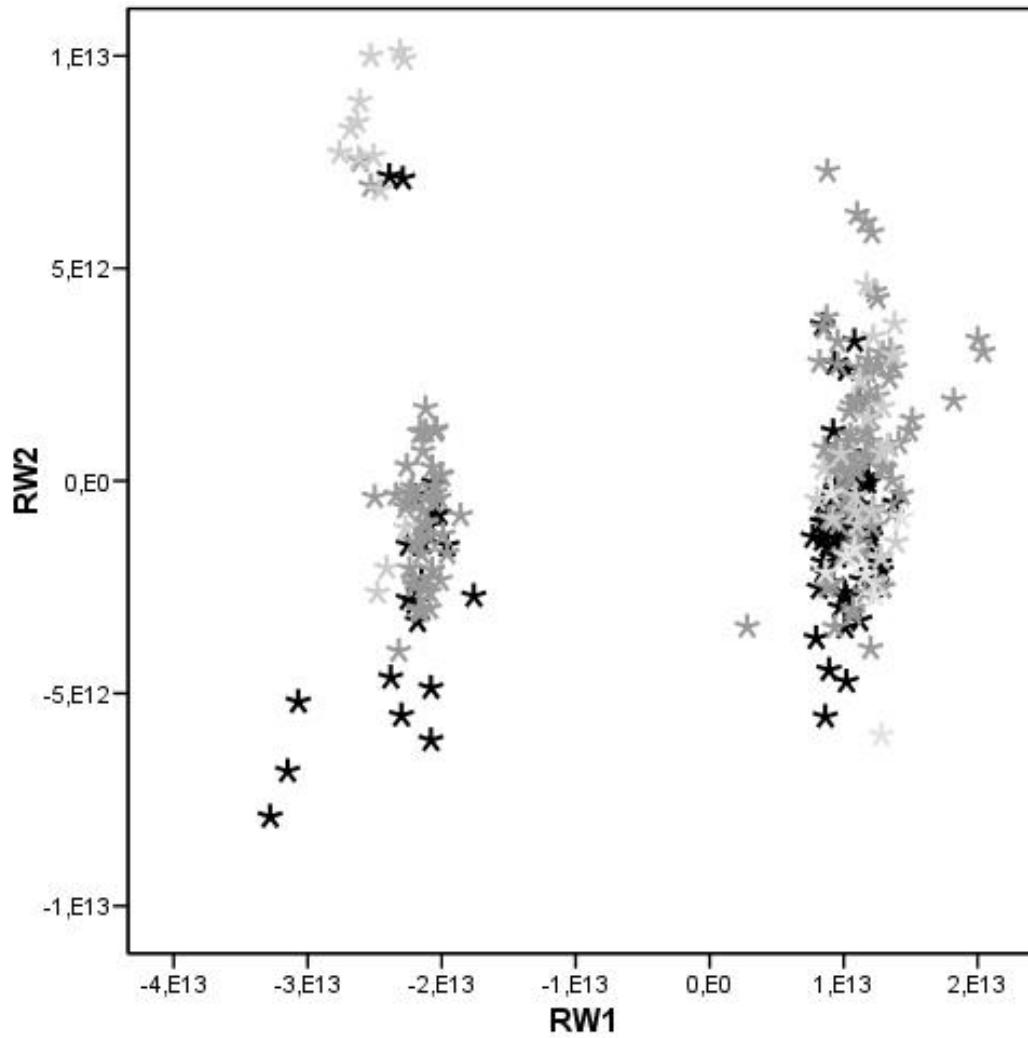


Figura 94: Comparación entre los primeros descriptivos de la forma en análisis de inducción de plasticidad. En el lado izquierdo del RW1, individuos de *O. hatcheri* y en el lado derecho individuos de *P. trucha*. En estrellas negras, individuos recién capturados. En estrellas grises oscuras, individuos alimentados con *Tubifex*. En estrellas grises claras, individuos alimentados con zooplancton. En gris muy claro, individuos alimentados con alimento balanceado (solo hay individuos pertenecientes a *P. trucha*).

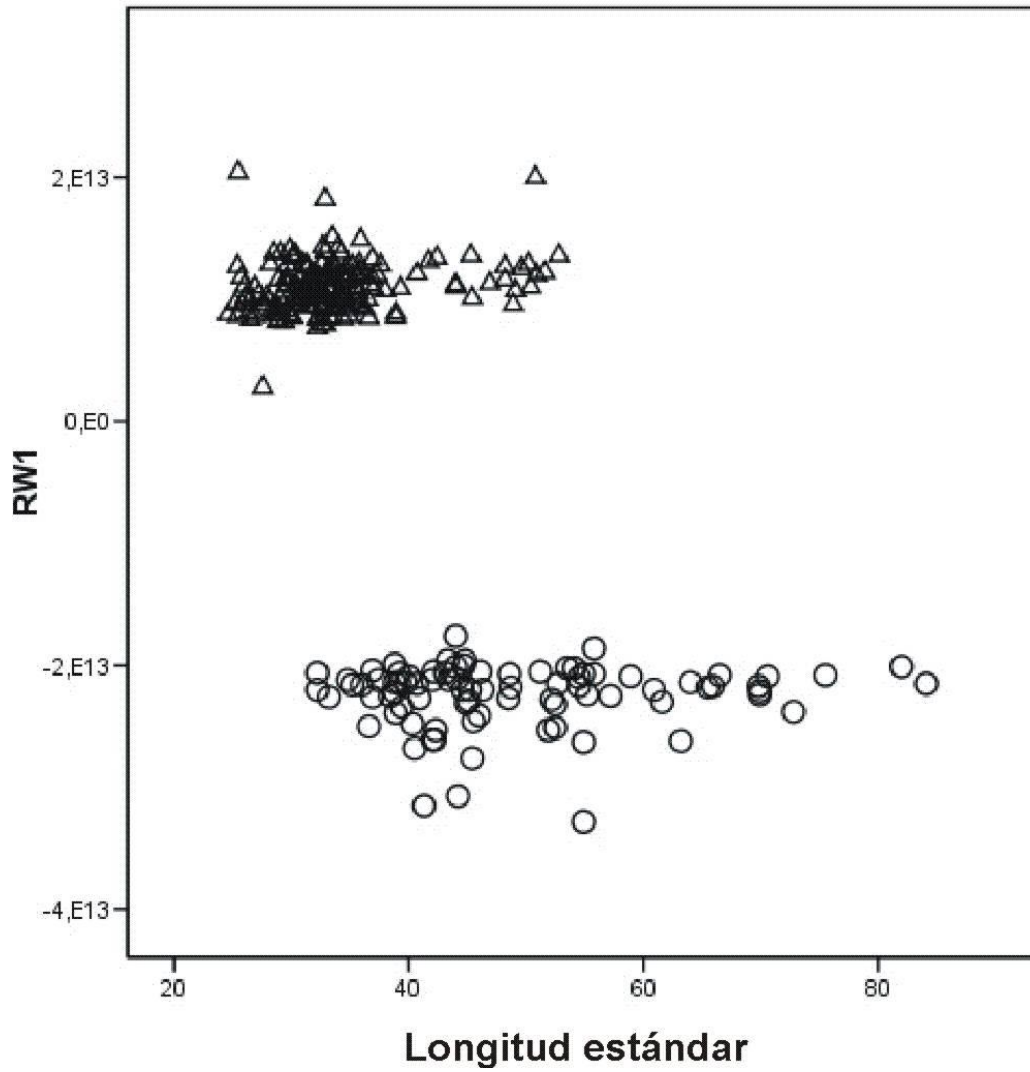


Figura 95: Descripción de la forma en relación con la longitud estándar. En triángulos, individuos de *P. trucha*. En círculos, individuos de *O. hatcheri*.

DISCUSIÒN



Discusión

Desarrollo embrionario

En ambas especies se encontró que las características generales del desarrollo no mostraron apreciables diferencias entre las temperaturas estudiadas y que las estructuras y su secuencia de aparición fueron similares a lo observado en otros teleósteos (Kunz 2004). Puede notarse que el desarrollo a bajas temperaturas implica un tiempo ligeramente mayor que la proporcionalidad esperada a partir de las unidades térmicas acumuladas (UTA). Particularmente, esto se ve en el diferente grado de desarrollo alcanzado con distinta temperatura de incubación e igual cantidad de UTA. Que el tiempo requerido para eclosionar aumenta más allá de la proporcionalidad tiempo/temperatura cuando las temperaturas de incubación disminuyen, ha sido también observado en otras especies (Falk-Petersen *et al.* 1999).

Morfología en la ontogenia temprana

Las variaciones morfológicas encontradas en embriones libres recién eclosionados de *O. hatcheri* están relacionadas con la curvatura del embrión sobre el saco vitelino. Esto apoya el concepto de eclosión como un evento más del desarrollo embrionario y no como la finalización del mismo (Balon 1990; Yamagami 1988). Pudo observarse que los embriones incubados a mayor temperatura eclosionan más curvados. Esto podría estar relacionado con el consumo diferencial de vitelo en relación con la temperatura de incubación documentado por Sund & Falk-Petersen (2005) en el perciforme *Anarhichas minor*, ocurriendo mayor consumo a menores temperaturas. Las variaciones del ángulo formado entre cabeza y tronco durante el desarrollo fueron estudiadas y descriptas por Kimmel *et al.* (1995) en el

pez cebra. En la vista dorsal de *O. hatcheri* se observa que los embriones eclosionados el 1^{er} día (DE=1) poseen saco vitelino más grande que los individuos eclosionados en días posteriores. Además, los datos (comparación TPDDF, Tabla 2) sugieren que los embriones de *O. hatcheri* incubados a mayores temperaturas poseen mayor ángulo cabeza-tronco al eclosionar. Probablemente, el tamaño del saco vitelino y la flexión del embrión después de la eclosión serán factores importantes que operen en el comienzo de la alimentación exógena (Battini *et al.* 1995). Asimismo, Sund & Falk-Petersen (2005) observaron que las larvas incubadas a bajas temperaturas eclosionan con mayor talla. Esto también fue observado por Peterson *et al.* (2004) en el gadiforme *Gadus morhua*. En *O. hatcheri* no se encontraron diferencias entre las tallas en el momento de la eclosión de los embriones incubados a distinta temperatura y no se encontró relación entre la curvatura del embrión y la talla al momento de eclosión. Al analizar embriones provenientes de una misma pareja con distintos momentos de eclosión, se observa que las tallas de los individuos eclosionados el primer y segundo día son similares pero las tallas de los individuos eclosionados el tercer día son menores. Es importante resaltar que la temperatura del agua juega un papel muy importante en *Odontesthes*, ya que dirige el proceso de diferenciación sexual en el pejerrey *O. bonariensis* y afecta la condición de las larvas y su tasa de crecimiento (Strüssmann & Patiño 1995; Ito *et al.* 2005; Chalde *et a.* 2011).

