UNIVERSIDAD DE VALPARAISO
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
Y DE RECURSOS NATURALES

CARRERA DE BIOLOGIA MARINA

Cambios morfométricos y alimentarios asociados a la transición pelago-bentónica del pejesapo *Sicyases sanguineus* (Muller & Troschel, 1843) durante su desarrollo ontogenético temprano

TESIS

Valentina Nicol Bernal Durán

Tc
S

2015

morc 6f179

M
B517 c
2015

UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO

ESCUELA DE BIOLOGÍA MARINA

CARRERA DE BIOLOGÍA MARINA

CAMBIOS MORFOMÉTRICOS Y ALIMENTARIOS ASOCIADOS A LA TRANSICIÓN PELAGO-BENTÓNICA DEL PEJESAPO *Sicyases sanguineus* (MÜLLER & TROSCHEL, 1843) DURANTE SU DESARROLLO ONTOGENÉTICO TEMPRANO

UNIVERSIDAD DE VALPARAISO
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR Y RECURSOS NATURALES
BIBLIOTECA
1558

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE BIOLOGO MARINO

VALENTINA NICOL BERNAL DURÁN

2015

VALENTINA NICOL BERNAL DURÁN

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

Profesor Mauricio Fabián Landaeta Díaz

Director

Universidad de Valparaíso

Profesor Fernando Balbontín Cavada

Miembro de la comisión

Universidad de Valparaíso

Profesora Maritza Sepúlveda Martinez

Miembro de la comisión

Universidad de Valparaíso

2015

TABLA DE CONTENIDOS

TABLA DE CONTENIDOS iii

AGRADECIMIENTOS v

LISTA DE TABLAS viiii

LISTA DE FIGURAS viiiii

RESUMEN x

INTRODUCCIÓN 1

Desarrollo y metamorfosis 1

Alimentación 2

Morfometría geométrica 3

Características de los pejesapos 5

OBJETIVOS 7

Objetivo General 7

Objetivos Específicos 7

HIPÓTESIS 8

MATERIALES Y MÉTODOS 9

Origen de las muestras 9

Trabajo en laboratorio y obtención de datos 9

Morfometría geométrica 10

Análisis de datos 13

Relación morfometría y dieta 15

RESULTADOS 17

Morfometría Geométrica 17

Composición de la dieta 22

Incidencia alimentaria y éxito alimentario 23

Amplitud del nicho trófico 29

Cambios ontogenéticos de la dieta 30

Relación morfometría y dieta 32

DISCUSIÓN 33

Morfometría geométrica 33

Composición de la dieta 35

Incidencia alimentaria y éxito alimentario 37

Amplitud del nicho trófico 38

Relación morfometría y dieta 399

CONCLUSIONES 411

FUENTE DE FINANCIAMIENTO 422

LITERATURA CITADA 433

AGRADECIMIENTOS

Primero que todo quisiera agradecerle a mi familia por todo el apoyo y el amor que me dieron durante los años que estuve estudiando. A mis padres, Papo y Mamona, y a mis hermanas Baby, Dany y Kote, por siempre darme el aliento y la fuerza que necesité en los momentos difíciles y por disfrutar mis alegrías y logros tanto como yo, por hacerme reír hasta las lágrimas y por enseñarme tantas cosas bellas. Nunca me faltó una palabra de aliento o un gran abrazo cuando fue necesario. Les agradezco desde el inicio, cuando les dije que quería estudiar biología marina y no dudaron en respaldarme, por escucharme y tratar de entenderme cuando les contaba de los animales que estudiaba o cosas que nunca habían escuchado, hasta el final cuando ya estaba en proceso de hacer mi tesis y finalizar mi carrera. Gracias por hacerme la persona que soy hoy, por entregarme valores y confianza, por motivarme a creer en mis sueños y en que puedo alcanzar todo lo que me proponga, porque todo es posible si se hace con amor y entrega. Además como parte de mi familia también quiero agradecerle a mi pareja, Fabián, quien fue y es fundamental en mi vida desde que nos conocimos. Cuando dejé mi casa para venir a Viña en busca de lo que quería hacer de mi vida fuiste el mejor apoyo y un motor para seguir siempre hacía adelante. Eres mi compañero de vida y sin ti, mis padres y hermanas no sería quien soy hoy y todo lo que he logrado como persona y en el ámbito profesional no hubiera sido posible sin ustedes. Amor te agradezco por aguantarme en los momentos críticos de mi período de estudiante, por cuidarme y apapacharme siempre que lo necesité y por ayudarme a crecer, por todas las conversaciones que hemos tenido y que han sido enriquecedoras, por todas las alegrías y penas que hemos compartido en todos estos años juntos y por ser mi compañero en este hermoso camino que es la vida.

En el colegio y la universidad hice amigos que llenan mi vida de cariño y mis recuerdos de risas y buenos momentos. No puedo dejar de lado a quienes me han dado su amistad desde hace muchos años, Domi, Mane, Belén y Cata, amigas de la vida con quienes he mantenido lazos a pesar de la distancia y el paso del tiempo. Ya en la universidad conocí personas maravillosas también, Jesu, Maca, Vivi, Laura, Andrea, Pancha y Nati. Aunque no todas fuimos amigas desde el principio formamos un grupo increíble, todas tienen algo especial y que hizo de mi periodo como estudiante en Montemar una aventura enriquecedora en todo aspecto. Les agradezco por hacerme reír, por aguantar mis frustraciones, enojos y a veces mal humor, por todas esas conversaciones, a veces puras tonteras que me alegraron y otras de temas profundos que me llenaron. He podido aprender de cada una de ustedes cosas distintas y les doy gracias infinitas por ser un gran apoyo en mi vida y por confiar en mí, como compañera y amiga.

Por ningún motivo puedo dejar de lado a quienes se convirtieron en mi segunda familia, el LABITI. Partiendo por el profe Mauro, una persona y profesional admirable, sin quien nada de este trabajo hubiera sido posible. Profe le agradezco infinitamente la confianza que ha tenido en mí, por darme la oportunidad de ser parte del LABITI y por el apoyo y la motivación que me ha dado en estos años para soñar con grandes cosas para el futuro. Todos los compañeros de laboratorio han sido de alguna forma importantes, pero quiero agradecerle especialmente a la Fran, Gisse, Maca y James, por tantos momentos compartidos, risas, lechoneos, conversaciones ñoñas que me llenaron la cabeza de ideas y sueños, por apoyarme y alentarme siempre. Llegar al LABITI fue una de las mejores cosas que me ha pasado, no dejen de creer en esta familia.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Grupos de tamaño utilizados para los análisis de morfometría geométrica y de la dieta de *S. sanguineus*.....11

Tabla 2. Resultados del Procrustes ANOVA para la estimación del error de digitalización de los landmarks en los individuos de *S. sanguineus*. Donde SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrados medios y gl: Grados de libertad.....17

Tabla 3. Composición de la dieta de *S. sanguineus* según grupo de tamaño.....24

Tabla 4. Porcentaje de incidencia alimentaria según rango de tamaño. Donde SC: sin contenido, CC: con contenido, %IA: porcentaje de incidencia alimentaria.....26

Tabla 5. Resultados del análisis de similitud porcentual (SIMPER) para los 4 grupos de tamaño de *S. sanguineus*.....31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Posición de los landmarks en larvas en preflexión (A), en flexión (B) y postflexión (C) y juveniles (D) de *S. sanguineus*, donde 1: Punta del hocico, 2: Parte posterior del cuerpo, 3: Ano, 4: Parte inferior de la premaxila, 5: Centro del ojo, 6 y 7: Borde superior e inferior del ojo, 8: Final de la cabeza, 9: Inserción del opérculo y 10: Dorsal sobre el ano, 90° respecto de landmark del ano (LM 3).....12

Figura 2. Regresión entre el tamaño del centroide (TC) y la longitud corporal (LC).....18

Figura 3. Regresión entre las Coordenadas de Procrustes (CoP) y el logaritmo del tamaño del centroide (TC log) para observar ocurrencia de cambios morfométricos y alometría.....19

Figura 4. Análisis de componentes principales para observar los principales ejes de cambios morfométricos a lo largo del desarrollo ontogenético de *S. sanguineus*.....21

Figura 5. Visualización de cambios morfométricos en los 3 primeros componentes principales. A: wireframe y grillas de deformación del CP1; B: wireframe y grilla de deformación del CP2; C: wireframe y grilla de deformación del CP3.....22

Figura 6. Índice de importancia relativa porcentual (%IIR) de las presas ingeridas por *S. sanguineus* durante su desarrollo ontogenético temprano, según grupo de tamaño.....26

Figura 7. Relación entre éxito alimentario y tamaño. A: Número de presas por estómago (NPPE) y LC; B: Volumen total de presas por estómago (VTPE) y LC; C: Ancho máximo de la presa (AMP) y LC. NS: no significativo.....28

Figura 8. Variación de la amplitud del nicho trófico de *S. sanguineus* durante su crecimiento.....29

Figura 9. Análisis de escalamiento multidimensional (NMDS) de los ítems presas ingeridos por *S. sanguineus* durante su desarrollo ontogenético temprano, según grupo de tamaño.....30

Figura 10. Resultado del PLS al comparar los bloques de cambios morfométricos (Bloque 1) y de composición de la dieta (Bloque 2).....32

RESUMEN

Muchos peces poseen ciclos de vida complejos, con una etapa de dispersión larval pelágica, seguida de una etapa adulta sedentaria y asociada al bentos y durante el desarrollo temprano de estos peces pueden ocurrir grandes cambios en la forma. Es esperable que durante el transcurso de esos cambios en la forma, ocurran cambios en la composición y estructura de la dieta. Una forma de analizar dichos cambios de forma es utilizando la morfometría geométrica basada en landmarks, que permite estudiar los cambios de forma a partir del desplazamiento de hitos morfométricos. El pejesapo *Sicyases sanguineus* posee un ciclo de vida pelago-bentónico, que consiste inicialmente en huevos bentónicos, luego una fase pelágica de dispersión larval, seguida de una etapa de juvenil y adulto sedentaria. Durante esta transición de hábitat, se espera que esta especie atraviese fuertes cambios en su forma, por lo cual sería un modelo biológico adecuado para analizar las variaciones ontogenéticas de la forma, utilizando morfometría geométrica y ligarlos a cambios en la dieta. Todos los especímenes utilizados en este estudio fueron fotografiados y medidos y se formaron 4 grupos de tamaño para las comparaciones, tanto de morfometría como de dieta. Las larvas de *S. sanguineus* utilizadas fueron recolectadas en el litoral central de Chile en las zonas de El Quisco y Montemar y los juveniles fueron recolectados manualmente en la localidad de Las Cruces. Se creó una configuración de diez landmarks, la cual se aplicó a los 159 organismos en estudio. Se realizó una regresión multivariada de la forma con el tamaño para observar la ocurrencia de cambios morfométricos y estimar alometría. Además, se realizó un Análisis de Componentes Principales, para identificar los principales ejes de cambio en la forma, agregando grillas de deformación y wireframes para presentar visualmente los cambios de forma. Se determinó la composición de la dieta, la incidencia

alimentaria, el éxito alimentario, la amplitud del nicho trófico y los cambios ontogenéticos en la alimentación. La relación entre los cambios morfométricos y las variaciones en la alimentación se evaluó con un PLS. La regresión entre la forma y el tamaño fue positiva y significativa ($P<0,001$) y el porcentaje de alometría fue de 18,50%. El crecimiento alométrico ocurrió temprano en el desarrollo ontogenético, hasta los 12 mm LC. Posterior a los 12 mm, comienza un crecimiento isométrico. La variación de la forma estuvo caracterizada por un alargamiento del tracto digestivo y un engrosamiento del cuerpo de los individuos, por lo cual los individuos pasan de tener una forma más fina (adaptada a la vida pelágica) a una forma más robusta (más adaptada a una vida asociada al bentos). Se encontró un total de 43 ítems presa, entre vegetal y animal durante todo el desarrollo, lo cual indica una dieta omnívora. En las larvas más pequeñas (menores a 8 mm) el ítem presa más importante fueron los nauplii de copépodo (42,45%), igual que para las larvas de 8 a 12 mm (31,85%). En las larvas de 12 a 16 mm LC, el ítem presa más importante fue el copépodo *Paracalanus indicus* (39,44%) y dentro de la dieta de los juveniles el ítem de mayor importancia fueron los restos digeridos (61,98%) junto con los restos de algas rojas (25,49%). En todos los grupos estudiados hubo un alto porcentaje de individuos con contenido estomacal (entre 80% y 94,12%) y no se encontraron diferencias significativas en la incidencia alimentaria entre los grupos de tamaño ($\chi^2=0,974$; $P=0,807$). A medida que los individuos incrementan su tamaño, no aumentan significativamente la cantidad ni el ancho de presas que pueden ingerir, pero sí el volumen de estas. La amplitud del nicho trófico se incrementó a medida que los individuos aumentaron de tamaño, por lo que estos sí serían capaces de alimentarse de presas de mayor tamaño a medida que crecen. Además si hubo cambios ontogenéticos en la composición de la dieta (pseudo-F= 4,319; P=0,0001) y la mayor disimilitud se produjo entre las larvas

menores a 8 mm y los juveniles (99,31%). El resultado del PLS mostró que sí hubo covarianza entre los cambios en la forma y los cambios en la dieta (RV=0,0407; P=0,015), pero la correlación entre ambas fue baja (R=0,2362; P=0,0027), por lo tanto los cambios morfométricos no están acoplados con los cambios en la alimentación. Si se suma a esto que los mayores cambios en forma y el crecimiento alométrico se producen aproximadamente hasta los 12 mm LC, y que la mayor diferenciación en la dieta ocurre después de los 16 mm LC, se puede sugerir que los cambios en forma preceden a los cambios en la dieta ocurridos durante el desarrollo ontogenético temprano de *S. sanguineus.*

