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

ESCUELA DE BIOLOGÍA MARINA

Efecto de la temperatura sobre la morfología y mortalidad de larvas zoea 1 de la jaiba panchote *Taliepus dentatus* (Decapoda, Maijoidea).

Tesis de Pregrado.

Lucas Nicolás Bravo Guzmán

M
B826e
2021

2022

Reg. 284341

M
B826e
2021

Universidad de Valparaíso
CHILE
Facultad de Ciencias del Mar y de Recursos Naturales
Biología Marina

UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR Y DE

RECURSOS NATURALES

ESCUELA DE BIOLOGÍA MARINA

Efecto de la temperatura sobre la morfología y mortalidad de larvas zoea 1 de la Jaiba panchote *Taliepus dentatus* (Decapoda, Maijoidea).

UNIVERSIDAD DE VALPARAISO
BIBLIOTECAS Y RECURSOS PARA EL APRENDIZAJE
Cs. DEL MAR
DIBRA

Tesis de Pregrado.

Lucas Nicolás Bravo Guzmán

[redacted]
2021

COMISIÓN DE TESIS

Simone Baldanzi

Director

(Universidad de Valparaíso)

Mauricio Landaeta

Miembro de la Comisión
(Universidad de Valparaíso)

Sergio Navarrete Campos

Miembro de la Comisión
(Pontificia Universidad Católica de Chile)

TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS 7

RESUMEN 8

INTRODUCCIÓN 9

HIPÓTESIS 19

OBJETIVOS 20

MATERIALES Y MÉTODOS 21

RESULTADOS 38

DISCUSIÓN 51

CONCLUSIÓN 56

LITERATURA CITADA 57

ANEXO 71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la caleta de Montemar. La zona roja corresponde a la zona semi protegida/expuesta (extraído y modificado Rojas 2021). 23

Figura 2. Datos extraídos desde terreno en el intermareal de Montemar, Reñaca. El eje horizontal es sobre las fechas, mes y año sobre el cual fueron tomados los datos y aplica para los 4 gráficos apilados verticalmente. Desde arriba hacia abajo, el primer gráfico (líneas negras) hace referencia a la altura de la ola; el segundo grafico (líneas azules) hace referencia a la temperatura en °C; el tercer gráfico (línea rosada) hace referencia al oxígeno disuelto; el cuarto gráfico (líneas verdes) hace referencia a la salinidad. 25

Figura 3. Esquema representativo sobre la recolección de larvas eclosionadas 27

Figura 4. Sistemas de cultivo con Chiller utilizado para los 17°C y 15°C. M= larvas cultivada para experimento 1, E= larvas cultivada para experimento 2. 29

Figura 6. Fotografía bajo microscopio de una larva Zoea 1 con 5x de aumento con sus landmarks. A=Órgano dorsal, B=Punta de la espina dorsal, C=ESIC, D= Lado superior del ojo, E= Lado inferior del ojo, F= Lado derecho del ojo, G= Lado izquierdo del ojo, Flecha blanca= Cubreobjeto de apoyo. 34

Figura 7. Larva zoea 1 digitalizada con el paquete Stereomorph. 35

Figura 8. Supervivencia por día de las tres temperaturas en porcentajes por cada réplica.....39

Figura 9. Día en el cual las larvas llegaron a su 50% de supervivencia (LT50). Las barras verticales corresponden al intervalo de confianza al 95% del LT50 por cada temperatura. 40

Figura 10. Curvas de Kaplan-Meier por cada temperatura con intervalos de confianza. 41

Figura 11. En la figura a la izquierda los círculos grises representan las 198 imágenes digitalizadas alineadas (Procrustes obtenidos del GPA), mientras que, en negro se representan los landamarks y en naranjo los semilandmarks consenso. La figura pequeña a la derecha indica el número correspondiente a cada landmark o semilandmark (círculo con número de relleno). 43

Figura 12. Gráfico de barras donde cada barra es un componente principal que explica el % de variación que se atribuye a la morfología, la flecha roja marca donde se acumula el 90% de la variación explicada. 43

Figura 13. Distribución de los individuos en el morfoespacio del PC1 y PC2. azul=12°C; naranjo=15°C; rojo=17°C. Circulo=Día 1; Triangulo=Día 5; Cuadrado=Día 8. 45

Figura 14. Distribución de las cargas factoriales en el morfoespacio del PC1 y PC2. 46