La morfología de los embriones libres recién eclosionados de *P. trucha* estuvo relacionada con las temperaturas de incubación. Además, se observó que la morfología, se relaciona con la curvatura del embrión sobre el saco vitelino. Los individuos incubados a mayores temperaturas se mostraron curvados sobre el saco vitelino y no se encontró diferencia de tallas al momento de la eclosión. El desarrollo embrionario de *P. trucha* fue

consistente con los resultados obtenidos por Fuster de Plaza & Plaza (1955). *Percichthys trucha* consumió primero el vitelo y posteriormente la gota oleosa. Similares usos diferenciales del saco vitelino, han sido documentados en otras especies de perciformes; *Morone saxatilis* (Eldridge *et al.* 1982) y *Dicentrarchus labrax* (Rønnestad *et al.* 1998) y en muchas otras especies de peces (Kamler 2008). La primera alimentación ocurrió entre el 2^{do} y 4^{to} día después de la eclosión (DE). Sin embargo, el saco vitelino se terminó de reabsorber luego de pasado el 4^{to} DE y la gota oleosa lo hizo a el 6^{to} DE. Un similar período de alimentación mixta ha sido observado en el gadiforme *Theragra chalcogramma* (Hamai *et al.* 1974), mientras que en el salmónido *Salmo trutta* la alimentación externa retrasa la absorción del vitelo (Raciborski 1987). En otras especies el acceso al alimento externo acelera la absorción del vitelo o no produce efectos (Hemming & Buddington 1988; Kamler 2008).

La forma cefálica en individuos de *P. trucha* con 15 DE se relacionó con la longitud del maxilar y del dentario y con el diámetro del ojo. En ejemplares de 30 DE el diámetro antero-posterior del ojo mostró relación con la longitud del maxilar y del dentario. En todos los momentos del desarrollo analizados (1, 15 y 30 DE) se observó significativa dependencia de la forma con las parejas parentales y con las temperaturas de incubación. Existe en embriones libres recién eclosionados una relación positiva entre la masa de vitelo y el diámetro antero-posterior del ojo y éste se relacionó posteriormente con la forma cefálica en las larvas de 15 DE y con la longitud del maxilar y del dentario en larvas de 30 DE. Esto concuerda con las observaciones hechas en larvas de muchas especies de peces (Sánchez-Velasco 1998; Tonkin *et al.* 2006) sugiriendo que, si la alimentación está limitada por el tamaño de la boca, entonces maximizar el crecimiento de las mandíbulas mejoraría la

condición de competencia por el alimento en las larvas. Balon (2004) postula que una mayor acumulación de vitelo durante la vitelogénesis es responsable de sacos vitelinos más grandes y que esto, mediado por el ambiente a través de vías hormonales, resulta en la especialización de algunos individuos. Así el acceso a presas más nutritivas por parte de la madre podría entonces mejorar la vitelogénesis y producir una progenie precoz.

En *P. trucha*, se encontró que el porcentaje de variación ($100 \cdot \text{rango} \cdot \text{media}^{-1}$) del diámetro del vitelo osciló entre 19,0 y 44,3 % en embriones libres hermanos recién eclosionados incubados a la misma temperatura. Esta variación aumentó considerablemente al observar todas las parejas y temperaturas de incubación reunidas, alcanzando un 89,2%. Por su parte, en *O. hatcheri* se encontró una variación del 54% en el tamaño del saco vitelino en individuos hermanos incubados la misma temperatura, producto esperable de la heterogeneidad tanto del proceso de formación y empaquetamiento de vitelo como del posterior proceso de desarrollo embrionario (Kunz 2004). Se ha visto que la variación en el tamaño de los huevos en poblaciones de peces es constante en una amplia gama de especies y que puede verse significativamente modulada por el ambiente, durante el proceso de ovogénesis. Así, una fracción de la variación en el tamaño de las larvas, juveniles y adultos puede resultar de la propagación de las diferencias de tamaño inicial entre los individuos a través del crecimiento (Chambers & Leggette 1996).

La relación entre la cantidad de vitelo y las variaciones morfológicas de la cabeza y boca de *P. trucha* parecen mostrar una posible vía de conexión entre la fisiología reproductiva materna y la morfología larval. Sin embargo, ¿es la variación en la cantidad de vitelo entre hermanos una de las principales causas de diferencias de forma en cabeza y boca? En larvas hermanas de *P. trucha*, eclosionadas en el mismo momento y alimentadas

de la misma manera, se encontró que el 30% comenzó a alimentarse el 2^{do} DE y el 70% restante al día siguiente. Además, la morfología larval se diferencia entre individuos alimentados por primera vez el 1^{er} y 2^{do} DE e individuos alimentados por primera vez el 3^{er} y 4^{to} DE. En consecuencia, el período de alimentación mixta (Balon 1990) difiere entre los individuos y esto podría ser otra fuente de variación operando en el umbral entre los períodos embrionario y larval (Balon 1990). Los individuos que comienzan antes la alimentación exógena tendrán mayor tiempo de alimentación mixta (endógena y exógena), obteniéndose un individuo más grande y más desarrollado que los que solo se alimentaron endógenamente o comenzaron más tarde su alimentación exógena. Dentro de una misma camada y en un mismo ambiente, los individuos con mayor período de alimentación mixta se verían favorecidos (Balon 1990, 1999, 2004).

Canalización del fenotipo

El crecimiento compensatorio, definido como la tendencia de la trayectoria del crecimiento a converger en un rango reducido de fenotipos, es un importante mecanismo de canalización que ocurre comúnmente en peces, aves y mamíferos, amortiguando los efectos genéticos y ambientales sobre el fenotipo adulto (Wilson & Réale 2006). La convergencia fenotípica requiere una disminución de la varianza, de tal manera que el crecimiento compensatorio puede ser inferido a partir de la reducción de los componentes de la varianza a lo largo de la ontogenia. En *P. trucha*, se observa que el porcentaje de variación de la longitud de la mandíbula superior disminuye desde 78% en larvas de 15 DE provenientes de dos lagos (de 15 a 49% dentro de cada pareja y temperatura de incubación), 85% en larvas de 30 DE provenientes de dos lagos (de 21 a 57 % dentro de cada pareja y temperatura de incubación), 24% en juveniles provenientes de tres lagos (Ruzzante *et al.*

2003), hasta un 13% en adultos provenientes de seis lagos (Ruzzante *et al.* 1998). A pesar de esta convergencia, se encuentra en adultos un rango de fenotipos lo suficientemente variado como para identificar morfotipos diferentes y con diferente dieta (Ruzzante *et al.* 1998; Logan *et al.* 2000). Así, la variación morfológica de *P. trucha* podría estar relacionada con el tamaño del saco vitelino y el periodo de alimentación exógena, entre otros factores. La magnitud de esta variación estaría sujeta a diferentes grados de desarrollo compensatorio y canalización del fenotipo, resultando en las diferencias morfológicas observadas en las formas adultas de esta especie.

Inducción morfológica en juveniles

Variaciones morfológicas cefálicas y corporales pudieron ser inducidas en juveniles silvestres de *O. hatcheri* y *P. trucha* a través del suministro de distintos tipos de alimento. En *O. hatcheri* se ofreció zooplancton y *Tubifex* sp. y en *P. trucha* se ofreció alimento balaceado, zooplancton y *Tubifex* sp. La morfología de los individuos sometidos a tratamiento, resultó diferente de la morfología de los individuos recién capturados. A su vez, encontramos que la respuesta plástica cambia con el tiempo de tratamiento. En *O. hatcheri* las estructuras que mostraron variación están en relación con la longitud de la cabeza, el tamaño de premaxilar y mandíbula y el tamaño y posición del ojo. Los individuos alimentados con zooplancton y *Tubifex* sp. mostraron una cabeza más larga. En *P. trucha*, se encontró que los juveniles tratados mostraron cuerpos más robustos y mandíbulas más largas que los individuos silvestres recién capturados. Los individuos alimentados con *Tubifex* sp. (presas grandes) mostraron mayor longitud de mandíbula y pedúnculo después de 70 días de tratamiento. De la misma manera, Grünbaum *et al.* (2007) encontraron diferentes niveles de plasticidad del desarrollo ontogenético en el salmónido

Salvelinus alpinus. La variación de la forma también ha sido inducida por una dieta controlada en los perciformes *Cichlasoma managuense* (Meyer 1987) y *Lepomis humilis* (Hegrenes 2001) alimentados con nauplii de *Artemia* (crustáceo) o larvas de *Tenebrio* (coleóptero), donde los individuos alimentados con presas grandes (larvas de *Tenebrio*) desarrollaron un cuerpo fusiforme con un hocico angulado después de 8 meses de tratamiento. Los individuos que se alimentaron principalmente de zooplancton tendieron a desarrollar cuerpos más delgados y muchos rastrillos branquiales poco espaciados entre sí que pueden capturar presas pequeñas, mientras que los individuos que se alimentan de presas bentónicas tienden a desarrollar cuerpos más altos y mandíbulas más robustas (Adams *et al.* 2003; Andersson *et al.* 2005; Berner *et al.* 2008). De la misma manera, Andersson *et al.* (2005) señalan que en un hábitat de estructura compleja y rica en macroinvertebrados, los peces desarrollan un cuerpo más robusto y alto con boca en posición baja, en comparación con un hábitat estructuralmente simple, rico en zooplancton. La forma cefálica de *P. trucha* mostró que la mayor parte de la variación se encontró en el tamaño de ojo y de mandíbula superior e inferior. De manera similar, en cíclidos, los cambios están relacionados con el tamaño de la región pre-orbital del cráneo. Esto provoca grandes efectos en la biomecánica de la alimentación y en la ocupación de una gran variedad de nichos a lo largo de un eje eco-morfológico bento-pelágico, lo que sugiere que la región pre-orbital constituye probablemente un módulo especial del desarrollo y la evolución (Cooper *et al.* 2010).