INTRODUCCIÓN

Desarrollo y metamorfosis

En general el desarrollo ontogenético de las especies se puede clasificar en dos grandes categorías: directo e indirecto. Los organismos con desarrollo directo se caracterizan por la ausencia de un estado larvario, ya que nace o eclosiona inmediatamente un juvenil con un desarrollo morfológico y funcional avanzado (Balon 1984). En cambio, las especies con desarrollo indirecto poseen ciclos complejos, atravesando cinco períodos distintos: embrión, larva, juvenil, adulto y senectud (Zavala-Leal *et al.* 2011). En los peces, estos ciclos de vida complejos involucran una serie de cambios (como formación de las aletas o un disco de fijación, migración del ojo, entre otros) que se suceden rápidamente para asegurar la sobrevivencia del individuo en los diferentes ambientes en los que se desenvuelve en sus distintas etapas del desarrollo (McCormick & Makey 1997). El desarrollo indirecto implica que en el momento de la eclosión los individuos están poco desarrollados y por ello deben pasar por procesos de crecimiento, morfogénesis y diferenciación de órganos, principalmente para desarrollar estructuras que permitan al organismo cambiar de hábitat y de alimentación. Estos procesos de permutación pueden ser englobados en el concepto de metamorfosis, término que se define como todos aquellos cambios que ocurren entre el período larvario y la maduración sexual (Youson 1988).

Muchas especies de peces poseen desarrollo indirecto, con una fase de dispersión larval planctónica y otra etapa sedentaria en el bentos, lo que implica que deben ser capaces de adaptarse a este nuevo ambiente lo más rápido posible (Lecchini 2005). Además de la metamorfosis, las especies con ciclos pelago-bentónicos también deben pasar por un proceso

de asentamiento, en el cual el individuo deja de ser larva y se asocia al sustrato. La fase de asentamiento es un período dinámico e involucra la adquisición de nuevos caracteres morfológicos que le permite al organismo concretar exitosamente dicho proceso (McCormick & Makey 1997). Por otro lado, en el transcurso de estos cambios morfológicos, también es esperable que los organismos modifiquen la composición y estructura de su dieta (Frédérich *et al.* 2008, 2012).

Alimentación

La alimentación es un aspecto crítico en la historia de vida de los peces, ya que no solo determina su sobrevivencia, sino que también proporciona la energía requerida para crecer y llevar a cabo los procesos de morfogénesis, que muchas veces están asociados a cambios de ambiente durante el desarrollo ontogenético (Frédérich *et al.* 2008).

Es de gran importancia analizar los hábitos alimentarios y la composición de la dieta en larvas de peces, ya que permite establecer cómo se relacionan las distintas especies y la importancia que estas representan en el funcionamiento de diversas comunidades (Hunter 1980, Herrera & Balbontín 1983).

Las larvas experimentan cambios en su dieta a medida que crecen y se desarrollan, ya que su sistema digestivo experimenta cambios a nivel morfológico, histológico y fisiológico (Govoni *et al.* 1986). También la capacidad y el éxito del forrajeo de los organismos puede incrementar a lo largo del desarrollo, debido a que mejoran características como la visión y la capacidad de natación, entre otras (McCormick 1998, Landaeta *et al.* 2011). De este modo es posible asociar los cambios ontogenéticos de la dieta, de los hábitos

alimentarios y de las estrategias de forrajeo con cambios morfométricos que ocurren durante el desarrollo temprano de una especie.

Morfometría geométrica

En un principio, los estudios de morfología se basaban en la descripción de las estructuras de los organismos, la cual no podía ser analizada cuantitativamente. A principios de siglo XX, estadísticos como Pearson y Fisher impulsaron el surgimiento de la hoy denominada morfometría tradicional (o morfometría multivariada), desarrollando métodos estadísticos, como el coeficiente de correlación de Pearson, el análisis de componentes principales y el análisis de varianza, aplicables a variables cuantitativas como la longitud, el alto y el ancho, dando inicio a una transición de lo descriptivo a lo cuantitativo (Adams *et al.* 2004, Toro *et al.* 2010). Sin embargo, se ha demostrado que las mediciones de distancias lineales, que se utilizan en la morfometría multivariada para describir la forma, son insuficientes para describir la geometría intrínseca de un objeto, ya que son tamaño dependientes, muchas veces carecen de homología, en ocasiones dos formas evidentemente diferentes pueden tener el mismo conjunto de medidas y además no permiten volver a la forma original del individuo (Adams *et al.* 2004, Toro *et al.* 2010). Debido a estas limitaciones es que durante la segunda mitad del siglo XX se comenzaron a desarrollar nuevos métodos para el análisis de la forma morfológica. Así se origina la morfometría geométrica, definida como una fusión entre la biología y la geometría (Bookstein 1982). Esta disciplina tiene como propósito el análisis de la forma, independiente de los efectos de posición, escala y rotación del objeto en estudio (Kendall 1977). La morfometría geométrica es una técnica basada en el estudio de hitos morfológicos o "landmarks", los cuales son

puntos homólogos, establecidos por el investigador, que brindan información de la geometría de la forma del objeto de estudio (Bookstein 1991). En morfometría geométrica, la forma geométrica se puede estudiar de dos formas: método de contornos y método basado en hitos discretos (Adams *et al.* 2004). La morfometría geométrica de contornos se utiliza para aquellos objetos que carecen de hitos discretos y se basa en que existe una homología entre los contornos de las formas que se quieren comparar (Adams *et al.* 2004). La morfometría de hitos discretos se basa en el análisis del desplazamiento de las coordenadas (bi o tridimensionales) calculadas para cada landmark, las cuales no necesariamente definen el perímetro de la estructura, y consiste de tres etapas fundamentales: obtención de los datos, obtención de la información que describe la forma geométrica y el análisis de covariación de la forma (Toro *et al.* 2010). Los datos a utilizar corresponden al conjunto de hitos o landmarks, cada uno de los cuales deben tener un nombre y sus respectivas coordenadas cartesianas que describan su posición en el espacio (Bookstein 1991). El conjunto de coordenadas son los datos que posteriormente se someterán a análisis.

En peces, la morfometría geométrica se ha utilizado para diferenciar especies (e.g. Lopes *et al.* 2006, Cavalcanti *et al.* 2009, Coleman *et al.* 2015), realizar estudios de ecomorfología en especies que experimentan cambios de hábitat a lo largo de su ontogenia (e.g. Loy *et al.* 1998, 2001, Kouttouki *et al.* 2006, Russo *et al.* 2007, Frédérich *et al.* 2008, Russo *et al.* 2009, Frédérich *et al.* 2012), para estudios pesqueros (e.g. Cadrin 2000, Leclercq *et al.* 2014) y estudiar polimorfismo dentro de una especie (e.g. Hard *et al.* 2000, Samways *et al.* 2015), entre otros. Además la morfometría geométrica permite estudiar el crecimiento alométrico (e.g. Loy *et al.* 1998, 2001, Russo *et al.* 2007, Frédérich *et al.* 2008, Russo *et al.* 2009, Frédérich *et al.* 2012) que puede ocurrir durante la transición pelago-bentónica que

atraviesan algunos peces costeros que habitan en la zona rocosa, como es el caso de los pejesapos.

Características de los pejesapos

Los pejesapos se agrupan dentro de la familia Gobiesocidae la cual se distribuye ampliamente a lo largo del mundo, poblando las costas de Europa, América, África, Japón y el Indo Pacífico (Vera & Pequeño 2001). En Chile existen tres géneros de este grupo, representados por cuatro especies: *Sicyases sanguineus*, *Sicyases hildebrandi*, *Gobiesox marmoratus* y *Tomicodon chilensis* (De Buen 1960, Pequeño 1989).

El pejesapo *Sicyases sanguineus* (Müller y Troschel 1843) es una especie bentónica que habita en la zona media y alta del intermareal rocoso en su etapa juvenil y adulta y cuyas larvas son pelágicas (De Buen 1960). Esta especie está especialmente adaptada para soportar las condiciones ambientales adversas que allí se presentan, como la desecación e intensidad del oleaje, entre otras (De Buen 1960, Vera & Pequeño 2001), pudiendo incluso sobrevivir por más de un día y medio fuera del agua, debido a sus adaptaciones fisiológicas (Gordon *et al.* 1970). Se distribuye desde el sur de Perú hasta el sur de Chile (De Buen 1960, Paine & Palmer 1978). En cuanto a su alimentación, estudios en individuos adultos de esta especie lo clasifican como generalista, ya que se alimenta de una gran diversidad de presas, como algas (pardas, verdes y rojas) y una alta variedad de invertebrados, moluscos, crustáceos y, en menor medida de equinodermos (Paine & Palmer 1978, Muñoz & Ojeda 1997).

En lo que concierne a los estudios realizados en larvas de *S. sanguineus*, es poca la información existente. El desarrollo embrionario y larval de esta especie fue ampliamente

descrito por Pérez (1981). Más recientemente, Contreras *et al.* (2013) estudiaron la variabilidad del crecimiento larval de este pejesapo y lo compararon con *Gobiesox marmoratus*, utilizando microestructura de otolitos y determinaron que las larvas de *S. sanguineus* eclosionan a un tamaño mayor a 3 mm y con una tasa de crecimiento de 0,14 mm/día. Además, en cuanto a la alimentación de las larvas no hay información, por lo que este trabajo sería la primera descripción al respecto. Por otro lado, la información existente para los individuos adultos de *S. sanguineus* es mayor, principalmente asociada a estudios del proceso de emersión (Ebeling *et al.* 1970, Gordon *et al.* 1970, Cancino & Castilla 1988, Marusic *et al.* 1981).

Como muchas otras especies de peces marinos, *S. sanguineus* posee un ciclo de vida pelago-bentónico, que consiste inicialmente en huevos bentónicos, luego una fase pelágica de dispersión larval, seguida de una etapa de juvenil sedentaria (Pérez 1981). Para mantenerse adherido al sustrato, el pez desarrolla una ventosa ventral o disco de fijación, que se forma a partir de las aletas pélvicas durante el desarrollo larval (De Buen 1960, Pérez 1981). Durante esta transición del plancton al bentos, los individuos adquieren distintos caracteres morfológicos y cambian su forma para adaptarse a un nuevo hábitat. Debido a esto, es que esta especie es un modelo biológico adecuado para analizar las variaciones morfométricas de los individuos durante su ontogenia, utilizando morfometría geométrica y determinar su relación tienen con posibles cambios en la dieta durante su desarrollo ontogenético temprano.

OBJETIVOS

Objetivo General

Establecer una relación entre los cambios morfométricos y las variaciones en la alimentación que atraviesan los individuos de *Sicyases sanguineus* durante su desarrollo ontogenético temprano.

Objetivos Específicos

1. Determinar cuáles son los principales cambios morfométricos que atraviesa *Sicyases sanguineus* durante su estado larval y juvenil, utilizando morfometría geométrica.
2. Describir la composición de la dieta de *Sicyases sanguineus* y su variabilidad durante el desarrollo ontogenético temprano de esta especie.
3. Describir los patrones de éxito alimentario (número total de presas por estómago, volumen total de presas por estómago y ancho máximo de la presa) y estimar cómo varían en *Sicyases sanguineus* a medida que crece y se desarrolla.
4. Relacionar la ocurrencia de los cambios morfométricos identificados con cambios en la composición y variabilidad de la dieta de *Sicyases sanguineus*.