Figura 15. Distribución de los individuos en el morfoespacio del PC1 y PC3. azul=12°C; naranjo=15°C; rojo=17°C. Circulo=Día 1; Triangulo=Día 5; Cuadrado=Día 8. 47

Figura 16. Distribución de las cargas factoriales en el morfoespacio del PC1 y PC3. 48

Figura 17. CVA para el día 1. El color azul representa los 12°C, la figura al lado izquierdo en azul es la forma promedio de esta temperatura; el color naranjo representa los 15°C, la figura superior derecha es la forma promedio de esta temperatura; El color rojo representa los 17°C, la figura inferior derecha es la forma promedio de esta temperatura. Todas las figuras promedio están contrastadas por una gris que representa la forma promedio del total de temperaturas y días.....49

Figura 18. CVA para el día 5. El color azul representa los 12°C, la figura al lado derecho en azul es la forma promedio de esta temperatura; el color naranjo representa los 15°C, la figura superior derecha es la forma promedio de esta temperatura; El color rojo representa los 17°C, la figura inferior derecha es la forma promedio de esta temperatura. Todas las figuras promedio están contrastadas por una gris que representa la forma promedio del total de temperaturas y días.....50

Figura 19. CVA para el día 8. El color azul representa los 12°C, la figura al lado derecho en azul es la forma promedio de esta temperatura; el color naranjo representa los 15°C, la figura superior derecha es la forma promedio de esta temperatura; El color rojo representa los 17°C, la figura inferior derecha es la forma promedio de esta temperatura. Todas las figuras promedio están contrastadas por una gris que representa la forma promedio del total de temperaturas y días.....51

AGRADECIMIENTOS

El esfuerzo y entusiasmó aplicados en esta tesis nacen desde los valores más profundos que tengo. Por el deseo de realizar cualquier obra o trabajo de la mejor forma posible, le agradezco a mi padre.

Por la astucia e inteligencia para saber utilizar los puntos anteriores sin perderme en el camino, de entender que cada proceso tiene la persona indicada que te puede apoyar y que por sobre todo, me enseño matemáticas cuando no confiaba en mis capacidades, le agradezco a mi madre.

A mi familia (hermanas y primos), por escucharme miles de veces repetir lo que aprendía en clases, les agradezco.

Y finalmente, le agradezco a la persona que me presento y transmitió la pasión por la ciencia, por leer ciencias, por entrar a la biblioteca del colegio a ver libros de células, a pasar recreos estudiando y quien, además, me mostró que la ciencia no es solo lo que se ve, sino también una filosofía, le dedico el siguiente extracto del libro que me regalo, cuando inicie mi camino como investigador:

"For just as the milky way is the universe in the form of a galaxy, and an orchid is the universe in the form of a flower, we are the universe in the form of a human. And every time we are drawn to look up into the night sky and reflect on the awesome beauty of the universe, we are actually the universe reflecting on itself." (Swimme & Tucker 2011).

Y eso, lo cambio todo (para mí).

RESUMEN

El desarrollo de larvas zoea 1 de *Taliepus dentatus* ha sido ampliamente estudiado, sin embargo, ningún estudio se ha realizado utilizando morfometría geométrica para comparar las diferencias sobre sus estructuras (espina dorsal, órgano dorsal y ojo) al ser cultivadas bajo distintas temperaturas. En diciembre de 2021 se realizó un experimento con larvas zoea 1 de *Taliepus dentatus* donde fueron cultivadas a tres temperaturas distintas (12°C, 15°C y 17°C). Diariamente, se midió y analizó su mortalidad, además, se compararon las formas de las distintas temperaturas usando morfometría geométrica de las larvas en distintos días de su desarrollo (1-5 y 8 posteclosión). Los resultados demostraron diferencias significativas en las mortalidades a distintas temperaturas, siendo los 15°C las mejores condiciones para su supervivencia, mientras que, en la morfología se identificaron diferencias significativas en hitos morfológicos entre las temperaturas, siendo el último día el que tuvo diferencias entre todas las formas que se reconocían en el tamaño del ojo mayoritariamente.

INTRODUCCIÓN

La temperatura del océano y sus efectos en organismos marinos: una mirada desde la ecología fisiológica y evolutiva.