Wintzer & Motta (2005) compararon individuos alimentados con dieta balanceada y con alimento vivo, y encontraron que los individuos que comen presas vivas poseen cráneo fusiforme y piezas mandibulares más largas. Nuestros resultados muestran, en los

individuos tratados de *P. trucha*, un aumento en la longitud del maxilar y del dentario y en *O. hatcheri* un aumento en la longitud cefálica.

Los cambios morfológicos a lo largo del tiempo en animales alimentados exclusivamente con *Tubifex* sp. incluyeron en ambas especies un aumento en la longitud de la cabeza y en *O. hatcheri* también se observó un aumento en el tamaño del ojo. En juveniles de *P. trucha* alimentados con *Tubifex* sp., se observó cambios principalmente en la región anterior cefálica en cuanto al tamaño de las mandíbulas y en los individuos con 150 días de tratamiento se observó un aumento en el alto del pedúnculo caudal en comparación con los recién capturados. El aumento en la altura del pedúnculo caudal podría estar relacionado a la maniobrabilidad necesaria para poder capturar presas. Varios autores observaron que los peces que están adaptados a la natación rápida y captura de presas evasivas tienen cuerpo fusiforme y los de natación lenta pero de movimientos precisos poseen comparativamente pedúnculos caudales más altos (Malmquist *et al.* 1992; Motta *et al.* 1995; Hjelm *et al.* 2000; Hjelm *et al.* 2001; Heermann *et al.* 2007). En el nicho bentónico, donde es necesaria alta maniobrabilidad, un cuerpo más alto sería favorecido. Por el contrario, en el nicho piscívoro, donde la velocidad es necesaria, se favorece un cuerpo fusiforme (Robinson & Wilson 1994; Svanbäck & Eklöv 2002). Los registros de morfotipos de *P. trucha* (Ruzzante *et al.* 1998) muestran solapamiento, siendo las estructuras más variables la longitud de cabeza, maxilar y dentario.

La forma corporal y cefálica de juveniles de *P. trucha* permitió separar juveniles silvestres de distintas localidades. Las estructuras que más variación presentaron en el análisis de la forma corporal fueron longitud de la cabeza, posición del ano y altura del pedúnculo. En la forma cefálica, las estructuras que más variación presentaron fueron la

longitud de cabeza, dentario y tamaño del ojo. Se ha enfatizado que la forma de la cabeza, el tamaño y posición de los ojos y el tamaño premaxilar y mandibular pueden tener consecuencias en el rendimiento de captura y consumo de presas (Carson & Wainwright 2010). Además, los lagos de la Patagonia presentan una gran variedad de hábitats fóticos (Lattuca *et al.* 2007) y se ha comprobado que la abundancia de peces zooplanctófagos, como *O. hatcheri* puede modificar las redes tróficas planctónicas y consecuentemente la transparencia del agua (Reissig *et al.* 2006), generando relaciones causa efecto bidireccionales. A pesar de que un panorama general de la dieta de *O. hatcheri* indica una dieta omnívora, una observación detallada muestra en gran medida cambios en la dieta entre lagos, con la mayor parte de la variación relacionada con el cambio ontogenético (Ferriz 1987; Grosman & Rudzik 1990; Cervellini *et al.* 1993; Macchi *et al.* 1999). Esta sucesión de períodos ontogenéticos más o menos estenófagos, podría imponer requerimientos orofaríngeos particulares.

La morfología de P. trucha

Podemos visualizar la variación morfológica y la plasticidad fenotípica de *P. trucha*, en el marco de la historia del medio ambiente y la evolución de la especie. En la actualidad, *P. trucha* se encuentra distribuida a lo largo de más de 17 grados latitudinales, en lagos, embalses y ríos de la región Andina del sur de Sudamérica (Campos & Gavilán 1996; Baigún & Ferriz 2003; Liotta 2006; Aigo *et al.* 2008; López *et al.* 2008; Cussac *et al.* 2009). La familia *Percichthyidae* parece tener origen en el agua dulce, con una radiación secundaria de los antepasados marinos protopercoideos (Jerry *et al.* 2001). El potencial adaptativo de los peces estuarinos para invadir el agua dulce fue enfatizado por Beheregaray & Sunnucks (2001) y Beheregaray *et al.* (2002) en aterínidos. Del mismo

modo, los percíctidos Australianos han desarrollado una singular, compleja y flexible conducta migratoria y reproductiva, dentro de sus estrategias de historia de vida, para hacer frente a condiciones ambientales muy variables e impredecibles (Roberts *et al.* 2008; Walsh *et al.* 2011; Walsh *et al.* 2012). Probablemente, esto también es una de las causas para el éxito de *Percichthyidae* en las aguas dulces de América del Sur. Así, *Percichthys* superó con éxito una larga historia de cambios ambientales en la Patagonia, tales como el enfriamiento (Cione & Báez 2007; Cione *et al.* 2007), el levantamiento de los Andes, la aridización y las incursiones marinas (Hubert & Renno 2006), las glaciaciones (Ruzzante *et al.* 2006, 2008, 2011), la reciente introducción de salmónidos exóticos (Pascual *et al.* 2007) y el cambio climático (Aigo *et al.* 2008). La temprana variación morfológica y la plasticidad fenotípica observada en *P. trucha* son dos posibles causas de la variación de forma observada para esta especie (Cussac *et al.* 1998; Ruzzante *et al.* 1998, 2003, 2011) y podrían ser un factor importante para explicar su éxito pasado y presente.

Ruzzante *et al.* (2011) establecieron que todas las poblaciones de *Percichthys* en la Patagonia al Este de los Andes pertenecen a la misma especie: *P. trucha*. Los resultados de esta tesis muestran que la variación morfológica temprana, el crecimiento compensatorio y la plasticidad fenotípica podrían explicar una importante fracción de la gran variación morfológica intra-específica encontrada. En consecuencia, una nueva diagnosis de *P. trucha* (incluyendo *P. laevis* y *P. colhuapiensis*) y una nueva clave para las especies (sin tener en cuenta a *P. chilensis*) podría ser propuesta, basada en López Arbarello (2004):

Percichthys trucha (Valenciennes 1833): tipo de localidad del río Negro en General Conesa, Río Negro, Argentina, de acuerdo con López Arbarello (2004).

Diagnosis: *P. trucha* se distingue de *P. melanops* por el borde posterior del maxilar superior, opérculo, subopérculo e interopérculo liso o ligeramente aserrado; la 3^{ra} o 4^{ta} espina dorsal más larga y la siguiente combinación de caracteres: perforación de la arteria hioides o en una ranura superficial posterior del hipohial dorsal, 3 huesos predorsales, una espina supernumeraria en el primer pterigióforo dorsal (rara vez ninguno), 3^{ra} o 4^{ta} espina dorsal más larga, 7 a 9 pterigióforos trisegmentados en la aleta dorsal, aletas pectorales y pélvicas de similar longitud 45 a 75% de la cabeza, 50 a 110% del alto del cuerpo, 14 a 17 radios en la aleta pectoral, 8 a 11 radios en la aleta anal, 45 a 49 radios en la aleta caudal, rama dentífera de la premaxila 1,5 a 2,5 veces en la altura del proceso ascendente.

Distribución: la especie está presente en lagos, embalses y ríos de la región Andina de López *et al.* (2008) y las provincias Chilena y Patagónica de Dyer (2000), fuertemente asociada con la zona litoral vegetada (Buria *et al.* 2007; Aigo *et al.* 2008).

Clave taxonómica para las especies de *Percichthys*

- Borde posterior de la maxila, opérculo, subopérculo e interopérculo aserrado; 4^{ta} o 5^{ta} espina dorsal más larga..... *P. melanops*
- Borde posterior de la maxila, opérculo, subopérculo e interopérculo liso o levemente aserrado; 3^{ta} o 4^{ta} espina dorsal más larga *P. trucha*

Morfología cefálica en Odontesthes adultos

Se han considerado aquí 12 sitios pertenecientes al área de distribución originaria de *O. hatcheri* (Dyer 2000, 2006; Menni 2004). En las localidades del norte (lago Urre-Lauquen, embalses Ullum y Carrizal) solo encontramos *O. bonariensis* y ambas especies fueron capturadas en el lago Pellegrini. Registrándose en esta tesis un cambio en los patrones de distribución geográfica de *O. hatcheri*, restringiendo su distribución hacia el norte y en cuanto a *O. bonariensis* se encontró nuevas localidades, ampliando su distribución hacia la provincia Andino-cuyana y Patagónica (según López *et al.* 2008). De hecho, el área de estudio ha sido sembrada reiteradas veces durante los últimos 50 años (Dyer 2006). Además, se ha documentado que estas especies, son capaces de hibridizar en laboratorio (Strüssmann *et al.* 1997a). Y que *O. hatcheri* desova a fines de primavera y/o principios de verano (Cussac *et al.* 1992) y *O. bonariensis* en primavera y otoño (Ringuelet 1943).

Estas especies muestran un variado grado de determinación del sexo mediado por la temperatura (TSD; Strüssmann *et al.* 1997b), que supuestamente confiere una ventaja adaptativa en la solución de compromiso entre la competencia intra-específica y la diversidad genética (Hattori *et al.* 2007). Individuos de *O. bonariensis* expuestos a 17°C desde la eclosión hasta el final de la metamorfosis se convierten todos en hembras. La proporción de hembras es: 100% a 13–19°C; 95% a 21°C; 81,2% a 23°C; 29,4% a 25°C; 10% a 27°C y 0% a 29°C. En *O. hatcheri*, la proporción de hembras que se ha encontrado es: 88,9 y 89,5% a 13 y 15°C respectivamente, un 50% a temperaturas entre 17 y 23°C y un 30,8% a 25°C (Strüssmann *et al.* 1997b). De la misma forma, los híbridos entre *O. bonariensis* y *O. hatcheri* parecen tener una fuerte interacción entre el genotipo y la

temperatura para la determinación del sexo (Inazawa *et al.* 2009; Strussmann *et al.* 2010; Pérez *et al.* 2012). En las regiones templadas, las temperaturas medias del agua se asemejan a las temperaturas medias de verano (Livingstone & Lotter 1998). Como ya ha sido sugerido por Cussac *et al.* (2009), la temperatura media de verano (www.smn.gov.ar) en las áreas de distribución de ambas especies (Liotta 2006) muestra que *O. bonariensis* está ausente cuando las temperaturas medias de verano son inferiores a 20°C (Tabla 5 y 7 en Capítulo 2). Lo antes expuesto no implica la muerte de los individuos, pero si podría implicar un fuerte sesgo en la proporción de sexos en las poblaciones de *O. bonariensis*. Así, los requerimientos termales coinciden con las temperaturas medias de verano de los embalses Ezequiel Ramos Mexía (39°25'S, 69°00'O), la localidad más austral donde ha sido registrado *O. bonariensis* y Florentino Ameghino, donde ha sido detectado el genoma mitocondrial de dicha especie en individuos morfológicamente identificados como *O. hatcheri* (Aigo *et al.* 2008, Conte-Grand 2012).