HIPÓTESIS

Los cambios morfométricos que atraviesan los individuos de *Sicyases sanguineus* durante su desarrollo ontogenético temprano provocan cambios en la dieta de estos organismos.

A continuación se presentan las predicciones basadas en la hipótesis de trabajo (Farji-Brener 2003):

1. Los mayores cambios de forma ocurren temprano en el desarrollo de *S. sanguineus*, es decir, en los individuos más pequeños (<12 mm LC) se observa un crecimiento alométrico.

2. Existen cambios ontogenéticos en la composición de la dieta y selección positiva por tamaño de las presas, es decir, a medida que los individuos crecen consumen presas distintas y de mayor tamaño.

3. Los cambios morfométricos y los cambios en la dieta de *S. sanguineus* están desacoplados. La mayor diferenciación en la dieta acontece después de los cambios morfométricos asociados al crecimiento alométrico que ocurre en los individuos de tamaños más pequeños.

MATERIALES Y MÉTODOS

Origen de las muestras

Las larvas de *S. sanguineus* utilizadas para esta investigación fueron recolectadas dentro del desarrollo de tres proyectos de investigación (Fondecyt 1100424; Fondecyt 1120868; FACIMAR UV), todos realizados en el litoral central de Chile en las zonas de El Quisco (33°24'S - 71°43'W) y Montemar (35°57'S - 71°33'W), a menos de 1 km de la costa, recolectadas con una red bongo de 60 cm de diámetro y malla de 300 µm, equipada con un flujómetro TSK para estimar el volumen filtrado de la red. En todos los muestreos se realizaron lances oblicuos desde 20 m de profundidad hasta la superficie. Las muestras fueron fijadas en formalina al 5% tamponeada con borato de sodio, a bordo de la embarcación y antes de 24 h fueron preservadas en etanol al 96%. Por otro lado, los juveniles que se utilizaron en este estudio fueron recolectados manualmente en la zona intermareal de la localidad de Las Cruces (33°29'46'S – 71°37'39'W) utilizando una red de acuario de 13x10 cm de apertura y malla de 1 mm y se les suministró una sobredosis de benzocaína (BZ-20) para luego fijarlos en formalina y antes de 24 h preservarlos en etanol.

Trabajo en laboratorio y obtención de datos

Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Ictioplancton (LABITI) de la Facultad de Ciencias del Mar y de Recursos Naturales de la Universidad de Valparaíso. Las larvas de *S. sanguineus* se identificaron según Pérez (1981). Para examinar en detalle los organismos se utilizó una lupa estereomicroscópica Olympus SZ-61 conectada a una cámara Moticam 2500 de 5.0 Mpx para fotografiarlos, luego se midieron utilizando el programa

Motic Images Plus 2.0. Se tomaron datos de la longitud corporal (LC), la cual se midió considerando las diferentes etapas del desarrollo. Para las larvas en preflexión se utilizó la longitud notocordal (LN), que corresponde a la extensión desde la punta del hocico hasta la punta del notocordo y para las larvas en flexión, posflexión y los juveniles se utilizó la longitud estándar (LE), la cual corresponde a la distancia entre la punta del hocico hasta el margen posterior de los radios hipurales.

Morfometría geométrica

Para poder realizar comparaciones del cambio en la forma durante el desarrollo del pejesapo *S. sanguineus* se utilizó morfometría geométrica basada en landmarks. Los 159 individuos utilizados para este estudio fueron fotografiados y divididos en 4 grupos de tamaño (Tabla 1), para poder realizar comparaciones. Luego se creó una configuración de 10 landmarks, la cual se aplicó a todos los organismos (Fig. 1). Posteriormente, se creó una base de datos utilizando el programa TpsUtil (versión 1.58, FJ Rohlf). Después se digitalizaron los landmarks con el programa TpsDig (versión 2.17, FJ Rohlf) y se estimó el error de digitalización mediante un Procrustes ANOVA, el cual se aplicó a 25 individuos. A continuación, las coordenadas obtenidas para cada individuo fueron centradas, escaladas y rotadas para obtener la figura consenso, usando el análisis de Procustes generalizado (MorphoJ, versión 1.05f, Klingenberg 2011). Estas nuevas coordenadas son las que se utilizaron para las futuras comparaciones estadísticas. En seguida, se realizó una regresión entre la longitud corporal (LC) y el tamaño del centroide (TC) para determinar si es posible utilizar el TC como reflejo del tamaño de los organismos en los posteriores análisis. Se observó cómo varía la ocurrencia de cambios morfométricos y se estimó la alometría a través

de una regresión multivariada de la forma (Coordenadas de Procrustes) con el tamaño del centroide (Klingenberg & Marugán-Lobón 2013). Además, se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP), para identificar los principales ejes de cambio en la forma y qué modificaciones específicas en el cuerpo de las larvas (reflejados como movimientos de landmarks) explican la variabilidad en los datos (MorphoJ, versión 1.05f, Klingenberg 2011). A los gráficos de ACP se les agregaron grillas de deformación y wireframes para presentar visualmente los cambios de forma que ocurren durante el desarrollo temprano de *S. sanguineus* (Klingenberg 2013).

Tabla 1. Grupos de tamaño utilizados para los análisis de morfometría geométrica y de la dieta de *S. sanguineus*.

Grupo	Longitud corporal (mm)
1	<8
2	8-12
3	12-16
4	>16

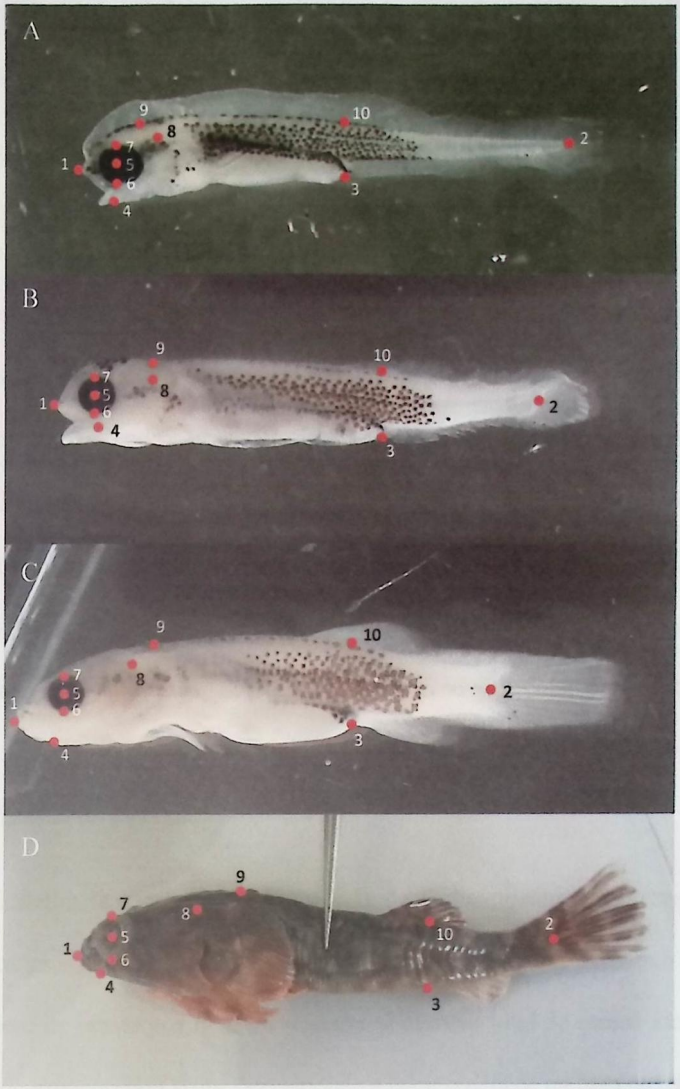


Figura 1. Posición de los landmarks en larvas en preflexión (A), flexión (B), postflexión (C) y juveniles (D) de *S. sanguineus*, donde 1: Punta del hocico, 2: Parte posterior del cuerpo, 3: Ano, 4: Parte inferior de la premaxila, 5: Centro del ojo, 6 y 7: Borde superior e inferior del

ojo, 8: Final de la cabeza, 9: Inserción del opérculo y 10: Dorsal sobre el ano, 90° respecto de landmark del ano (LM 3).

Análisis de datos

Utilizando un par de agujas entomológicas se procedió a separar el tracto digestivo del resto del cuerpo de cada individuo, el cual se abrió longitudinalmente para examinar el contenido. Posteriormente, las presas encontradas fueron contadas e identificadas hasta el nivel taxonómico más bajo posible usando un microscopio óptico Motic BA410 con una cámara digital acoplada Moticam 5 de 5.0 Mpx. Además con el programa Motic Images Plus 2.0 se capturaron imágenes para obtener las medidas corporales de cada presa (largo y ancho máximo en µm). El volumen (mm^3) de cada presa se calculó según las ecuaciones sugeridas por Cass-Calay (2003) y Sun & Liu (2003). En el caso particular de los copépodos, las mediciones corporales sólo consideraron el prosoma, ya que el urosoma generalmente está ausente (Landaeta *et al.* 2011).

Para describir la composición de la dieta de *S. sanguineus*, las presas encontradas fueron clasificadas según ítems alimentarios y se determinó: el índice numérico (%N), el cual indica el número de presas por ítem en relación al número total de presas identificadas, la frecuencia de ocurrencia (%FO) que corresponde a la presencia de un ítem en relación al total de los estómagos analizados y el índice volumétrico (%V), el cual señala la proporción entre el volumen del ítem alimentario y el volumen total de todo los ítems encontrados. Luego se calculó el índice de importancia relativa (IIR) para cada ítem presa con la siguiente ecuación: IIR = (%N + %V) x %FO. Finalmente, con el resultado del IIR se calculó el IIR% para cada

ítem, el cual corresponde a la proporción entre el IIR de un ítem alimentario en particular, en relación al IIR total de todos los ítems (Cortés 1997).

Se calculó la incidencia alimentaria (IA) en la dieta, que corresponde al porcentaje de individuos que presentan algún contenido en su tracto digestivo con respecto al número total de organismos examinados (Sassa & Kawaguchi 2004). Este cálculo se realizó para cada grupo de tamaño con el fin de establecer si el forrajeo es más exitoso a medida que avanza el desarrollo. Aplicando tablas de contingencia se determinó si existen diferencias significativas en la IA a medida que aumenta el tamaño de los individuos.

Para estimar el éxito alimentario se utilizaron tres indicadores: el número total de presas por estómago (NPPE), el volumen total de presas por estómago (VTPE) y el ancho máximo de la presa (AMP) (Reiss *et al.* 2002, Landaeta *et al.* 2011). Los datos de longitud corporal (LC) fueron divididos en cuatro grupos de tamaño (Tabla 1) para establecer si existe alguna relación entre el éxito alimentario (medido utilizando los índices mencionados anteriormente) y el tamaño de los organismos en estudio. Primero se determinó si los datos de LC, NPPE, VTPE y AMP eran normales (con test de Shapiro-Wilks, Lillieford y/o Kolmogorov-Smirnov). Para determinar si existe relación entre LC y el éxito alimentario, se realizaron correlaciones entre el NPPE versus longitud, entre VTPE versus la longitud y entre AMP versus la longitud, para los datos con distribución normal se lleva a cabo una correlación de Pearson (r) y en caso de que no haya normalidad se realiza una correlación de Spearman (rs). En aquellas correlaciones significativas se evaluó la relación entre el éxito alimentario y la longitud, para comparar los grupos de tamaño, utilizando un ANCOVA de una vía o un test de Kruskal-Wallis, dependiendo si los datos siguieron distribución normal

o no. Para las correlaciones significativas además se realizó una regresión lineal simple para estimar la tasa de cambio de los indicadores de éxito alimentario con la longitud.

También se estimó la amplitud del nicho trófico (ANT), que permite definir si a medida que crece el individuo es capaz de ingerir presas de mayor tamaño. Para esto, los datos de LC fueron divididos en rangos de tamaño de 0,5 mm (los rangos que tuvieron menos de tres ítems presa no se consideraron para el análisis) y se calculó el promedio y la desviación estándar (DE) del logaritmo en base 10 (log10) del ancho de cada pesa para cada rango de tamaño. La DE del logaritmo del ancho de las presas fue considerada como una medida de amplitud del nicho trófico. Se utilizó una regresión lineal simple para determinar la relación entre la LC y el promedio y DE del logaritmo del tamaño de las presas (Pearre 1986).