La temperatura es una variable ambiental crítica en el océano debido a que influencia procesos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos y evolutivos tanto de larvas como de adultos (Blaxter 1991; Somero 2002; O'Connor *et al.* 2007; Pörtner & Farrell 2008; Stuart-Smith *et al.* 2017; Baldanzi *et al.* 2020). La variación en temperatura dentro del intermareal rocoso determina la distribución espacial de muchos invertebrados marinos que habitan esos ecosistemas. Por ejemplo, en experimentos de laboratorio, Stillman & Somero (2000) investigando la relación entre las temperaturas máximas registrada en el intermareal rocoso y la tolerancia térmica (en particular los límites máximos de tolerancia) de 20 especies de cangrejo de porcelana (*Petrolisthes*) encontraron que 19 poseían una fuerte correlación entre la temperatura máxima del hábitat y la temperatura letal superior, lo cual determinaba su distribución vertical en el intermareal (Stillman & Somero 2000). La temperatura es también un factor clave en organismos submareales, sobre todo en sus fases de vida temprana, las cuales son claves durante los procesos de iniciación a la dispersión y transporte larval en el ciclo de la conectividad (Swearer *et al.* 2019). Por ejemplo, en un experimento de laboratorio en el cual se mantuvieron hembras ovigeras a diferentes temperaturas, se encontraron diferencias (asociadas a la temperatura) en el tamaño (volumen) de embriones tempranos y larvas zoea 1 recién eclosionadas (Baldanzi *et al.* 2020), confirmando el importante rol que

juega la temperatura en determinar caracteres asociados a la ontogenia temprana en decápodos submareales.

El efecto de la variación en la temperatura del océano ha sido ampliamente estudiada en diversos niveles de historia de vida, sin embargo, se le da una importancia mayor a los estudios que implican estadios de ontogenia temprana por ser etapas de vida más sensibles y permitir mejorar programas de manejo y conservación de áreas marinas sujetas a impacto antrópico (Rumrill 1990; Pörtner & Farrell 2008; Morgan 2020). A pesar de esto, los estudios que buscan entender el efecto del cambio climático se han enfocado en su mayoría sobre los rangos de tolerancia a la temperatura en adultos (Ej. Read & Cumming 1967; Goss & Bunting 1976; Huey & Kingsolver 1989; Frederich & Pörtner 2000; Stillman 2002; Lee 2003; Fangue et al. 2006; Compton et al. 2007; Wittmann et al. 2008). Por ejemplo, un estudio experimental sobre organismos estuarinos y costeros identificó diferencias interespecíficas en las tolerancias térmicas asociadas al hábitat, donde las especies de crustáceos y peces del supramareal e intermareal (*Pachygrapsus marmoratus, Carcinus maenas, Gobius niger, Palaemon elegans, Lipophrys trigloides, Gobius cobitis*) poseían valores mayores en su temperatura crítica máxima, mientras que, las del submareal (*Diplodus species, Liocarcinus marmoreus, Solea lascaris, Dicentrarchux labrax, Lophozozymus incisus, Crangon crangon*) tenían valores menores (Madeira *et al.* 2012).

Recientemente, se han realizado varios experimentos enfocados en el efecto de la temperatura (a veces junto a otras variables) sobre larvas de invertebrados marinos y peces (Storch *et al.* 2009, 2011; Carreja *et al.* 2016a; Moyano *et al.* 2017; Baldanzi *et al.* 2020).

Estudios experimentales han demostrado que aumentos en la temperatura ambiental (marina o terrestre) pueden afectar la calidad y cantidad de huevos, y también, el rendimiento de larvas o juveniles que eclosionaran bajo estrés (Giménez & Anger 2003; Aïdam *et al.* 2013; Staines *et al.* 2019). Un experimento sobre la tolerancia térmica de larvas zoea 1 de *Taliepus dentatus* de dos poblaciones distintas de Chile permitió demostrar un efecto de la latitud sobre estas ventanas, la población de Melinka (Sur; 43°S) presentó valores óptimos de rendimiento entre los 3°C-11°C, mientras que en Las Cruces (Centro; 34°S) los valores óptimos estaban entre 11-15°C (Storch *et al.* 2009).