Se observó una correlación negativa entre el porcentaje de individuos mal clasificados (asignados por la morfología de manera diferente a la asignación por clave) y el cuadrado de la distancia euclídea a la Estación de Piscicultura Río Limay. Desde este lugar han sido sembrados los diferentes cuerpos de agua Patagónicos (Amalfi 2009). Si, como es de esperar, los cuerpos de agua cercanos a la Estación de Piscicultura Río Limay fueron sembrados en reiteradas oportunidades y con mayor número de peces que las zonas más alejadas, esto sugiere una apreciable introgresión génica, tal como lo predijo Strussmann *et al.* (1997a) y una posible causa para las variaciones morfológicas encontradas en las poblaciones de *O. hatcheri* en la actualidad. Particularmente, la presencia de individuos con caracteres morfológicos intermedios (Conte-Grand 2012) solo

fue registrada en el lago Pellegrini. Allí existe una pesquería artesanal y la fecundación artificial es actualmente y desde hace muchos años una práctica común de los pescadores (Ringuelet 1943). Esto generaría la constante introducción de individuos híbridos al sistema, impidiendo la acción de barreras reproductivas naturales.

Al analizar las variaciones morfológicas intraespecíficas en ambas especies de pejerreyes estudiados en esta tesis, se encontró relación entre la forma cefálica y la talla. Coincidiendo con Dyer (2006), se observa que, dentro del lago Morenito, los pejerreyes de gran talla poseen prognatismo de la mandíbula inferior y una cabeza pequeña. Esto podría estar relacionado con cambios ontogenéticos de alimentación, encontrándose individuos piscívoros con largo total $\geq 350\text{mm}$ (Macchi *et al.* 1999). Contrariamente, los individuos de gran talla del Lago Carrilafquen poseen prognatismo de la mandíbula superior. Cabe señalar que no se han registrado datos de piscivoría en este lago (M. Alonso, comunicación personal).

Todos los análisis morfológicos realizados en este trabajo (inter-específico, intra-específico e intra-poblacional), señalaron que las variaciones morfológicas afectan las mismas estructuras anatómicas. Esta variación morfológica repetida en distintos niveles jerárquicos, ha sido denominada variación anidada (Foster *et al.* 1998). Las causas de las variaciones anidadas pueden ser genéticas o ambientales. Al examinar las causas ambientales, se encontró dependencia entre la forma cefálica, la profundidad media del lago, el contenido de clorofila a y la temperatura media del aire en verano (TMAV). Muchos autores han documentado que las divergencias de la forma del cuerpo están relacionadas con el hábitat, por ejemplo diferencias entre individuos que habitan la zona litoral y los que habitan la zona limnética en lagos templados postglaciares (e.g., Schluter &

McPhail 1992; Robinson & Wilson 1994; Ruzzante *et al.* 1998; Skúlason *et al.* 1999; Riopel *et al.* 2008). Coincidentemente con el hábito limnético de *O. hatcheri*, se encontró dependencia entre la forma cefálica, el contenido de clorofila a del cuerpo de agua y la temperatura del agua, factores que están claramente relacionados con la alimentación planctónica. De la misma manera, Conte-Grand (2012) encontró que la forma del cuerpo en *O. hatcheri* difiere entre poblaciones en el alto del cuerpo, dependiendo del contenido de fósforo total de cada lago. Estos resultados sugieren que la variación anidada está relacionada al recurso trófico pelágico.

Shuter & Post (1990) señalan que los límites en la distribución de peces de agua dulce hacia altas latitudes están regulados por el hambreado invernal y hacen hincapié en la importancia de los lagos grandes y profundos en relación con la oferta de alimentos diversos y abundantes. *O. hatcheri* ocupa casi toda la Región Andina, actualmente desde los 35°04'S en el embalse El Nihuil hasta los 47°18'S en el Lago Pueyrredón (Aigo *et al.* 2008). Esto puede ser pensado como un cambio en la disponibilidad de recursos a lo largo de todo este gradiente latitudinal con una fuerte limitación de recursos en el sur, particularmente en relación al hábito alimentario planctónico.

La variación morfológica poco notable de *O. hatcheri* y su carácter eurífago (Ferriz 1987; Grosman & Rudzik 1990; Bello *et al.* 1991; Macchi 1991, Macchi *et al.* 1999) señalarían la versatilidad de su estructura cefálica. Posiblemente, la protrusión premaxilar y la mordida premaxilar descriptos para los géneros *Cauque*, *Austromenidia*, *Basilichthys* y *Odontesthes*, ambos mecanismos relacionados e interdependientes estén en la base de esta versatilidad (Ossec 1990; De la Hoz & Aldunate 1994; De la Hoz *et al.* 1994). Se encontró en esta tesis variación morfológica para las estructuras que están involucradas en ambos

mecanismos. En general, se distingue a *O. hatcheri* como un pez omnívoro, pero al analizar la bibliografía se encuentra que la dieta cambia entre cuerpos de agua y que las variaciones dentro de cada lago ocurren en relación con cambios ontogenéticos (Férriz 1987; Grosman & Rudzik 1990; Cervellini *et al.* 1993; Macchi *et al.* 1999; Menni 2004). En consecuencia, podemos considerar que la especie muestra una sucesión larva, juvenil, adulto, de períodos ontogenéticos más o menos estenófagos.

La capacidad de los peces para afrontar con éxito una determinada disponibilidad de alimento puede ser entendida en términos de adecuación de la morfología para capturar y procesar presas. En este marco, se puede concluir que la dependencia de la morfología cefálica con la talla observada en *O. hatcheri*, satisface las necesidades de nicho trófico impuestas por la competencia y el riesgo de depredación (Cervellini *et al.* 1993; Macchi *et al.* 1999). De acuerdo con la aparente disminución de las poblaciones de *O. hatcheri* (Macchi *et al.* 2007), probablemente debido al solapamiento de dieta, la exclusión competitiva, y la depredación activa de los salmónidos, a pesar de su exposición previa a *P. trucha* (Macchi *et al.* 2007; Lindegren *et al.* 2012) Así, la introgresión añade una nueva amenaza para esta especie y merece una consideración especial en cuanto a la gestión local de conservación.

Comparación entre O. hatcheri y P. trucha

Los datos bibliográficos para *P. trucha* muestran que esta especie tiene una amplia variación de forma en juveniles y adultos (Cussac *et al.* 1998; Ruzzante *et al.* 1998, 2003, 2006, 2011; Barriga *et al.* 2008) identificándose incluso sobre esta base morfológica distintas especies (López Arbarello 2004). En cambio, no se encontraron registros

bibliográficos de variaciones morfológicas externas en *O. hatcheri*. El único dato corresponde a Dyer (2000), quién señala que en *O. bonariensis* exhibe prognatismo de la mandíbula inferior en ejemplares grandes.

La forma cefálica mostró en ambas especies crecimiento compensatorio a lo largo del desarrollo, canalizando cada especie hacia su patrón de forma característico, donde *O. hatcheri* muestra cabeza fusiforme y larga y piezas bucales cortas y *P. trucha* cabeza corta y alta con piezas bucales largas. Estas características de la forma cefálica de cada especie están relacionadas con el hábito mayormente limnético de *O. hatcheri* y el hábito bentónico de *P. trucha*, ambas especies habitantes de lagos templados postglaciares (e.g., Schluter & McPhail 1992; Robinson & Wilson 1994; Ruzzante *et al.* 1998; Skúlason *et al.* 1999; Riopel *et al.* 2008).

Como era de esperar, la morfología de embriones libres recién eclosionados es parecida entre ambas especies, relacionado esto con las restricciones morfológicas propias de los peces teleósteos (Gilbert 2005). La ontogenia es un complejo fenómeno de desarrollo y diferenciación (Koumoundouros *et al.* 1999). Balon (1999, 2004) plantea que las novedades morfológicas aparecen con la epigénesis. Ésta puede crear nuevos fenotipos agregando, a partir de las interacciones con el ambiente, información al desarrollo de las instrucciones ya programadas por el genotipo. Al comparar la magnitud de la plasticidad morfológica inducida experimentalmente en *O. hatcheri* y *P. trucha* por la alimentación artificial, se encontró que las mayores dispersiones de la variación morfológica ocurrieron en *O. hatcheri*, resultando esta especie más plástica que *P. trucha* frente a la inducción por dieta. No podemos dejar de preguntarnos si esta importante plasticidad se debe a la introgresión génica encontrada en esta especie, pero es interesante notar que los individuos

juveniles sometidos a tratamiento fueron capturados en el lago Carrilafquen, siendo esta población una de las que menor porcentaje de adultos mal clasificados mostró en nuestros análisis morfológicos. Por otra parte, los ejemplares de *O. bonariensis* criados en cautiverio y analizados en la presente tesis mostraron también una importante plasticidad.

Así, en este trabajo se ha documentado la potencialidad que la plasticidad fenotípica ofrece a la variación morfológica en *P. trucha* y en *O. hatcheri*. La plasticidad fenotípica ha resultado altamente explicativa de la variabilidad morfológica observada en adultos silvestres de *P. trucha*. Se ha puesto de manifiesto también que la mayor (*P. trucha*) o menor (*O. hatcheri*) variación morfológica observada en las poblaciones naturales puede no estar mostrando completamente las posibilidades ofrecidas por la plasticidad del fenotipo, sino solamente el producto de los procesos de canalización.