Por último, se realizó un Escalamiento No Métrico Multidimensional (NMDS), según lo descrito por Landaeta *et al.* (2014), para visualizar gráficamente los grupos generados por diferencias en la composición de la dieta (según el número de presas de cada ítems ingerido). Se realizó además un PERMANOVA para determinar si existen diferencias significativas entre los grupos y por último un Análisis de Similitud Porcentual (SIMPER) para establecer qué taxa dentro de la composición de la dieta de los organismos generan dichas diferencias (Ochoa-Muñoz *et al.* 2013).

Relación morfometría y dieta

Para relacionar las variaciones morfométricas y los cambios en la alimentación de los individuos de *S. sanguineus* se llevó a cabo un análisis de mínimos cuadrados parciales

(PLS), el cual utiliza matrices de covarianza para cuantificar el grado de integración de dos bloques de variables (Klingenberg & Ekau 1996). En este caso el Bloque 1 fueron los cambios de forma y el Bloque 2 los cambios en la composición de la dieta. Además se realizó una correlación entre ambos bloques para determinar si la ocurrencia de estos cambios, morfométricos y alimentarios, se encuentran acoplados.

RESULTADOS

Morfometría Geométrica

Los resultados del Procrustes ANOVA mostraron que el error de digitalización fue bajo, alcanzando solo un 1,91% (Tabla 2). La regresión entre la longitud corporal y el tamaño del centroide (TC) fue significativa y el porcentaje de predicción fue de 99,55% ($P<0,001$; $R^2=0,9955$), por lo cual se puede utilizar el TC para posteriores análisis como un reflejo del tamaño de los individuos en estudio (Fig.2).

Tabla 2. Resultados del Procrustes ANOVA para la estimación del error de digitalización de los landmarks en los individuos de *S. sanguineus*. Donde SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrados medios y g.l: Grados de libertad.

Efecto	SC	CM	g.l	F	P
Individuo	0,523	1,362E-03	384	52,19	<0,0001
Error	0,010	2,609E-05	400		

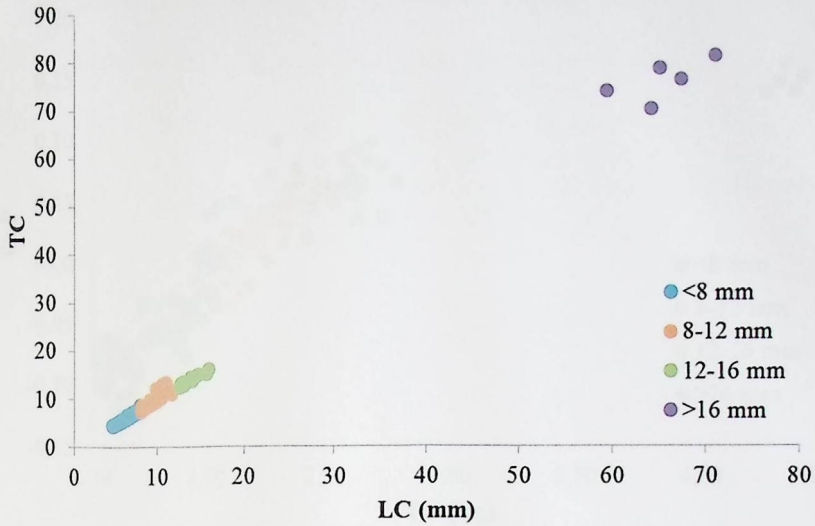


Figura 2. Regresión entre el tamaño del centroide (TC) y la longitud corporal (LC) de los cuatro grupos de tamaño de *S. sanguineus*.

Una vez realizados los Análisis de Procrustes, se encontró que la regresión entre las Coordenadas de Procrustes (CoP) y el logaritmo del tamaño del centroide (TC log) fue positiva y significativa ($P<0,001$; $R^2=0,741$) y el porcentaje de cambios explicados por alometría fue de 18,50%. El crecimiento alométrico ocurrió temprano en el desarrollo ontogenético, hasta los 12 mm LC aproximadamente (grupos 1 y 2). Posterior a ese tamaño, en los individuos de los grupo 3 y 4, comienza un crecimiento isométrico de los individuos, es decir, dejan de cambiar de forma y solo incrementan su tamaño, ya que la curva de ocurrencia de cambios se estabiliza (Fig. 3).

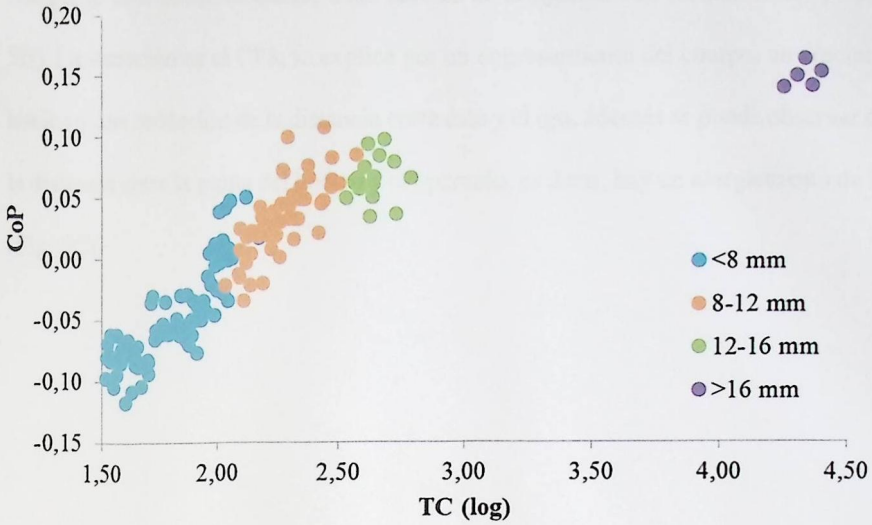


Figura 3. Regresión entre las Coordenadas de Procrustes (CoP) y el logaritmo del tamaño del centroide (TC log) para observar ocurrencia de cambios morfométricos y alometría durante el desarrollo ontogenético temprano de *S. sanguineus*.

En cuanto a los ejes de cambios morfométricos, en el análisis de componentes principales se observó que los cambios se producen en tres ejes más importantes (Fig. 4). El porcentaje de varianza para CP1, CP2 y CP3 fue de 49,69%, 25,88% y 5,88% respectivamente, explicando en su conjunto el 81,45% de la varianza total. La variación a lo largo del CP1 se explica principalmente por un alargamiento del tracto digestivo y un engrosamiento del cuerpo de la larva en general, es decir, adquieren cuerpos más robustos a medida que aumentan su longitud (Fig. 5A). La variación en el CP2 se explica por un aplanamiento de la cabeza, observable a través de un desplazamiento ventral tanto del hocico como del ojo a medida que avanza el desarrollo, además en este componente es posible observar una flexión hacia abajo, tanto de la punta del hocico como del extremo posterior del

cuerpo, lo cual puede atribuirse a los efectos de la fijación con formaldehído y etanol (Fig. 5B). La variación en el CP3, se explica por un engrosamiento del cuerpo, un crecimiento del hocico y una reducción de la distancia entre éste y el ojo, además se puede observar que crece la distancia entre la punta del hocico y el opérculo, es decir, hay un alargamiento de la cabeza (Fig. 5C).

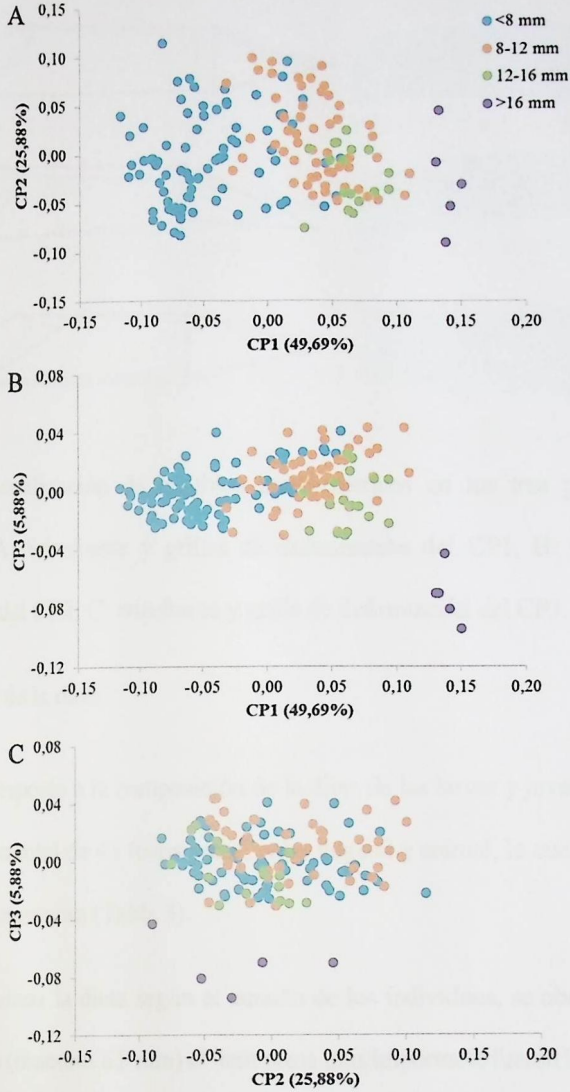


Figura 4. Análisis de componentes principales para observar los principales ejes de cambios morfométricos a lo largo del desarrollo ontogenético de *S. sanguineus*.

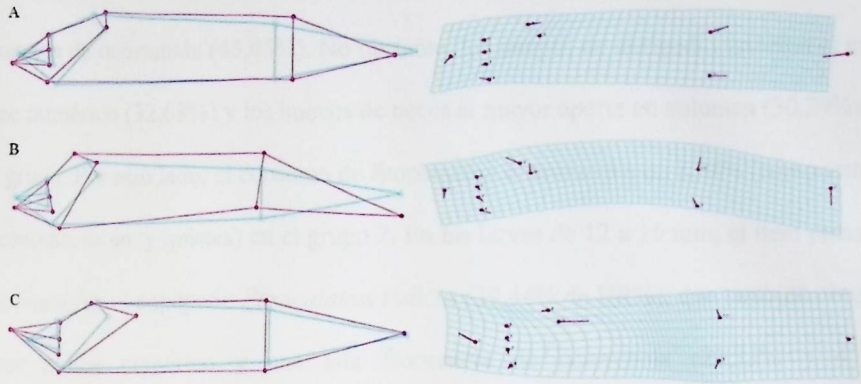


Figura 5. Visualización de cambios morfométricos en los tres primeros componentes principales. A: wireframe y grillas de deformación del CP1; B: wireframe y grilla de deformación del CP2; C: wireframe y grilla de deformación del CP3.

Composición de la dieta

Con respecto a la composición de la dieta de las larvas y juveniles de *S. sanguineus*, se encontró un total de 43 ítems presa, entre vegetal y animal, lo cual indica que tienen una dieta de tipo omnívora (Tabla 3).

Al analizar la dieta según el tamaño de los individuos, se observó que en las larvas más pequeñas (menores a 8 mm) el ítem presa más importante fueron los nauplii de copépodo (42,45% de IIR%), ya que aparecieron con el mayor índice numérico (29,36%), volumétrico (15,31%) y de frecuencia de ocurrencia (62,20%). Sin embargo, otros ítems importantes para las larvas del grupo 1 fueron los nauplii de cirripedio con alto índice numérico y volumétrico (18,73% y 14,65%, respectivamente) y los quistes de dinoflagelados que alcanzaron un 13,85% de IIR% y un %F de 39,02%. Para las larvas de 8 a 12 mm los nauplii de copépodo

fueron la presa más importante (31,85% de IIR%) alcanzando también el mayor índice de frecuencia de ocurrencia (45,45%). No obstante, los nauplii de cirripedio tuvieron el mayor índice numérico (32,68%) y los huevos de peces el mayor aporte en volumen (30,29%) para este grupo. Por otro lado, el consumo de fitoplancton disminuyó a un 8,34% (compuesto por *Coscinodiscus* sp. y quistes) en el grupo 2. En las larvas de 12 a 16 mm, el ítem presa más importante fue el copépodo *Paracalanus indicus* (39,44% de IIR%), que también obtuvo el mayor índice numérico y una alta frecuencia de ocurrencia (23,33% y 47,06% respectivamente). Otras presas importantes para el grupo 3 fueron las larvas de gasterópodos, con el mayor índice volumétrico (47,57%) y los restos de copépodo que tuvo la mayor frecuencia de ocurrencia (52,94%). Sin embargo, en este grupo disminuyó aún más el consumo de fitoplancton, llegando a un 0,48% de IIR%. Finalmente, dentro de la dieta de los juveniles el ítem de mayor importancia fueron los restos digeridos (61,98%), con un bajo índice numérico (23,26%), pero un alto índice volumétrico (93,55%), junto con los restos de algas rojas (25,49%), que tuvieron un alto índice numérico (46,51%) y un bajo índice volumétrico (1,53%) (Tabla 3 y Fig. 6).