Agradecimientos

La realización de esta Tesis ha sido posible gracias al esfuerzo, trabajo y buena predisposición de muchas personas. Seguro que me olvido de alguien, por eso primero quiero agradecer enfáticamente a los olvidados, ¿Qué agradecimiento no tiene un olvidado?

Quiero agradecer especialmente a mis directores Víctor y Miguel los que me han enseñado, acompañado y soportado a lo largo de todo este proceso. Siempre sentí su gran compromiso y apoyo para realizar esta tesis, brindándome todos sus conocimientos de forma sincera y desinteresada.

Quiero agradecer a los jurados por el esfuerzo y dedicación para corregir esta tesis. Valorando todos los comentarios sugeridos en forma positiva y permitiendo fortalecer este trabajo.

A todos mis compañeros de laboratorio pasados y presentes con los que he salido de muestreo en reiteradas ocasiones, compartiendo buenos momentos, mates y datos, tratando de encontrar algo... Vale, Juan, Juana, Ceciss, Mauro, Leandro y Diego. ! VAMOS POR MÁS DATOS ;

A los chicos de la salmo, quienes me han acompañado en la larga tarea de criar peces, compartiendo sus conocimientos conmigo, y por suerte con mates, asados y mucha amistad. Mabelita, RoRo, Wilfredo y Víctor.

A mi mamá y papá por apoyarme incondicionalmente una y otra vez y enseñarme que jamás hay que renunciar a los sueños. A mis hermanos, Marce por darme siempre fuerza para hacer la diferencia, Nikio por mostrarme el mundo desde otro punto. A mis

hijos por soportar la ausencia de una mamá que juega a criar pececitos, especialmente a Cande quien pasó varios veranos nadando en los circulares de la salmonicultura, haciendo muestreos y clasificación de truchas con Mabe y RoRo. A mi Adrián, por las eternas horas en la salmo sacando huevitos muertos, por todos los retoques de diseño, por las miles de millones de preguntas que se me hacen tan difíciles de contestar y por el amor compartido.

Quiero dedicar esta tesis a los hombres, que desde muy pequeña compartieron conmigo sus pasiones sin darse cuenta que germinaban las mías, mi abuelo Enrique quien me enseñó a mirar tras un lente, plasmando y resaltando la belleza de los seres vivos en el zoológico de Mendoza, mi Papá con quien iba a pescar muy temprano en Las Toninas, cuando apenas salía el sol, compartiendo un chocolate calentito y la alegría del trofeo recién sacado del mar, cortándole la cola a los chuchos así yo podía saltar y correr entre ellos, realizando eternas caminatas junto al mar cuando no había pique. Gracias a estos hombres hoy soy bióloga, y mi pasión son los peces, sean del color que sean.

Bibliografía

- Adams, D.C., Rohlf, F.J. & Slice, D.E. (2004) Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution' *Italian Journal of Zoology* 71:5-16.
- Adams, C.E., Woltering, C., Alexander, G. (2003) Epigenetic regulation of trophic morphology through feeding behaviour in Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 78:43-49.
- Adams, C.E., Fraser, D., Wilson, A.J., Alexander, G., Ferguson, M.M. & Skulason, S. (2007) Patterns of phenotypic and genetic variability show hidden diversity in Scottish Arctic charr. *Ecology of Freshwater Fish* 16:78-86.
- Aigo, J.C. (2010). Interacción entre peces nativos y salmónidos en Patagonia: su vulnerabilidad al cambio climático. Tesis doctoral, Universidad Nacional del Comahue, Argentina.
- Aigo, J.C., Cussac, V.E., Peris, S., Ortubay, S., Gómez, S., López, H., Gross, M., Barriga, J. & Battini, M. (2008). Distribution of introduced and native fish in Patagonia (Argentina): patterns and changes in fish assemblages. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 14:387-408. DOI: 10.1007/s11160-007-9080-8
- Amalfi, M. (2009). Lago Pellegrini características limnológicas. *ProBiota*. Serie documentos N°07. ISSN 1666-731X. La Plata.
- Amalfi, M. (1988). Resultado de la cruce de dos especies de pejerrey en el Lago Pellegrini (Pcia. Río Negro, Argentina). Informe del Centro Hidrobiológico Lago Pellegrini (mimeografiado). Dirección de Pesca de Río Negro, Argentina.

- Andersson, J., Byström, P., Persson, L. & De Roos, A. M. (2005) Plastic resource polymorphism: effects of resource availability on Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) morphology. *Biological Journal of Linnean Society*, 85:341-351.
- Arratia, G. (1982) A review of freshwater percoids from South America. *Abh. Senckenb. Naturforsch. Ges.* 540:1-42.
- Arratia, G., Peñafort, M.B. & Menú-Marque, S. (1983) Peces de la región sudeste de los Andes y sus probables relaciones biogeográficas actuales. *Deserta* 7:48-107.
- Awise, J.C. & Ball, Jr. (1990) RM Principles of genealogical concordance in species concepts and biological taxonomy. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology* 7:45–67.
- Baigún, C. & Ferriz, R. (2003) Distribution patterns of native freshwater fishes in Patagonia, Argentina. *Organisms Diversity & Evolution* 3:151-159.
- Balon, E.K. (1990) Epigenesis of an epigeneticist: the development of some alternative concepts on the early ontogeny and evolution of fishes. *Guelph. Ichthyology Rev.* 1:1-42.
- Balon, E.K. (1999) Alternative ways to become a juvenile or a definitive phenotype (and on some persisting linguistic offenses). *Environmental Biology of Fishes* 56:17-38.
- Balon, E.K. (2004) Evolution by epigenesis: farewell to Darwinism, neo- and otherwise. *Riv. Biol / Biol. Forum* 97:269-312.
- Bamber, R.N. & Henderson, P.A. (1988) Pre-adaptive plasticity in atherinids and the estuarine seat of teleost evolution. *Journal of Fish Biology* 22:06-12.
- Barnabé, G. (1990) Acuaculture. Ellis Horwood Limited, France. 1104pp.

- Barriga, J.P., Walde, S.J., Cussac, V.E, Battini, M.A. & Ruzzante, D.E. (2008) Polimorfismo trófico en percas (*Percichthys trucha*): relación génica entre morfotipos. IV Congreso Argentino de Limnología. Bariloche, Argentina.
- Battini, M.A., Alonso, M.F. & Cussac, V.E. (1995). Growth and nutritional condition of the larvae of *Odontesthes microlepidotus* (Atherinidae): An experimental approach. *Environmental Biology of Fishes* 42:391-399.
- Battini, M.A. (1998) Los estadios tempranos de vida de *Galaxias maculatus* (Osmeriformes, Galaxiidae) y *Odontesthes hatcheri* (Atheriniformes, Atherinopsidae), con especial referencia a su alimentación y crecimiento. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del COMAHUE. 184pp.
- Beheregaray, L. B. & Sunnucks, P. (2001) Fine-scale genetic structure, estuarine colonization and incipient speciation in the marine silverside fish *Odontesthes argentinensis*. *Molecular Ecology* 10:2849-2866.
- Beheregaray, L.B., Sunnucks, P. & Briscoe, D.A. (2002) A rapid fish radiation associated with the last sealevel changes in southern Brazil: the silverside *Odontesthes perugiae* complex. *Proceedings of the Royal Society London, Biological Sciences* 269:65-73.
- Bello, M.T., Bunge, M.M. & Baiz, M. (1991) Alimentación natural del pejerrey (*Patagonina hatcheri*) introducido en la laguna Ñe Luan, Río Negro. *Biología Pesquera* 20:13-19.
- Berner, D., Adams, D.C., Grandchamp, A.C. & Hendry, A.P. (2008) Natural selection drives patterns of lake–stream divergence in stickleback foraging morphology. *Journal of evolutionary biology* 21:1653-1665.

- Bookstein, F.L. (1991) *Morphometric Tools for Landmark Data*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bouton, N., Witte, F. & Van Alphen, J.J.M. (2002) Experimental evidence for adaptive phenotypic plasticity in a rock-dwelling cichlid fish from Lake Victoria. *Biological Journal of the Linnean Society* 77:185-192.
- Buria, L., Walde, S.J., Battini M., Macchi P.J., Alonso M., Ruzzante D.E., & Cussac V.E. (2007) Movement of a South American perch *Percichthys trucha* in a mountain Patagonian lake during spawning and prespawning periods. *Journal of Fish Biology* 70:215-230
- Cabral, H. Catarino, A. I. Figueiredo, J Garcia J & Henriques M (2003) Feeding ecology, age, growth and sexual cycle of the Portuguese sole, *Synaptura lusitanica*. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* 83:613-618.
- Campos, H. & Gavilán, J.F. (1996) Morphological differentiation between *Percichthys trucha* and *Percichthys melanops*, between 36°S and 41°S (Chile and Argentina), with multivariate analysis. *Gayana Zoológica* 60:99-120.
- Carlson, R. L. & P. C. Wainwright. (2010) The ecological morphology of darter fishes (Percidae: Etheostomatinae). *Biological Journal of the Linnean Society* 100:30-45.
- Cervellini, P.M., Battini, M.A. & Cussac, V.E. (1993) Ontogenetic shifts in the diet of *Galaxias maculatus* (Galaxiidae) and *Odontesthes microlepidotus* (Atherinidae). *Environmental Biology of Fishes* 36:283–290.
- Chambers, R.C. & Leggett, W.C. (1996) Maternal influences on variation in egg sizes in temperate marine fishes. *American Zoology* 36:180–196.