Incidencia alimentaria y éxito alimentario

La larva más pequeña que presentó contenido estomacal fue de 4,58 mm. El resultado de las tablas de contingencia, mostró que en todos los grupos hubo un alto porcentaje (entre 80% y 94,12%) de individuos con contenido estomacal (Tabla 4). No se encontraron diferencias significativas en la incidencia alimentaria entre los grupos de tamaño estudiados (χ^2=0,974; P=0,807), es decir, el éxito en el forrajeo fue independiente del tamaño en los primeros estados de desarrollo del pejesapo *S. sanguineus*.

Tabla 3. Composición de la dieta de *S. sanguineus* según grupo de tamaño.

Ítem presa	Grupo 1 (<8 mm)				Grupo 2 (8-12 mm)				Grupo 3 (12-16 mm)				Grupo 4 (>16 mm)			
	%N	%V	%FO	%IIR	%N	%V	%FO	%IIR	%N	%V	%FO	%IIR	%N	%V	%FO	%IIR
Algas																
Microalgas																
Coscinodiscus sp.	-	-	-	-	0,14	0,02	1,82	0,01	-	-	-	-	-	-	-	-
Quiste dinoflagelado	9,48	13,75	39,02	13,85	8,21	2,04	32,73	8,33	1,67	0,13	11,76	0,48	-	-	-	-
Macroalgas																
Chlorophyta	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,33	0,17	20,00	0,66
Rhodophyta	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	46,51	1,53	40,00	25,49
Phaeophyceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,98	0,33	40,00	3,88
Tintinnida																
Favella sp.	-	-	-	-	0,14	0,00	1,82	0,01	-	-	-	-	-	-	-	-
Huevo de invertebrado	11,10	2,15	32,93	6,67	1,25	0,04	3,64	0,12	-	-	-	-	-	-	-	-
Larva cifonauta	1,04	4,69	3,66	0,32	0,56	0,32	5,45	0,12	0,42	0,09	5,88	0,07	-	-	-	-
Larva de poliqueto	0,12	0,09	1,22	0,00	0,42	0,65	1,82	0,05	-	-	-	-	4,65	0,09	40,00	2,51
Copepoda																
Huevo *Acartia tonsa*	2,08	0,36	9,76	0,36	0,70	0,02	3,64	0,06	-	-	-	-	-	-	-	-
Nauplii copépodo	29,36	15,31	62,20	42,45	25,03	3,16	45,45	31,85	23,33	1,21	17,65	9,82	-	-	-	-
Metanauplii copépodo	3,12	5,26	17,07	2,19	2,36	0,89	18,18	1,47	-	-	-	-	-	-	-	-
Copepodito Calanoida	0,35	1,56	3,66	0,11	0,14	0,18	1,82	0,01	0,42	0,15	5,88	0,08	-	-	-	-
Copepodito Cyclopoida	0,69	0,93	4,88	0,12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Copepodito *Acartia tonsa*	0,12	0,09	1,22	0,00	0,28	0,22	3,64	0,05	-	-	-	-	-	-	-	-
Copepodito *Aetideus armatus*	-	-	-	-	-	-	-	-	0,42	0,26	5,88	0,09	-	-	-	-
Copepodito *Paracalanus indicus*	1,39	3,14	10,98	0,76	2,23	2,72	9,09	1,12	0,83	0,33	5,88	0,16	-	-	-	-
Copopodito *Oncaea* sp.	0,35	0,32	3,66	0,04	0,42	0,14	3,64	0,05	-	-	-	-	-	-	-	-
Paracalanus indicus	0,46	4,50	3,66	0,28	2,09	4,03	12,73	1,94	23,33	13,65	47,06	39,44	-	-	-	-
Oncaea sp.	0,35	1,17	3,66	0,08	0,70	1,21	9,09	0,43	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 3. Continuación.

Ítem presa	Grupo 1 (<8 mm)				Grupo 2 (8-12 mm)				Grupo 3 (12-16 mm)				Grupo 4 (>16 mm)			
	%N	%V	%FO	%IIR	%N	%V	%FO	%IIR	%N	%V	%FO	%IIR	%N	%V	%FO	%IIR
Sappirina nigromaculata	-	-	-	-	-	-	-	-	0,42	2,01	5,88	0,32	-	-	-	-
Zaus sp.	0,23	0,13	2,44	0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Euterpina acutifrons	0,46	0,17	1,22	0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Microsetella rosea	-	-	-	-	0,56	0,05	1,82	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-
Resto de nauplii	7,86	4,03	37,80	6,87	2,64	0,44	18,18	1,39	2,08	0,06	17,65	0,86	-	-	-	-
Resto de copepodito	0,58	0,43	6,10	0,09	0,83	0,36	10,91	0,32	0,83	0,37	5,88	0,16	-	-	-	-
Resto de copépodo	3,58	7,75	15,85	2,74	4,59	8,76	21,82	7,24	9,58	6,54	52,94	19,34	-	-	-	-
Cirripedia																
Nauplii cirripedio	18,73	14,65	32,93	16,79	32,68	5,16	25,45	23,95	18,33	0,93	11,76	5,14	-	-	-	-
Metanauplii cirripedio	0,12	0,17	1,22	0,01	1,53	0,51	7,27	0,37	3,75	0,94	11,76	1,25	-	-	-	-
Larva Cypris	-	-	-	-	1,81	5,88	10,91	2,08	2,92	3,61	17,65	2,61	-	-	-	-
Isopoda	-	-	-	-	0,14	0,01	1,82	0,01	-	-	-	-	-	-	-	-
Euphausiacea																
Metanauplii eufausido	0,12	0,75	1,22	0,02	0,14	0,51	1,82	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-
Larva calyptopis I	-	-	-	-	0,28	0,51	3,64	0,07	-	-	-	-	-	-	-	-
Bivalvia																
Larva de bivalvo	1,27	1,65	13,41	0,60	0,83	0,16	9,09	0,22	-	-	-	-	-	-	-	-
Perumytilus purpuratus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,33	1,07	20,00	0,90
Gastropoda																
Larva de gasterópodo	2,89	7,29	23,17	3,60	4,73	3,99	18,18	3,94	8,33	47,57	11,76	14,91	-	-	-	-
Gasterópodo no identificado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,33	0,11	20,00	0,65
Siphonarioidea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9,30	2,29	20,00	3,08
Pisces																
Huevo de pez	-	-	-	-	1,25	30,29	12,73	9,98	0,83	8,27	11,76	2,43	-	-	-	-
Huevo *Engraulis ringens*	0,23	1,80	1,22	0,04	0,28	5,46	1,82	0,26	-	-	-	-	-	-	-	-
Huevo *Normanichthys crockeri*	-	-	-	-	0,42	8,11	1,82	0,39	0,83	9,10	5,88	1,32	-	-	-	-
Resto quitinoso	2,54	2,89	17,07	1,42	0,97	0,44	9,09	0,32	-	-	-	-	-	-	-	-
Restos digeridos	0,92	3,58	7,32	0,50	1,39	11,85	10,91	3,59	1,25	3,81	11,76	1,35	23,26	93,55	40,00	61,98
No identificado	0,46	1,39	2,44	0,07	0,28	1,86	3,64	0,19	0,42	0,96	5,88	0,18	2,33	0,87	20,00	0,85

Tabla 4. Porcentaje de incidencia alimentaria según rango de tamaño. Donde SC: sin contenido, CC: con contenido, %IA: porcentaje de incidencia alimentaria.

Rango de tamaño (mm)	CC	SC	%IA
<8	75	7	91,46
8 a 12	50	5	90,91
12 a 16	16	1	94,12
>16	4	1	80,00

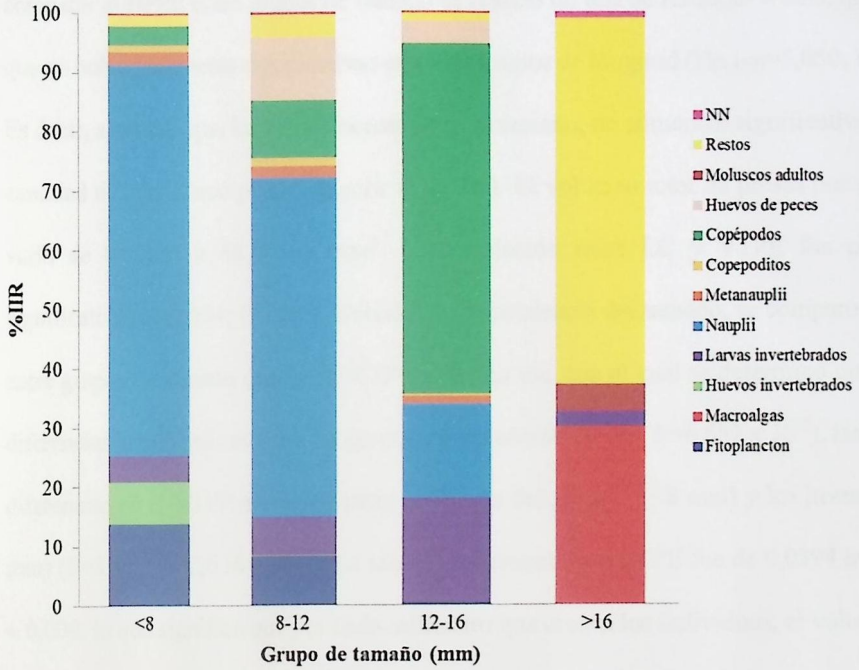


Figura 6. Índice de importancia relativa porcentual (%IIR) de las presas ingeridas por *S. sanguineus* durante su desarrollo ontogenético temprano, según grupo de tamaño.

Los datos de longitud corporal (LC), número de presas por estómago (NPPE), volumen total de presas por estómago (VTPE) y ancho máximo de las presas (AMP), no tuvieron distribución normal (test Shapiro-Wilk, $W>0,116$; $P<0,05$).

El rango de número de presas por estómago fue de 0 a 105, con un promedio de 11,91 ± 15,12 presas por estómago (excluyendo los ceros). La correlación entre LC y NPPE no fue significativa ($rs=-0,129$; $P>0,05$), por lo tanto ambas variables fueron independientes. Para comparar el NPPE entre grupos de tamaño se realizó un test de Kruskal-Wallis, que mostró que no hubo diferencias significativas entre los grupos de longitud ($H_{(3,159)}=5,050$; $P=0,168$). Es decir, a medida que las larvas incrementan su tamaño, no aumentan significativamente la cantidad de presas que pueden ingerir (Fig. 7A). El volumen total de presas por estómago varió de 0,00055 a 58,34191 mm^3. La correlación entre LC y VTPE fue positiva y significativa ($rs=0,534$; $P<0,05$). Debido a la dependencia del tamaño, se comparó el VTPE entre grupos de tamaño con un ANCOVA de una vía, con el cual se determinó que sí hubo diferencias significativas entre los grupos de tamaño ($F=11,61$; $P=6,657 \times 10^{-7}$), las mayores diferencias en el VTPE se dieron entre las larvas del grupo 1 (<8 mm) y los juveniles (>16 mm) ($F=31,39$; $P=2,616 \times 10^{-7}$). La tasa de incremento del VTPE fue de 0,0394 $mm^3\ mm^{-1}$ ± 0,009, lo que significa que por cada milímetro que crecen los individuos, el volumen total de presas ingeridas aumentó en 0,0394 mm^3 (Fig. 7B), esto para todo el rango de tamaños. El rango de ancho de las presas fue de 19,83 a 4987,07 µm. Al igual que como ocurrió con el VTPE, la correlación entre LC y AMP fue positiva y significativa ($rs=0,447$; $P<0,05$). Sin embargo, el ANCOVA de una vía mostró que no hubo diferencias significativas entre los grupos de longitud ($F=2,58$; $P=0,051$). La tasa de incremento de AMP fue de 16,059 ± 0,491

µm mm^{-1}, lo cual quiere decir que por cada milímetro que crecen los organismos, el ancho máximo de las presas que ingieren aumenta en 16,059 µm (Fig. 7C).

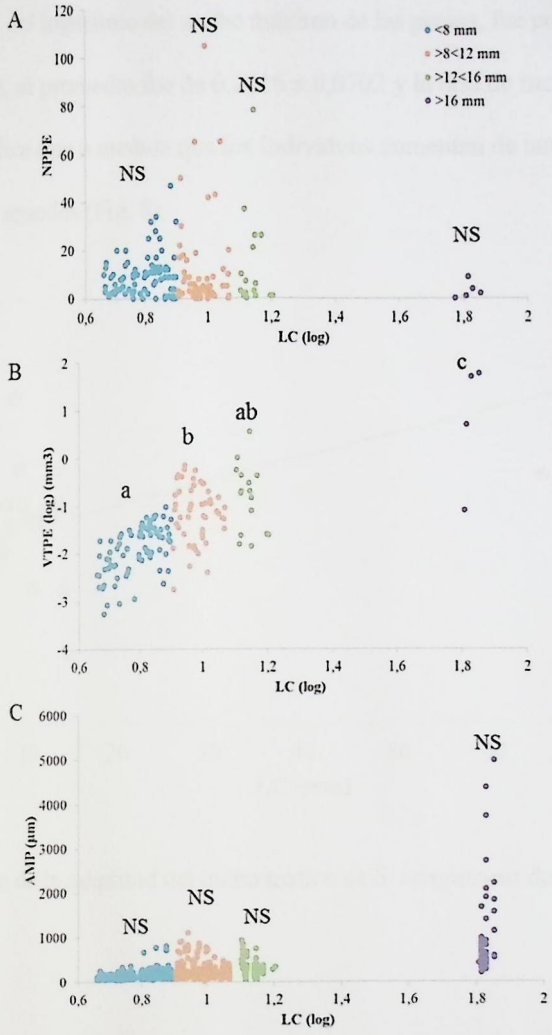


Figura 7. Relación entre éxito alimentario y tamaño de los ejemplares de *S. sanguineus* analizados. A: Número de presas por estómago (NPPE) y LC; B: Volumen total de presas por estómago (VTPE) y LC; C: Ancho máximo de la presa (AMP) y LC. NS: no significativo.

Amplitud del nicho trófico

En cuanto a la amplitud del nicho trófico, la correlación entre el tamaño de los individuos y la DE del logaritmo del ancho máximo de las presas, fue positiva y significativa ($rs=0,418$; $P<0,05$), el promedio fue de $0,2016 \pm 0,0702$ y la tasa de incremento de $0,0022 \pm 0,0006$. Esto significa que a medida que los individuos aumentan de tamaño, son capaces de ingerir presas más grandes (Fig. 8).

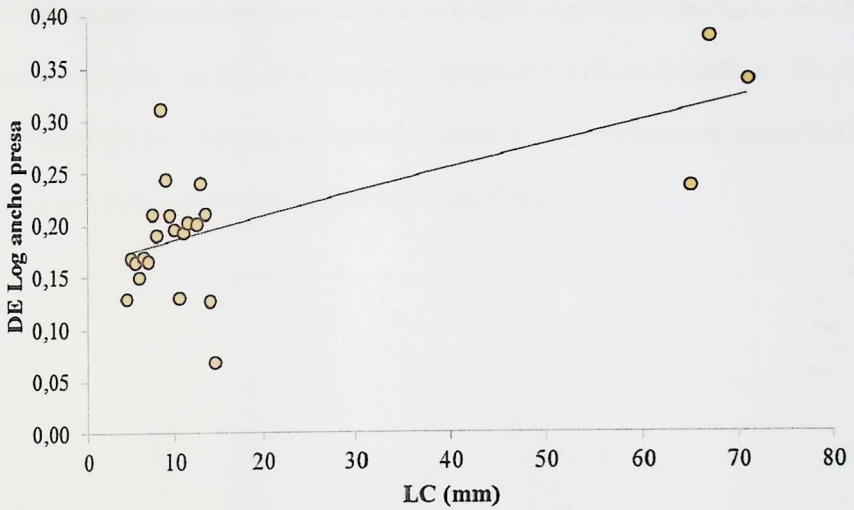


Figura 8. Variación de la amplitud del nicho trófico de *S. sanguineus* durante su crecimiento.

Cambios ontogenéticos de la dieta

Al visualizar los grupos mediante el NMDS (realizado según los ítems presa ingeridos) se observan todos los grupos superpuestos y es difícil diferenciarlos (Fig. 9). Sin embargo el resultado del PERMANOVA mostró que si hubo diferencias significativas entre la composición de la dieta de los distintos grupos (pseudo-F= 4,319; P=0,0001). Esto sugiere que la composición de la dieta fue distinta para cada grupo de tamaño. Los resultados del SIMPER mostraron que la mayor disimilitud en la dieta se produce entre las larvas del grupo 1 (menores a 8 mm) y los juveniles (mayores a 16 mm) (99,31% de disimilitud). No obstante, se determinó que todos los grupos estudiados tenían altos porcentajes de disimilitud (sobre el 80%) en la dieta, incluso entre grupos contiguos (Tabla 5).

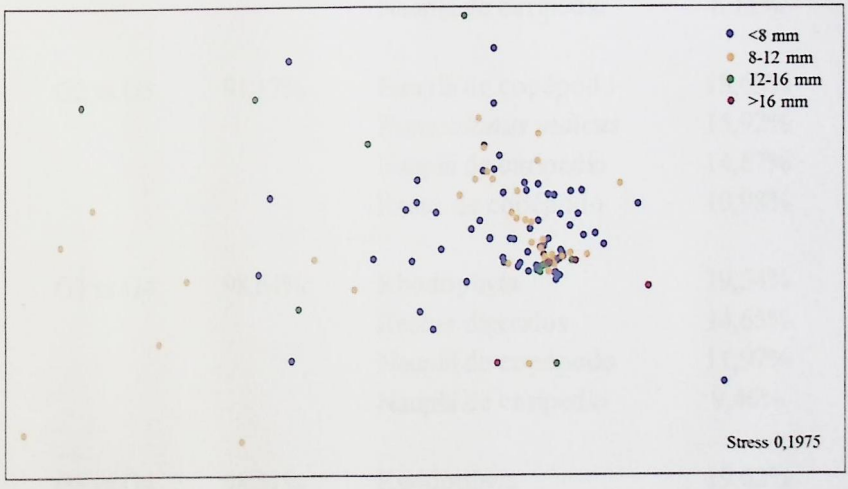


Figura 9. Análisis de escalamiento no métrico multidimensional (NMDS) de los ítems presas ingeridos por *S. sanguineus* durante su desarrollo ontogenético temprano, según grupo de tamaño.

Tabla 5. Resultados del análisis de similitud porcentual (SIMPER) para los 4 grupos de tamaño de *S. sanguineus*.

Grupos	% Disimilitud	Taxa	% Contribución
G1 vs G2	86,13%	Nauplii de copépodo	22,32%
		Nauplii de cirripedio	17,83%
		Quiste dinoflagelado	7,81%
		Huevo de invertebrado	7,54%
G1 vs G3	94,33%	Nauplii de copépodo	21,32%
		Paracalanus indicus	13,74%
		Nauplii de cirripedio	13,24%
		Resto de copépodo	9,21%
G1 vs G4	99,31%	Rhodophyta	18,64%
		Nauplii de copépodo	15,23%
		Restos digeridos	12,87%
		Nauplii de cirripedio	8,11%
G2 vs G3	91,17%	Nauplii de copépodo	18,63%
		Paracalanus indicus	15,92%
		Nauplii de cirripedio	14,87%
		Resto de copépodo	10,98%
G2 vs G4	98,64%	Rhodophyta	19,54%
		Restos digeridos	14,65%
		Nauplii de copépodo	11,97%
		Nauplii de cirripedio	9,46%
G3 vs G4	98,51%	Rhodophyta	19,62%
		Restos digeridos	15,17%
		Paracalanus indicus	14,22%
		Resto de copépodo	8,83%

Relación morfometría y dieta

El resultado del PLS (mínimos cuadrados parciales) arrojó que si hubo covarianza entre los cambios en la forma y los cambios en la composición de la dieta (RV=0,0407; P=0,015) y el PLS1 explicó un 89,17% de la covarianza. Debido a esto solo se utilizó este eje para visualizar la variación entre bloques (Fig. 10). La correlación entre las variaciones morfométricas (Bloque 1) y los cambios en la alimentación (Bloque 2) fue baja, aunque significativa (R=0,2362; P=0,0027). Esto significa que los cambios morfométricos no están acoplados con los cambios en la alimentación, es decir, que no ocurren simultáneamente durante el proceso de cambio de hábitat (de pelágico a bentónico) que experimenta el pejesapo *S. sanguineus* en sus primeras etapas de vida.

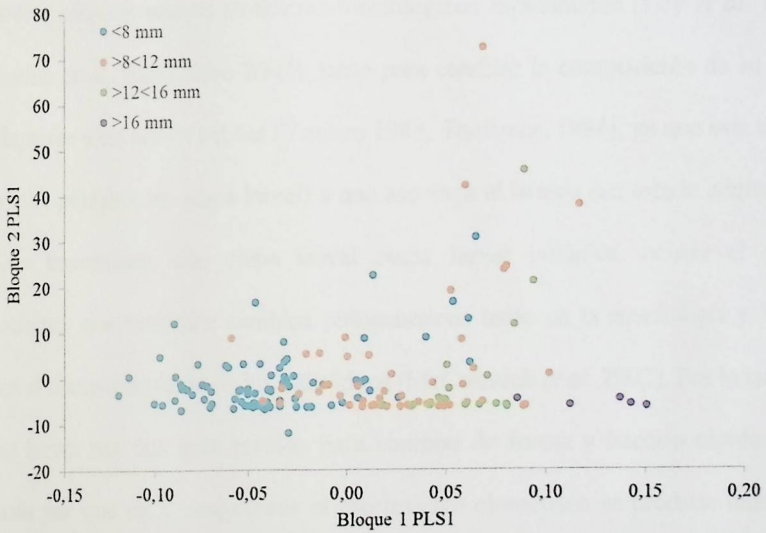


Figura 10. Resultado del PLS al comparar los bloques de cambios morfométricos (Bloque 1) y de composición de la dieta (Bloque 2) respecto del PLS1.

DISCUSIÓN

Morfometría geométrica

La trayectoria de los cambios morfométricos durante el desarrollo temprano de *S. sanguineus* mostró dos etapas. En la primera de ellas (hasta los 12 mm) la ocurrencia de cambios morfométricos va aumentando considerablemente y se observa un crecimiento alométrico, donde un cambio en tamaño se corresponde con un cambio en la forma de los individuos (Russo *et al.* 2009). Luego viene una segunda etapa, caracterizada por una estabilización de la curva de ocurrencia de cambios, por lo tanto el crecimiento pasaría a ser isométrico (Loy *et al.* 1998, Russo *et al.* 2009). Esta alta tasa de cambios de forma en la primera etapa del crecimiento podría deberse a que los individuos más pequeños necesitan comenzar a adquirir nuevos caracteres morfológicos rápidamente (Loy *et al.* 1998, 2001, McCormick *et al.* 2002, Urho 2002), tanto para cambiar la composición de su dieta como para adaptarse a un nuevo hábitat (Youson 1988, Thorisson 1994), ya que esta especie pasa de una vida pelágica (en etapa larval) a una asociada al bentos (en estado adulto). Además, en peces bentónicos, con etapa larval etapa larval pelágica, ocurre el proceso de asentamiento, que involucra cambios ontogenéticos tanto en la morfología y la fisiología como en el comportamiento de los individuos (McCormick *et al.* 2002). Por lo tanto, durante la etapa larval hay una gran presión para cambiar de forma y hacerlo rápidamente. Esto explicaría por qué en *S. sanguineus* el crecimiento alométrico se produce temprano en el desarrollo.

En otros estudios de ecomorfología en peces con ciclos de vida que incluyen una etapa de dispersión larval pelágica seguida de una etapa sedentaria en estado adulto, obtuvieron resultados similares a esta tesis, en cuanto a la trayectoria de los cambios morfométricos, ya que han descrito curvas de crecimiento de dos etapas, registrando altas tasas de cambio de forma para individuos pequeños (crecimiento alométrico), la cual decrece con el tamaño (Loy *et al.* 1998, 2001, Russo *et al.* 2007, 2009). Además, Loy *et al.* (1998) sugieren que los cambios morfométricos estarían ligados a cambios en la ecología de los peces, lo cual coincide con lo observado en este trabajo. Cabe destacar que el patrón alométrico de cambio de forma para *S. sanguineus* se diferencia de lo descrito por Zavala-Muñoz *et al.* (aceptado) para *Myxodes viridis*, especie que también habita en la costas de Chile y cuya forma corporal se modifica de manera continua durante todo el desarrollo larval.