- Chalde, T., D.A. Fernández, V.E. Cussac & G.M. Somoza. (2011) The effect of rearing temperature in larval development of pejerrey, *Odontesthes bonariensis*. Morphological indicators of development. *Neotropical Ichthyology* 9:747-756.
- Cione, A.L., Reguero, M.A. & Acosta Hospitaleche, C. (2007) Did the continent and seas have different temperatures in the northern antarctic peninsula during the middle Eocene? *Revista de la Asociación Geológica Argentina* 62 (4):586-596.
- Cione, A.L. & Báez, A.M. (2007) Peces continentales y anfibios cenozoicos de Argentina: los últimos cincuenta años. *Ameghiniana, Publicación Especial* 11:195-220.
- Conte-Grand, C. 2012. El pejerrey patagónico, *Odontesthes hatcheri*: biología y potencialidades para su cultivo. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca. 174p.
- Conte-Grand, C., Crichigno, S.A. & Cussac, V. (2009) Estadios de la vida temprana del Pejerrey Patagónico *Odontesthes hatcheri*. 2º Conferencia Latinoamericana sobre Cultivo de Peces Nativos. Chascomús Argentina, Póster. 140-160.
- Conte-Grand C., Crichigno S.A. & Cussac V. (2008) Estatus taxonómico de los pejerreyes del lago Pellegrini, Río Negro. IV Congreso Argentino de Limnología. San Carlos de Bariloche. Río Negro. Argentina. 90p-7:176.pp
- Cooper, W.J., Parsons, K., McIntyre, A., Kern, B., McGee-Moore, A. (2010) Benthopelagic divergence of Cichlid feeding architecture was prodigious and consistent during multiple adaptive radiations within African Rift-Lakes. *PLoS ONE*, 5(3).
- Cracraft, J. (1989) Speciation and its ontology. The empirical consequences of alternative species concepts for understanding patterns and processes of differentiation. In:

- Speciation and its Consequences* (Eds Otte D, Endler JA), pp. 28–59. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Crespin L. & Berrebi, P. (1999) Asymmetrical introgression in a freshwater fish hybrid zone as revealed by a morphological index of hybridization. *Biological Journal of the Linnean Society* 67:57-72. DOI: 10.1111/j.1095-8312.1999.tb01929.x
- Cussac, V.E., Fernández, D.A., Gómez, S.E., & López, H.L. (2009) Fishes of southern South America: a story driven by temperature. *Fish Physiology and Biochemistry* 35:29–42. DOI 10.1007/s10695-008-9217-2.
- Cussac, V.E., Ruzzante, D., Walde, S., Macchi, P.J., Ojeda, V., Alonso, M.F. & Denegri, M.A. (1998) Body shape variation of three species of Percichthys in relation to their coexistence in the Limay river basin, in Northern Patagonia. *Environmental Biology of Fishes* 53:143-153.
- Cussac, V.E., Cervellini, P.M. & Battini, M.A. (1992) Intralacustrine movements of *Galaxias maculatus* (Galaxiidae) and *Odontesthes microlepidotus* (Atherinidae) during their early life history. *Environmental Biology of Fish* 35:141-148.
- De La Hoz, E.U., Cancino, C.A. & Ojeda, E.C. (1994) Capacidades de modulación y plasticidad funcional de los mecanismos de captura de alimento en Atherinopsinae sudamericanos (Teleostei, Atherinidae). *Investigaciones Marinas*, Valparaíso 22:45-65.
- De la Hoz, E. & Aldunate, R. (1994) El sistema hioídeomandibular de Cheirodon (Ostariophysi, Characidae): una innovación funcional. *Anales del Museo de Historia Natural*, Valparaíso 22:83-90.

- Dyer, B.S. (1998) Phylogenetic systematics and historical biogeography of the neotropical silverside family *Atherinopsidae* (Teleostei: Atheriniformes). Pp 519-536. en L.R. Malabarba, R. E. Reis, P. R. Vari, Z. M. Lucena and C. A. S. Lucena (Eds.), *Phylogeny and classification of neotropical fishes. EDIPUCRS*, Porto Alegre.
- Dyer, B.S. (2000) Systematic review and biogeography of the freshwater fishes of Chile. *Estudios Oceanológicos* 19:77–98.
- Dyer, B.S. (2006) Systematic revision of the South American silversides (Teleostei, Atheriniformes). *Biocell*, 30:69-88.
- Eklöv, P. & Svanbäck, R. (2006) Predation risk influence adaptive morphological variation in fish populations. *American Naturalist* 167:440–452.
- Eldridge, M.B., Whipple, J.A. & Bowers, M.J. (1982) Bioenergetic and growth of striped bass *Morone saxatilis*, embryos and larvae. *Fisheries Bull.* 80:461-474.
- Falk-Petersson, I.B., Hansen, T.K., Fieler, R. & Sunde, L.M. (1999) Cultivation of the spotted wolffish *Anarhinchus minor* (Olafsen) a new candidate for cold-water fish farming. *Aquaculture Research* 30:711-718.
- Ferriz, R.A. (1987) Alimentación del pejerrey patagónico *Patagonina hatcheri* (Eigenmann, 1909) en el embalse Ramos Mexia, Neuquén, Argentina. *Hidrobiología* 6:61-66.
- Foote, C.J. Moore, K. Stenberg, K. Craig, K.J. Wenburg, J.K & Wood, C.C. (1999) Genetic differentiation in gill raker number and length in sympatric anadromous and nonanadromous morphs of sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*. *Environmental biology of fishes* 3:263-274

- Foster, S.A., Scott, R.J. & Cresko, W.A. (1998) Nested biological variation and speciation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 353:207–218.
- Fox, C.W., Czesak, M.E., Mousseau T.A. & Roff, D.A. (1999) The evolutionary genetics of an adaptive maternal effect: Egg size plasticity in a seed beetle. *Evolution* 53(2):552-560.
- Fuiman, L.A., Polling, K.R. & Higgs, D.M. (1998) Quantifying developmental progress for comparative studies of larval fishes. *Copeia* 602-611.
- Fuster de Plaza, M.L. & Plaza, J.C. (1955) Nuevos ensayos para obtener la reproducción artificial de las percas o truchas criollas. *Publicaciones Miscelánea* 407:1-48.
- Galloway TF, Kjørsvik E, Kryvi H (1998) Effect of temperature on viability and axial muscle development in embryos and yolk sac larvae of the Northeast Arctic cod (*Gadus morhua*). *Mar Biol.* 132:559–567
- Gilbert, S.T. (2005) *Biología del desarrollo*. 7º Edición. Editorial Panamericana. Capítulo 23, 829pp.
- Gonzalez Regalado, T. & V. Mastrarrigo, (1954) *Piscicultura*. El Pejerrey. Ministerio de Agricultura y Ganadería (Rep. Arg.) Dirección de Piscicultura y Pesca Interior. *Publicaciones Miscelánea* 268:1-55.
- Gosztonyi, A.E. (1988) Peces del río Chubut, Argentina. *Physis*, Secc. B, 46:41–50.
- Grosman, F. & Rudzik, G. (1990) Análisis de la dieta del pejerrey patagónico *Patagonina hatcheri* Eigenmann, 1909, de la Laguna Terraplén, Chubut, Argentina. *Biota*, (Chile) 6:71-88.

- Grosman, F. (1993) Comparación de diferentes metodologías para la estimación del crecimiento del pejerrey patagónico. *Ecología Austral* 3:33-41.
- Guandalini, E. Mantovani, A. Fazzi, P. Gelosi, E. Colombari, P. T. Mazzini, M. & Fausto, A. M. (1994) Histological study on the oocyte filaments of the silverside *Odonthestes bonariensis*. *Journal of Fish Biology* 44:673–682.
- Grünbaum T., R. Cloutier, P.M. Mabee & N.R. Le François. (2007) Early developmental plasticity and integrative responses in arctic charr (*Salvelinus alpinus*): effects of water velocity on body size and shape. *Journal of Experimental Zoology* (Mol. Dev. Evol.), 308B:396-408.
- Guntrip, J. & Sibly, R.M. (1998) Phenotypic plasticity, genotype-by-environment interaction and the analysis of generalism and specialization in *Callosobruchus maculatus*. *Heredity* 81:198-204.
- Hall, T.E. & Johnston IA (2003) Temperature and developmental plasticity during embryogenesis in the Atlantic cod *Gadus morhua* L. *Mar Biol* 142:833–840.
- Hankinson, S.J., Childress, M.J., Schmitter-Soto, J.J. & Ptacek, M.B. (2006) Morphological divergence within and between the Mexican sailfin mollies, *Poecilia velifera* and *Poecilia petenensis*. *Journal of Fish Biology* 68:1610–1630 doi:10.1111/j.1095-8649.2006.01051.x
- Hamai, I., Kyushin, K. & Kinoshita, T. (1974) On the early larval growth, survival and variation in body form in the walleye pollock, *Theragra chalcogramma* (Pallas), in rearing experiment feeding the different diets. *Bull. Fac. Fisheries, Hokkaido University* 25:20–35.

- Hattori, R.S., Gould, R.J., Fujioka, T., Saito, T., Kurita, J., Strüssmann, C.A., Yokota, M. & Watanabe, S. (2007) Temperature-Dependent Sex Determination in Hd-rR Medaka *Oryzias latipes*: Gender Sensitivity, Thermal Threshold, Critical Period, and DMRT1 Expression Profile. *Sexual Development* 1:138–146
- Heermann, L., Beeck, P. & Borcherdig, J. (2007) Two size classes of 0+ year perch: is phenotypic plasticity based on food resources? *Journal of Fish Biology* 70:1365-1377.
- Hegrenes, S. (2001) Diet-induced phenotypic plasticity of feeding morphology in the orangespotted sunfish, *Lepomis humilis*. *Ecology Freshwater Fish* 10:35-42.
- Hemming, T.A. & Buddington, R.K. (1988) Yolk absorption in embryonic and larval fishes. In: Hoar WS, Randall DJ (eds) *Fish physiology*, Vol 11A. Academic Press Inc, Boston, 407–446.
- Hermida, M San Miguel, E Bouza, C Castro J & Martínez P (2009) Morphological variation in a secondary contact between divergent lineages of brown trout (*Salmo trutta*) from the Iberian Peninsula. *Genetics and Molecular Biology* 32:1:42-50
- Hjelm, J.R., Persson, L. & Chistensen, B. (2000) Growth, morphological variation and ontogenetic niche shifts in perch (*Perca fluviatilis*) in relation to resource availability. *Oecologia* 122:190-199.
- Hjelm, J.R., Svanbäck, P., Byström, L., Persson, L. & Wahström, E. (2001) Diet dependent body morphology and ontogenetic reaction norms in Eurasian perch. *Oikos* 95:311-323.

- Hubert, N. & Renno, J.F. (2006) Historical biogeography of South American freshwater fishes. *Journal of Biogeography*. 33:1414–1436.
- IARH-INCYTH (1995) Catálogo de los lagos y embalses de la Argentina. Proyecto Catálogo Nacional de Lagos y Lagunas Argentinas y su Medio Ambiente. Ministerio de Economía y Obras Servicios Públicos Secretaría de Obras y Servicios Públicos.
- Inazawa, J., Hattori, R.S., Strüssmann, C.A., Oura, M., Yokota, M. & Watanabe, S. (2009) Gonadal sex differentiation and sex ratios of the reciprocal hybrids of *Odontesthes bonariensis* and *O. hatcheri* (Atherinopsidae). 2^a Conferencia Latinoamericana sobre Cultivo de Peces Nativos. 85-160.
- Inazawa J., Hattori R.S., Oura M., Yokota M. & Strüssmann C. A. (2011) Temperature effects on sex differentiation of the reciprocal hybrids of *Odontesthes bonariensis* and *Odontesthes hatcheri* (Atherinopsidae) *Aquaculture Research* 42:746-753.
- Ito, L. S., Yamashita, M., Takashima, F. and Strüssmann, C. A. (2005) Dynamics and histological characteristics of gonadal sex differentiation in pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) at feminizing and masculinizing temperatures. *Journal of Experiment Zoological* 303A:504–514.
- Jerry, D.R., Elphinstone, M.S., Baverstock, P.R. (2001) Phylogenetic Relationships of Australian Members of the Family Percichthyidae Inferred from Mitochondrial 12S rRNA Sequence Data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 18:335-347.
- Johnston, I.A. (1993) Temperature influences muscle differentiation and the relative timing of organogenesis in herring (*Clupea harengus*) larvae. *Marin Biology* 116:363–379.

- Johnston, J.A. & Kelsch, S.W. (1998) Effects of evolutionary thermal environment on temperature-preference relationships in fishes. *Environmental Biology of Fishes* 53:44-458.
- Kamler, E. (2008) Resource allocation in yolk-feeding fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 18:143-200.
- Kimmel, C. B., Ballard, W. W., Kimmel, S. R., Ullmann, B. and Schilling, T. F. (1995), Stages of embryonic development of the zebrafish. *Dev. Dyn.*, 203:253–310.
- Koumoundouros, G., Diavanach, P. & Kentouri, M. (1999) Ontogeny and allometric plasticity of *Dentex dentex* (Osteichthyes: sparidae) in rearing conditions. *Marine Biology* 135:561-572.
- Kunz, Y.W. (2004) *Developmental Biology of Teleost Fishes*. Springer, Netherlands.
- Lattuca M.E., Brown D., Castiñeira L., Renzi M., Luizon C., Urbanski J. & Cussac, V. (2008) Reproduction of landlocked *Aplocheilichthys zebra* Jenyns (Pisces, Galaxiidae). *Ecology of Freshwater Fish* 17:394-405.
- Lindgren, M., Vigliano, P. & Anders Nilsson, P. (2012) Alien Invasions and the Game of Hide and Seek in Patagonia. *PLOS ONE* 7,10 e44350
- Lindholm, A.K., Hunt, J. & Brooks, R. (2006) Where do all the maternal effects go? Variation in offspring body size through ontogeny in the live-bearing fish *Poecilia parae*. *Biology Letter* 2:586-589.
- Lindsey CC, Arnason AN (1981) A model for responses of vertebral numbers in fish to environmental influences during development. *Canadian Journal of Fisheries Aquatic Society* 38:334–347

- Liotta, J. (2006) Distribución geográfica de los peces de aguas continentales de la República Argentina. *ProBiota*. Serie Documentos 3. Universidad Nacional de La Plata, p 701.
- Livingstone, D. M. & Lotter, A. F. (1998) The relationship between air and water temperatures in lakes of the Swiss Plateau: a case study with palaeolimnological implications. *Journal of Paleolimnology* 19(2):181-198.
- Logan, M.S., Iverson, S.J., Ruzzante, D.E., Walde, S.J., Macchi, P.J., Alonso, M.F. & Cussac, V.E. (2000) Long term diet differences between morphs in trophically polymorphic *Percichthys trucha* (Pisces: Percichthyidae) populations from the southern Andes. *Biological Journal of the Linnean Society* 69:599-616.
- López, H.L., R.C. Menni, M. Donato & A.M. Miquelarena. (2008) Biogeographical revision of Argentina (Andean and Neotropical Regions): an analysis using freshwater fishes. *Journal of Biogeography*. doi:10.1111/j.1365-2699.2008.01904.x
- López-Arbarello, A. (2004) Taxonomy of the genus *Percichthys* (Perciformes: Percichthyidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters* 15(4):331-350.
- Losos, J.B. Jackman, T.R. Larson, A. de Queiroz, K. & Rodriguez-Schettino, L. (1998) Contingency and determinism in replicated adaptive radiations in island lizards. *Science* 279:2115–2118.
- Macchi, P.J. (1991) Ecología trófica de los peces autóctonos del lago Moreno. (Brazo Morenito) Tesis de Licenciatura. Bariloche: Universidad Nacional del Comahue. 106pp.

- Macchi P.J., Cussac V.E., Alonso M.F., & Denegri M.A. (1999) Predation relationships between introduced salmonids and the native fish fauna in lakes and reservoirs in Northern Patagonia. *Ecology Freshwater Fishes* 8:227-236.
- Macchi, P.J., Pascual, M.A. & Vigliano, P.H. (2007) Differential piscivory of the native *Percichthys trucha* and exotic salmonids upon the native forage fish *Galaxias maculatus* in Patagonian Andean lakes. *Limnologica* 37:76-87.
- Mac Donagh, M.J. & Thormählen, A. L. (1945) Observaciones sobre las especies de Trucha criolla. Instituto del museo de la universidad de La Plata. *Zoología* 27:10-193.
- Mayr, E. (1963) *Animal Species and Evolution*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Malmquist, H.J., Snorrason, S.S., Skúlason, S., Jonsson, B., Sandlund, O.T. & Jónasson, P.M. (1992) Diet differentiation in polymorphic Arctic charr in Thingavallavatn, Iceland. *Journal Animal Ecology* 61:21-35.
- Marrero Galíndez, A. (1950) Flechas de Plata, Atherinidos Argentinos. "Grabados La Plata". M. Britman. Buenos Aires.
- Meyer, A. (1987) Phenotypic plasticity and heterochrony in *Cichlasoma managuense* (Pisces, Cichlidae) and their implications for speciation in Cichlid fishes. *Evolution* 6:1357-1369.
- Menni, R.C. (2004) Peces y ambientes en la Argentina continental. Monografías del Museo Argentino de Ciencias Naturales. 314pp.
- Milano D, Ruzzante DE, Cussac VE, Macchi PJ, Ferriz RA, Barriga JP, Aigo JA, Lattuca ME, Walde SJ. (2006) Latitudinal and ecological correlates of morphological

- variation in *Galaxias platei* (Pisces: *Galaxiidae*) in Patagonia. *Biological Journal of the Linnean Society* 87:69–82.
- Milano D, Cussac VE, Macchi PJ, Ruzzante DE, Alonso MF, Vigliano PH, Denegri MA. (2002) Predator associated morphology in *Galaxias platei* in Patagonia lakes. *Journal of Fish Biology* 61:138–156.
- Minoprio, J. L. (1944) Consideraciones sobre el desarrollo embrionario del pejerrey. *Acta Zoológica Lilloana* 2:9-25.
- Motta, P.J. & Kotrschal, K.M. (1992) Correlative, experimental, and comparative evolutionary approaches in ecomorphology. *Netherlands Journal of Zoology* 42:400-415.
- Motta, P.J., Clifton, K.B., Hernandez, P.& Eggold, B.T. (1995) Ecomorphological correlates in ten species of subtropical seagrass fishes: diet and microhabitat utilization. *Environmental Biology of Fishes* 44:7-60.
- Mousseau, T. A. & Fox, C.W. (1998) The adaptative significance of maternal effects. *Tree*. vol 13
- Muñiz Saavedra, J. & Piacentino, G (1991) Estudio del desarrollo ontogenético de *Odontesthes bonariensis* (Cuvier y Valenciennes, 1835). *Medio Ambiente, Ambientes Acuáticos* 11:61-68
- Ortubay, S., Cussac, V.E., Battini, M.A., Barriga, J.P., Aigo, J., Alonso, M.F., Macchi, P.J, Reissig, M., Yoshioka, J. & Fox, S. (2006) Is the decline of bird and amphibians in a steppe lake of northern Patagonia a consequence of limnological changes following

- fish introduction? *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 16:93-105.
- Ossec, J.W.M. (1990) Form changes in fish larvae in relation to changing demands of function. *Netherlands Journal of Zoology* 40:362-385.
- Pascual, M. A., Cussac, V., Dyer, B., Soto, D., Vigliano, P., Ortubay, S. & Macchi, P. (2007) Freshwater fishes of Patagonia in the 21st Century after a hundred years of human settlement, species introductions, and environmental change. *Aquatic Ecosystem Health & Management* 10:2:212–227.
- Parsons, K.J., Robinson, B.R. & Hrberk, T. (2003) Getting into shape: an empirical comparison of truss-based morphometric methods with a newer geometric method applied to new world cichlids. *Environmental Biology of Fishes* 67:417-431.
- Pérez, M.R., Fernandino, J.I., Carriquiriborde, P. & Somoza, G.M. (2012) Feminization and altered gonadal gene expression profile by ethinylestradiol exposure to pejerrey, *Odontesthes bonariensis*, a South American teleost fish. *Environmental Toxicology and Chemistry* 31:941-946
- Peterson R.H., Martin-Robichaud D.J. & Harmon P. (2004) Influence of incubation temperature on body movements of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) embryos and on size at hatch. *Aquaculture Research* 35:453-458.
- Pigliucci, M., Murren, C.J., Schlichting, C.D. (2006) Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Review The Journal of Experimental Biology* 209:2362-2367.