En el presente estudio se determinó que los mayores cambios en forma en *S. sanguineus* se producen muy temprano en el desarrollo (desde la eclosión hasta los 12 mm de longitud estándar), previo al cambio de hábitat que experimenta esta especie. Esto es contrario a lo que sucede en otras especies de peces, donde los mayores cambios en forma se dan en el rango de tamaño en el que ocurre la transición de hábitat (e.g. Loy *et al.* 1998, 2001) o incluso más tarde en el desarrollo (e.g. Frédérich *et al.* 2012). Sin embargo, estos resultados podrían variar, ya que en este estudio hay una fracción del desarrollo ontogenético temprano de *S. sanguineus* que no pudo ser registrada, debido a que esta especie tiene una duración de 2 meses aproximadamente en la columna de agua (Contreras *et al.* 2013) y un tamaño de asentamiento de unos 22 mm (Mansur *et al.* 2014). Por lo tanto es posible que

exista otro gradiente de ocurrencia de cambios en la forma de esta especie en individuos al momento de asentarse y cambiar de hábitat o justo después de su asentamiento.

Los cambios morfométricos observados en *S. sanguineus* estuvieron caracterizados principalmente por un alargamiento del tracto digestivo y un engrosamiento del cuerpo de los individuos, adquiriendo cuerpos más robustos a medida que crecieron, además de un alargamiento y aplanamiento de la cabeza y el crecimiento de la boca, quedando en posición subterminal. Estas modificaciones en la forma de *S. sanguineus* durante su desarrollo, son opuestas a lo descrito para *M. viridis*, especie con ciclo de vida similar, para la cual los principales cambios consistieron en un acortamiento de la cabeza (la distancia entre la punta del hocico y el opérculo disminuye) y un aumento de la altura de ésta (Zavala-Muñoz *et al.* aceptado). Además, contrario a lo que ocurre en el pejesapo, en dicha especie el hocico se acorta y queda en posición terminal y ocurre un acortamiento del intestino (Zavala-Muñoz *et al.* aceptado).

Por último, se observó que los individuos de *S. sanguineus* pasan de tener una forma delgada e hidrodinámica, adaptada a la vida pelágica en las larvas pequeñas, a una forma más robusta y con cuerpos más altos, adaptadas a una vida asociada al bentos (Russo *et al.* 2009).

Composición de la dieta

La dieta de las larvas y juveniles de *S. sanguineus* presentó una alta riqueza, ya que se encontró un total de 43 ítems presa, y fue omnívora, a diferencia de otros estados larvales de especies de peces bentónicos costeros como *Myxodes viridis* (31 ítems presa; Ochoa-Muñoz *et al.* 2013), *Patagonothothen tessellata* (14 ítems presa; Salas-Berrios *et al.* 2013) o

Auchenionchus variolosus (de 15 a 19 ítems presa; Vera-Duarte & Landaeta aceptado) que tienen una dieta de menor riqueza. Por otro lado, las larvas de *P. tessellata* son carnívoras estrictas (Salas-Berrios *et al.* 2013) y las de *M. viridis* experimentan cambios en la composición de la dieta a medida que avanza el desarrollo, variando de omnivoría a carnivoría (Ochoa-Muñoz *et al.* 2013). En cambio, en el caso de *S. sanguineus* la omnivoría se mantiene durante todo el desarrollo, dado principalmente por la presencia de quistes de fitoplancton durante toda la etapa larval, similar a lo que ocurre con *A. variolosus* (Vera-Duarte & Landaeta aceptado), y por el consumo de macroalgas en juveniles y adultos (Paine & Palmer 1978, Cancino & Castilla 1988, Muñoz & Ojeda 1997).

Por otro lado, durante el desarrollo temprano de este pejesapo se observaron cambios ontogenéticos en la composición de la dieta, ya que en la dieta de las larvas más pequeñas (<12 mm) el ítem más importante fueron los nauplii de copépodo y para las larvas más grandes (entre 12 y 16 mm) el ítem más importante fue el copépodo *Paracalanus indicus*. Esto demuestra que los distintos estadios de copépodos son parte fundamental de la dieta de las larvas de *S. sanguineus*, al igual que para otras especies de peces bentónicos costeros (Valenzuela *et al.* 1995, Balbontín *et al.* 1997, Ochoa-Muñoz *et al.* 2013, Salas-Berrios *et al.* 2013, Vera-Duarte & Landaeta aceptado). El copépodo *P. indicus* en particular, es una de las especies más abundantes en las costas de Chile central (Hidalgo *et al.* 2012, Pino-Pinuer *et al.* 2014) y se distribuye homogéneamente en los primeros 20 m de la columna de agua (Castro *et al.* 2007), lo cual permite que esté disponible para ser una presa importante en la dieta de las larvas de *S. sanguineus*, que se ha descrito que tiene un patrón de distribución de alta abundancia en zonas cercanas a la costa (Hernández-Miranda *et al.* 2003), y con

capacidad de natación que disminuye a medida que se acercan al tamaño de asentamiento (Faria & Gonçalves 2010). Debido a ello, las larvas de *S. sanguineus* de mayor tamaño no tendrían que nadar hacia la superficie de la columna de agua para encontrar este alimento, y por eso es tan abundante dentro del contenido estomacal de este grupo. Luego, en los juveniles que ya habitan en el mismo lugar que los adultos, los ítems de mayor importancia son los restos digeridos y las macroalgas, produciéndose otro cambio ontogenético en la dieta.

Incidencia alimentaria y éxito alimentario

La incidencia alimentaria fue alta (≥80%) durante todo el desarrollo ontogenético temprano de *S. sanguineus*, resultado similar a lo obtenido por Vera-Duarte & Landaeta (aceptado) para *A. variolosus*. Sin embargo, estos valores son mayores a lo registrado para otras especies que experimentan cambios de hábitat durante su desarrollo, como *H. sordidus*, *P. tessellata* y *M. viridis* (Balbontín *et al.* 1997, Salas-Berrios *et al.* 2013, Ochoa-Muñoz *et al.* 2013) y que además presentan un intestino enrollado (Balbontín & Pérez 1979, Zavala-Muñoz *et al.* aceptado), a diferencia de *S. sanguineus*, lo cual sugiere que el forrajeo es más exitoso en el pejesapo. Además, el éxito en el forrajeo se mantiene a lo largo del desarrollo temprano, resultado distinto al obtenido por Ochoa-Muñoz *et al.* (2013) quienes encontraron diferencias significativas en la dieta de las larvas de *M. viridis* según el estado de desarrollo.

El número de presas ingeridas resultó ser independiente de la longitud corporal, al igual que el ancho máximo de las presas. Esto es contrario a lo que encontraron Salas-Berrios *et al.* (2013) en *P. tessellata* y Vera-Duarte & Landaeta (aceptado) en *A. variolosus*, donde

sí hubo un incremento significativo del número y tamaño de las presas ingeridas al aumentar la longitud de las larvas. Sin embargo, el rango de número de presas por estómago varió de 0 a 105 en *S. sanguineus*, lo cual es mucho mayor a lo registrado para otras especies de peces costeros con ciclos de vida complejos, como *M. viridis*, *P. tessellata* y *A. variolosus* (Ochoa-Muñoz *et al.* 2013, Salas-Berrios *et al.* 2013, Vera-Duarte & Landaeta aceptado, respectivamente), lo que sumado a la alta riqueza de presas registradas en la dieta en este estudio, indicaría que los individuos de *S. sanguineus* son oportunistas y poco selectivos durante su desarrollo ontogenético temprano, al igual que como se ha descrito la alimentación para los individuos adultos de esta especie (Paine & Palmer 1978, Muñoz & Ojeda 1997)

Por otro lado, el volumen de las presas ingeridas si mostró una relación con la longitud corporal, ya que este aumenta con el tamaño. Esto indica que la estrategia de forrajeo consistiría en consumir presas de mayor volumen, y no una mayor cantidad de presas, a medida que las los individuos crecen, similar a lo que ocurre con *M. viridis* (Ochoa-Muñoz *et al.* 2013). Esto quiere decir que existe selección por tamaño de las presas. Este aumento en el volumen coincide con los resultados de la composición de la dieta, ya que al separarla por grupo se observa que los ítems presa de mayor importancia varían desde presas más pequeñas en larvas de menor tamaño a presas con mayor volumen en larvas más grandes y juveniles.

Amplitud del nicho trófico

En cuanto a la amplitud del nicho trófico, se determinó que esta incrementa a medida que los individuos aumentan de tamaño. Este resultado difiere con lo descrito para latitudes

medias y con lo definido para especies con ciclos de vida similares como *P. tessellata* y *A. variolosus*, donde se ha determinado que la amplitud del nicho trófico es independiente del tamaño (Llopiz 2013, Salas-Berrios *et al.* 2013, Vera-Duarte & Landaeta aceptado).

Relación morfometría y dieta

Al observar los resultados de este estudio, se puede establecer una relación entre los cambios morfométricos de las larvas de *S. sanguineus* y el éxito alimentario y la composición de su dieta, ya que se observa que a lo largo del desarrollo los individuos experimentan un alargamiento de su tubo digestivo y un agrandamiento de la boca, lo cual permitiría que las larvas consuman y almacenen presas de mayor volumen a medida que crecen y su estómago también adquiere mayor volumen, permitiendo así que pasen de consumir principalmente nauplii de copépodo a presas más grandes como huevos de peces y copépodos como *Paracalanus indicus*.

Por último, el PLS mostró que sí existe covarianza entre los cambios morfométricos y los cambios en la composición de la dieta de *S. sanguineus* durante su crecimiento. No obstante, la correlación entre las variaciones morfométricas y los cambios en la alimentación fue baja, lo cual indicaría que ambos procesos están desacoplados, lo que significa que están ocurriendo en distintos momentos del desarrollo ontogenético temprano. Si esto se suma a que los mayores cambios en forma y a que el crecimiento alométrico se producen aproximadamente hasta los 12 mm, y que la mayor diferenciación en la dieta ocurre después de los 16 mm, se puede sugerir que los cambios en forma preceden a los cambios en función (referidos a la alimentación) ocurridos durante el desarrollo ontogenético temprano de *S.*

sanguineus, el cual implica un importante cambio de hábitat desde la columna de agua al bentos.

CONCLUSIONES

- El pejesapo *Sicyases sanguineus* presenta una trayectoria de crecimiento de dos etapas, la primera (hasta los 12 mm LC) caracterizada por un crecimiento alométrico, donde se dan los mayores cambios en forma y la segunda (después de los 12 mm LC) por un crecimiento isométrico, donde los individuos solo cambian en tamaño.

- Los principales cambios morfométricos observados en *S. sanguineus* fueron el alargamiento del tracto digestivo, un engrosamiento del cuerpo, además de un alargamiento y aplanamiento de la cabeza, de esta forma esta especie pasa de tener una forma delgada e hidrodinámica, adaptada a la vida pelágica, a una forma más robusta para una vida asociada al bentos.

- La omnívora se mantuvo durante todo el desarrollo temprano de *S. sanguineus*, aunque se registraron cambios ontogenéticos en la composición de la dieta. Sin embargo, las larvas y juveniles serían poco selectivos con las presas, al igual que los adultos de esta especie.

- El crecimiento y los cambios morfométricos producirían una selección positiva del tamaño de las presas, ya que el volumen de las presas ingeridas aumenta con la longitud corporal.

- Los cambios en forma preceden a los cambios en la alimentación ocurridos durante el desarrollo ontogenético temprano de *S. sanguineus*.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO

Esta tesis fue financiada con fondos del proyecto Fondecyt 1120868: "Parasite-fish interactions in their larval stages: What benefits are achieved by the parasites in too young hosts?" y del proyecto INACH RT_04-13: "Does dietary overlap, feeding selectivity and growth change in Antarctic ichthyoplankton at different time scales? A biophysical study in Chile Bay, Greenwich Island, South Shetland Islands during austral summer season".

LITERATURA CITADA

Adams D, F Rohlf & D Slice. 2004. Geometric Morphometrics: Ten Years of Progress Following the 'Revolution'. Italian Journal of Zoology 71:5-16.