- Raciborski, K. (1987) Energy and protein transformation in sea trout (*Salmo trutta* L.) larvae during transition from yolk to external food. *Polish Archives of Hydrobiology* 34:437–502.
- Reissig, M., Trochine, C., Queimaliños, C., Balseiro, E., Modenutti, B. (2006) Impact of fish introduction on planktonic food webs in lakes of the Patagonian Plateau. *Biological conservation* 132:437-477.
- Ringuelet, R.A. (1943) Piscicultura del Pejerrey o Aterinucultura. Colección Agro. Vol 6. editorial suelo argentino Buenos Aires. 160pp.
- Ringuelet, R.A. Aramburu, R. H., & Alonso de Aramburu, A. (1967) Los Peces Argentinos de Agua Dulce. 602 pp., Comisión Científica de la Provincia de Buenos Aires, La Plata
- Riopel, C., Robinson, B.R. & Parson, K.J. (2008) Analyzing nested variation in the body form of Lepomid sunfishes. *Environmental Biology of Fishes* 82:409–420.
- Roberts, D.T., Duivenvoorden, L.J. & Stuart, I.G. (2008) Factors influencing recruitment patterns of Golden Perch (*Macquaria ambigua orientalis*) within a hydrologically variable and regulated Australian tropical river system. *Ecology of Freshwater Fish* 17:577-589.
- Robinson, B.W. & Wilson, D.S. (1994) Character release and displacement in fishes: a neglected literature. *American Naturalist* 144:596–627.
- Rohlf, F.J. & Marcus, L.F. (1993) A revolution in morphometrics. *Tree* 8:129-132.
- Rohlf, F.J. (2004) tpsRegr, shape regression, version 1.30. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.

- Rønnestad, I., Koven, W., Tandler, A., Harel, M. & Fyhn, H.J. (1998) Utilization of yolk fuels in developing eggs and larvae of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 162:157–170.
- Ruiz, A.E. (2002) Biología del pejerrey patagónico, *Odontesthes hatcheri* (Eigenmann, 1909), en el embalse Florentino Ameghino, Chubut, Argentina. Tesis Doctoral. Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.
- Ruzzante, D.E., Walde, S.J., Cussac, V.E., Macchi, P.J. & Alonso, M.F. (1998) Trophic polymorphism, habitat and diet segregation in *Percichthys trucha* (Pisces: Percichthyidae) in the Andes. *Biological Journal of the Linnean Society* 65:191-214.
- Ruzzante, D.E., Walde, S.J., Cussac, V.E. Macchi, P.J., Alonso, M.F. & Battini, M. (2003) Resource polymorphism in a Patagonian fish *Percichthys trucha* (Percichthyidae): phenotypic evidence for interlake pattern variation. *Biological Journal of the Linnean Society* 78:497-515.
- Ruzzante, D.E., Walde, S.J., Cussac, V.E., Dalebout, M.L., Seibert, J., Ortubay, S. & Habit, E. (2006) Phylogeography of the Percichthyidae (Pisces) in Patagonia: roles of orogeny, glaciation, and volcanism. *Molecular Ecology* 15:2949–2968.
- Ruzzante, D.E., Walde, S.J., Gosse, J.C., Cussac, V.E., Habit, E., Zemplak, T.S. & Adams, E.D.M. (2008) Climate control on ancestral population dynamics: insight from Patagonian fish phylogeography. *Molecular Ecology* 17:2234-2244.

- Ruzzante, D.E., Walde, S.J., Macchi, P.J., Alonso, M.F. & Barriga, J. P. (2011) Phylogeography and phenotypic diversification in the Patagonian fish *Percichthys trucha*: the roles of Quaternary glacial cycles and natural selection. *Biological Journal of Linnean Society* 103:514-529.
- Sanchez-Velasco L, (1998) Diet composition and feeding habits of fish larvae of two co-occurring species (Pisces: Callionymidae and Bothidae) in the North-western Mediterranean. *ICES Journal of Marine Science* 55:299–308.
- Svanbäck, R. & Eklöv, P. (2002) Effects of habitat and food resources on morphology and ontogenetic trajectories in perch. *Oecologia* 131:61–70.
- Servicio meteorológico nacional. <http://www.smn.gov.ar/>
- Schluter, D. (1996) Ecological causes of adaptive radiation. *American Naturalist* 148:S40–S64.
- Schluter, D. (2000) The ecology of adaptive radiation. Oxford: Oxford University Press.
- Shuter, B.J. & Post, J.R. (1990) Climate, Population Viability, and the Zoogeography of Temperate Fishes. *Transactions of the American Fisheries Society* 119:314-336.
- Schlichting, C.D. & Pigliucci, M. (1998) Phenotypic evolution: a reaction norm perspective. *Sinauer*, Sunderland, MA. 1-334.
- Sigursteinsdóttir, R.J. & Kristjánsson, B.K. (2005) Rapid morphological changes in threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, in freshwater. *Environmental Biology of Fishes* 74:357-363.

- Skúlason S., Noakes D., & Snorrason S.S., (1989) Ontogeny of trophic in four sympatric morphs of arctic charr *Salvelinus alpinus* in Thingvallavatn, Iceland. *Biology Journal of the Linnean Society* 38:281-301.
- Strüssmann, C.A., Conover, D.O., Somoza, G.M., & Miranda, L.A. (2010) Implications of climate change for the reproductive capacity and survival of New World silversides (family Atherinopsidae). *Journal of Fish Biology* doi:10.1111/j.1095-8649.2010.02780.x
- Strüssmann, C.A. & Patiño, R. (1995) Temperature manipulation of sex differentiation in fish. In: *Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*. F. Goetz & P. Thomas, eds. FishSymp 95, Austin, Texas, 153–157.
- Strüssmann, C.A., Calsina Cota, J.C., Phonlor, G., Higuchi, H. & Takashima, F. (1996) Temperature effects on sex differentiation of two South American atherinids, *Odontesthes argentinensis* and *Patagonina hatcheri*. *Environmental Biology of Fishes* 47:143-154.
- Strüssmann, C.A., Akaba, T., Ijima, K., Yamaguchi, K., Yoshizaki, G. & Takashima, F. (1997^a) Espontaneous hybridization in the laboratory and genetic markes for the identification of hybryds between two atherinid species, *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835) and *Patagonina hatcheri* (Eigenmann, 1909). *Acuaculture Research* 28:291-300.
- Strüssmann, C.A., Saito, T., Usui, M., Yamada H., & Takashima, F. (1997^b) Thermal Thresholds and Critical Period of Thermolabile Sex Determination in Two

- Atherinid Fishes, *Odontesthes bonariensis* and *Patagonina hatcheri*. *The Journal of Experimental Zoology* 278:167–177.
- Somoza, G.M., Miranda, L.A., Berasain, G.E., Colautti, D., Remes Lenicov, M. & Strüssman, C.A. (2008) Historical aspects, current status and prospects of pejerrey aquaculture in South America. *Aquaculture Research* 39:784-793.
- Schlichting, C.D. & Pigliucci, M. (1998) Phenotypic evolution: a reaction norm perspective. *Sinauer*, Sunderland, MA. 1-334.
- Sommer, J., Conte-Grand, C. Cifuentes, R. Habit, E. Cussac, V. & Ortí. G. (2010) Phylogenies, species boundaries, and marine to freshwater transitions in South American silversides. American Society of Ichthyologists and Herpetologists Annual Meeting. Providence, Rhode Island, USA. 0618.
- Skúlason, S. & Smth, T.B. (1995) Resource polymorphisms in vertebrates. *Tree* 10:366-370.
- Skúlason, S., Noakes, D. & Snorrason, S.S. (1989) Ontogeny of trophic in four sympatric morphs of arctic charr *Salvelinus alpinus* in Thingvallavatn, *Iceland*. *Biological Journal of the Linnean Society* 38:281-301.
- Svanbäck, R. & Eklöv, P. (2003) Morphology dependent foraging efficiency in perch: a trade-off for ecological specialization? *OIKOS* 102:273–284.
- Svanbäck, R. & Eklöv, P. (2002) Effects of habitat and food resources on morphology and ontogenetic trajectories in perch. *Oecologia* 131:61–70.

- Sund, T. & Falk-Petersen, I.B. (2005) Effect of incubation temperature on development and yolk sac conversion efficiencies of spotted wolffish (*Anarhynchus minor* Olafsen) embryos until hatch. *Aquaculture Research* 36:1133-1143.
- Taylor, E.B. (1999) Species pairs of north temperate freshwater fishes: Evolution, taxonomy and conservation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 9:299-324.
- Tokin, Z.D., Humphries, P. & Pridmore, P.A. (2006) Ontogeny of feeding in two native and one alien fish species from the Murray-Darling Basin, Australia. *Environmental Biology of Fish* 76:303-315.
- Valentin, A., Sévigny, J.M. & Chanut, J.P. (2002) Geometric morphometrics reveals body shape differences between sympatric redfish *Sebastes mentella*, *Sebastes fasciatus* and their hybrids in the Gulf of St Lawrence. *Journal of Fish Biology* 60:857–875.
- Wade, M.J. (1998) The evolutionary genetics maternal effects in Maternal Effects as adaptations: 1-5 Mousseau, T.A & Fox, C.W (Ed.). New York: *Oxford University Press*.
- Walsh, C.T., Gray C.A., West, R.J., Williams, L.F.G. (2011) Reproductive biology and spawning strategy of the catadromous percichthyid, *Macquaria colonorum* (Günther, 1863). *Environmental Biology of Fish* 91:471-486
- Walsh, C.T., Reinfelds, I.V., Gray, C.A., West, R.J., van der Meulen, D.E., Craig, J.R. (2012) Seasonal residency and movement patterns of two co-occurring catadromous percichthyids within a south-eastern Australian river. *Ecology of Freshwater Fish* 21:145-159.

- Walter, J.A. & Bell, M.A. (2000) Net evolutionary trajectories of body shape evolution within a microgeographic radiation of threespine sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) *Journal of Zoological London* 252:293-302.
- Wilson, A.J. & Reale, D. (2006) Ontogeny of additive and maternal genetic effects: Lessons from domestic mammals. *American Naturalist* 167: 23-38.
- Wintzer, A.P. & Motta, P.J. (2005) Diet-induced phenotypic plasticity in the skull morphology of hatchery-reared Florida largemouth bass, *Micropterus salmoides floridanus*. *Ecology of Freshwater Fishes* 14:311-318.
- Yamagami, K. (1988) Mechanisms of hatching in fish. Pp. 447-500. In Hoar, W. S. & D. J. Randall (Eds.) Fish physiology. Volume XIA. *The physiology of the developing fish*. New York, Academic Press Inc., 546p.