Balbontín F & Pérez R. 1979. Modalidad de postura, huevos y estados larvales de *Hypsoblennius sordidus* (Bennett) en la bahía de Valparaíso (Blenniidae: Perciformes). Revista de Biología Marina. 16(3): 311-318.

Balbontín F, A Llanos & V Valenzuela. 1997. Sobreposición trófica e incidencia alimentaria en larvas de peces de Chile central. Revista Chilena de Historia Natural 70: 381-390.

Balon E. 1984. Reflection on some decisive events in the early life. Transactions of the American Fisheries Society 113: 178-185.

Bookstein F. 1982. Foundations of morphometrics. Annual Review of Ecology and Systematics 13:451-470.

Bookstein F. 1991. Morphometric tools for landmark data: Geometry and biology, 435pp. Cambridge University Press, New York.

Cadrin S. 2000. Advances in morphometric identification of fishery stocks. Reviews in Fish Biology and Fisheries 10(1): 91-112.

Cancino J & J Castilla. 1988. Emersion behaviour and foraging ecology of the common Chilean clingfish *Sicyases sanguineus* (Pisces: Gobiesocidae). Journal of Natural History 22(1): 249-261.

Cass-Calay SL. 2003. The feeding ecology of larval Pacific hake (*Merluccius productus*) in the California Current region: an updated approach using a combined OPC/MOCNESS to estimate prey biovolume. Fisheries Oceanography 12(1): 34-48.

Castro L, V Troncoso & D Figueroa. 2007. Fine-scale vertical distribution of coastal and offshore copepods in the Golfo de Arauco, central Chile, during the upwelling season. Progress in Oceanography 75: 486-500.

Cavalcanti M, L Rabello & P Duarte. 2009. Landmark-based morphometric analysis in selected species of serranid fishes (Perciformes: Teleostei). Zoological Studies 38(3): 287-294.

Coleman RA, AA Hoffmann & TA Raadik. 2015. A review of *Galaxiella pusilla* (Mack) (Teleostei: Galaxiidae) in south-eastern Australia with a description of a new species. Zootaxa 4021(2): 243–281.

Contreras JE, MF Landaeta, G Plaza, FP Ojeda & CA Bustos. 2013. The contrasting hatching patterns and larval growth of two sympatric clingfishes inferred by otolith microstructure analysis. Marine and Freshwater Research 64(2) 157-167.

Cortés E. 1997. A critical review of methods of studying fish feeding based on analysis of stomach contents: application to elasmobranch fishes. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 54: 726-738.

De Buen F. 1960. Los pejesapos (Familia Gobiesocidae) en Chile. Revista de Biología Marina 10(1-3): 69-82.

Ebeling A, P Bernal & A Zuleta. 1970. Emersion of the amphibious chilean clingfish, *Sicyases sanguineus*. The Biological Bulletin 139(1): 115-137.

Faria A & E Gonçalves. 2010. Ontogeny of swimming behaviour of two temperate clingfishes, *Lepadogaster lepadogaster* and *L. purpurea* (Gobiesocidae). Marine Ecology Progress Series. 414: 237-248.

Farji-Brener AG. 2003. Uso correcto, parcial e incorrecto de los términos "hipótesis" y "predicciones" en ecología. Ecología Austral 13: 223-227.

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

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

Gordon M, S Fischer & E Tarifeño. 1970. Aspects of the physiology of terrestrial life in amphibious fishes. The Journal of Experimental Biology 53: 559-572.

Govoni J, G Boehlert & Y Watanabe. 1986. The physiology of digestion in fish larvae. Environmental Biology of Fishes 16:59-77.

Hard J, B Berejikian, E Tezak, S Schroder, C Knudsen & L Parker. 2000. Evidence for morphometric differentiation of wild and captively reared adult coho salmon: a geometric analysis. Environmental Biology of Fishes 58: 61–73.

Hernández-Miranda E, AT Palma & FP Ojeda. 2003. Larval fish assemblages in nearshore coastal waters off central Chile: Temporal and spatial patterns. Estuarine, Coastal and Shelf Science 56: 1075-1092.

Herrera G & F Balbontín. 1983. Tasa de evacuación intestinal e incidencia de alimentación en larvas de *Sardinops sagax musica* (Pisces, Clupeiformes). Revista de Biología Marina 19(2): 113-132.

Hidalgo P, R Escribano, M Fuentes, E Jorquera & O Vergara. 2012. How coastal upwelling influences spatial patterns of size-structured diversity of copepods off central-southern Chile (summer 2009). Progress in Oceanography 92-95: 134-145.

Hunter JR. 1980. The feeding behavior and ecology of marine fish larvae. In: Bardach JE, Magnuson JJ, May RC and Reinhart JM (eds). Fish behavior and its use in the capture and culture of fishes, 287-330pp. ICLARM Conference Proceedings, International Center for Living Aquatic Resources Manegment, Manila, Philippines.

Kendall D. 1977. The diffusion of shape. Advances in Applied Probability 9:428-430.

Klingenberg C & W Ekau. 1996. A combined morphometric and phylogenetic analysis of an ecomorphological trend: pelagization in Antarctic fishes (Perciformes: Nototheniidae). Biological Journal of the Linnean Society 59: 143-177.

Klingenberg C. 2013. Visualizations in geometric morphometrics: how to read and how to make graphs showing shape changes. Hystrix the Italian Journal of Mammalogy 24(1): 15-24.

Klingenberg C & J Magurán-Lobón. 2013. Evolutionary covariation in geometric morphometric data: analyzing integration, modularity and allometry in a phylogenetic context. Systematic Biology 62: 591-610.

Kouttouki S, E Georgakopoulou, P Kaspiris, P Divanach & G Koumoundouros. 2006. Shape ontogeny and variation in the sharpsnout seabream, *Diplodus puntazzo* (Cetti 1777). Aquaculture Research 37: 655-663.

Landaeta MF, N Suárez-Donoso, C Bustos & F Balbontín. 2011. Feeding habits of larval *Maurolicus parvipinnis* (Pisces: Sternoptychidae) in Patagonian fjords. Journal of Plankton Research 33(12): 1813-1824.

Landaeta MF, MJ Ochoa-Muñoz, CA Bustos. 2014. Feeding success and selectivity of larval anchoveta *Engraulis ringens* in a fjord-type inlet from northern Patagonia (Southeast Pacific). Revista de Biología Marina y Oceanografía 49: 461-475.

Lecchini D. 2005. Spatial and behavioural patterns of reef habitat settlement by fish larvae. Marine Ecology Progress Series 301:247–252.

Leclercq E, B Grant, A Davie & H Migaud. 2014. Gender distribution, sexual size dimorphism and morphometric sexing in ballan wrasse *Labrus bergylta*. Journal of Fish Biology 84(6): 1842–1862.

Llopiz JK. 2013. Latitudinal and taxonomic patterns in the feeding ecologies of fish larvae: A literature synthesis. Journal of Marine Systems 109–110: 69–77.

Lopes M, AG Murta & HN Cabral.2006. Discrimination of snipefish Macroramphosus species and boardfish Capros aper morphotypes through multivariate analysis of the body shape. Helgoland Mar Res 60: 18-24.

Loy A, L Mariani, M Bertelletti & L Tunesi. 1998. Visualizing allometry: Geometric morphometrics in the study of shape changes in the early stages of the two-banded sea bream, *Diplodus vulgaris* (Perciformes, Sparidae). Journal of Morphology 237: 137-146.

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

Mansur L, G Plaza, MF Landaeta & FP Ojeda. 2014. Planktonic duration in fourteen species of intertidal rocky fishes from the south-eastern Pacific Ocean. Marine and Freshwater Research 65: 901-909.

Marusic E, F Balbontin, S Galli-Gallardo, M Garreton, P Pang, R Griffith. 1981. Osmotic adaptations of the Chilean clingfish, *Sicyases sanguineus*, during emertion. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology 68(1): 123–126.

McCormick M & L Makey. 1997. Post-settlement transition in coral reef fishes: overlooked complexity in niche shifts. Marine Ecology Progress Series 153:247-257.

McCormick M. 1998. Ontogeny of diet shifts by a microcarnivorous fish, *Cheilodactylus spectabilis*: relationship between feeding mechanics, microhabitat selection and growth. Marine Biology 132: 9-20.

McCormick M, L Makey & V Dufour. 2002. Comparative study of metamorphosis in tropical reef fishes. Marine Biology 141: 841-853.

Muñoz AA & FP Ojeda. 1997. Feeding guild structure of a rocky intertidal fish assemblage in central Chile. Environmental Biology of Fishes 49: 471–479.

Ochoa-Muñoz MJ, CP Valenzuela, S Toledo, CA Bustos & MF Landaeta. 2013. Feeding of a larval clinid fish in a microtidal estuary from southern Chile. Revista de Biología Marina y Oceanografía 48(1): 45-57.

Paine R & A Palmer. 1978. *Sicyases sanguineus*: A unique trophic generalist from the Chilean intertidal zone. Copeia 1: 75-81.

Pearre S. 1986. Ratio-based trophic niche breadths of fish, the Sheldon spectrum, and the size-efficiency hypothesis. Marine Ecology Progress Series 27: 299-314.

Pequeño G. 1989. Peces de Chile. Lista sistemática revisada y comentada. Revista de Biología Marina 24(2): 1-132.

Pérez R. 1981. Desarrollo embrionario y larval de los pejesapos *Sicyases sanguineus* y *Gobiexos marmoratus* en la bahía de Valparaíso, Chile, con notas sobre su reproducción (Gobiesocidae: Pisces). Investigaciones Marinas 9(1-2): 1-24.

Pino-Pinuer P, R Escribano, P Hidalgo, R Riquelme-Bugueño & W Schneider. 2014. Copepod community response to variable upwelling conditions off central-southern Chile during 2002-2004 and 2010-2012. Marine Ecology Progress Series 515: 83-95.

Reiss CS, A Anis, CT Taggart, JF Dower, B Ruddick. 2002. Relationships among vertically structured in situ measures of turbulence, larval fish abundance and feeding success and copepods on Western Bank, Scotian Shelf. Fisheries Oceanography 11: 156-174.

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

Russo T, D Pulcini, E Bruner & S Cataudella. 2009. Shape and size variation: Growth and development of the dusky grouper (*Epinephelus marginatus* Lowe, 1834). Journal of Morphology 270: 83-96.

Salas-Berrios F, J Valdés-Aguilera, MF Landaeta, CA Bustos, A Pérez-Vargas & F Balbontín. 2013. Feeding habits and diet overlap of marine fish larvae from the peri-Antarctic Magellan region. Polar Biology 36: 1401-1414.

Samways KM, PR Leavitt, P Magnan, MA Rodríguez, PR Peres-Neto. 2015. Convergent polymorphism between stream and lake habitats: the case of brook char. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 72(9): 1406-1414.

Sassa C & K Kawaguchi. 2004. Larval feeding habits of *Diaphus garmani* and *Myctophum asperum* (Pisces: Myctophidae) in the transition region of the western North Pacific. Marine Ecology Progress Series 278: 279–290.

Sun J & D Liu. 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. Journal of Plankton Research 25(11): 1331-1346.

Thorisson K. 1994. Is metamorphosis a critical interval in the early life of marine fishes?. Environmental Biology of Fishes 40(1): 23-36.

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

Urho L. 2002. Characters of larvae – what are they? Folia Zoologica 51(3): 161-186.

Valenzuela V, F Balbontín & A Llanos. 1995. Composición de la dieta y tamaño de las presas de los estadios larvales de ocho especies de peces de la costa central de Chile. Revista de Biología Marina 30(2): 275-291.

Vera R & G Pequeño. 2001. Comparación de caracteres merísticos y morfométricos entre peces de género *Sicyases* del archipiélago de Juan Fernández, Valparaíso y Valdivia (Osteichthyes: Gobiesocidae). Investigaciones Marinas 29(2): 3-14.

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

Youson JH. 1988. First metamorphosis. In: Hoar WS, Randall DJ (eds) Fish physiology, 135-196pp. Academic Press, New York.

Zavala-Leal I, S Dumas-Lapage & R Peña-Martínez. 2011. Organogénesis durante el periodo larval en peces. CICIMAR Oceánides 26(2): 19-30.

Zavala-Muñoz F, MF Landaeta, V Bernal-Durán, GA Plaza & DI Brown. (aceptado). Larval development and shape variation of the kelpfish *Myxodes viridis* (Teleostei: Clinidae). Scientia Marina.