En determinadas condiciones, una variable ambiental se puede convertir en un estresor que reduce la sobrevivencia o rendimiento de un organismo respecto a sus óptimas condiciones (Folt *et al.* 1999). En larvas planctónicas la temperatura puede ser un estresor que afecta la sobrevivencia, el tiempo de desarrollo y crecimiento (Gilman 2006, Sanford *et al.* 2006), impactando negativamente procesos de dispersión y conectividad larval (Swearer *et al.* 2019). La duración del desarrollo larval para una cierta etapa suele verse reducido con aumentos en la temperatura (Giménez 2011), que al mismo tiempo significa disminuir la capacidad de dispersión (O'Connor *et al.* 2007). La duración de larvas de la langosta *H. gammarus* se redujo a la mitad (de 26 a 13 días) al aumentar la temperatura de 14°C a 22°C (Schmalenbach & Franke 2010). La capacidad de dispersión de estas larvas influye directamente en los sistemas tróficos pelágicos, modelos de distribución y abundancia de las futuras poblaciones adultas (Morgan 1990, 1992; Gaines & Lafferty 2020).

Muchos estudios se han enfocado en la relación de dependencia entre temperatura y demanda de oxígeno de los tejidos animales para la respiración celular. Esta teoría se conoce como "Oxygen- and capacity-limited thermal tolerance" (OCLTT, Pörtner *et al.* 2017). Según esta teoría (la cual pretende establecer un puente entre la fisiología y la ecología de los organismos ectotermicos acuáticos), la tolerancia térmica se puede medir en base al alcance aeróbico de cada organismo. El alcance aeróbico se define como la diferencia en la tasa de consumo de oxígeno de un organismo ectotermo entre su metabolismo aeróbico estándar (Standad Metabolic Rate, SMR) y su metabolismo aeróbico máximo (Maximum Metabolic Rate, MMR) frente a un gradiente de temperaturas (Pörtner *et al.* 2017). Graficando la relación entre el alcance aeróbico y la variación en temperaturas, se obtiene una curva a campana con sesgo (típicamente hacia la izquierda) denominada Norma de Reacción (NR) en la cual se puede individualizar aquellos niveles de temperaturas que causan cambios en las actividades metabólicas (en el caso de la OCLTT, el consumo de oxígeno). Storch y colaboradores (2009) corroboraron la teoría OCLTT para las larvas zoea 1 de dos poblaciones distintas de *Taliepus dentatus* al ver cómo las ventanas de tolerancia disminuyeron por el efecto de la temperatura sobre el consumo de oxígeno. Las ventanas de tolerancia térmica son útiles porque permiten conocer las temperaturas óptimas y críticas que actúan sobre el rendimiento de una especie (Pörtner *et al.* 2005).

Desde la perspectiva de la ecología evolutiva la variación en la temperatura del océano puede generar plasticidad fenotípica en individuos con importantes implicaciones a nivel de población y comunidad (Broitman *et al.* 2021). La plasticidad fenotípica es la capacidad de un genotipo de producir diferentes fenotipos dependiendo de las condiciones

ambientales (Pigliucci 2001). El concepto de la plasticidad fenotípica se puede aplicar también a caracteres asociados a la ecología, morfología y comportamiento durante la vida de un organismo por efectos del ambiente que les rodea (Harvell 1986; Stearns 1989; Kingsolver & Huey 1998; Hufford *et al.* 1999; Broitman *et al.* 2020). Un excelente ejemplo de plasticidad fenotípica (con una fuerte implicación ecológica) se puede ver en el cirripedio *Chthamalus anisopoma*, el cual, si entra en contacto con su depredador *Acanthina angelica* durante su estadio juvenil, genera una forma predador-resistente que es irreversible, lo que a su vez, inhibe el reclutamiento de mejillones e indirectamente aumenta la cobertura de un alga incrustante (*Ralfsia*) (Raimondi *et al.* 2000). Por otro lado, dos especies de caracoles tropicales de agua dulce tuvieron cambios importantes en hitos morfológicos de sus conchas, causadas por la temperatura, finalmente estas variaciones fueron asociados a la capacidad de plasticidad fenotípica de cada especie (Albarrán-Mélzer *et al.* 2020).

Morfología funcional y geométrica: teoría y aplicaciones en la ecología larval con enfoque en crustáceos decápodos.

La morfología de un organismo, desde invertebrados marinos hasta mamíferos, es fundamental en el rendimiento que este puede tener en su hábitat natural y adaptación a cambios en variables ambientales (Colin & Costello 2002; Giménez & Anger 2003; Landers *et al.* 2009; Marshall 2009; Tulli *et al.* 2011). Un concepto clave para comprender la importancia de la morfología en el rendimiento de un organismo es la morfología funcional, según Dullemeijer (1980), este tema se divide en 4 componentes: (1) forma, (2) función, (3) patrón y (4) componente funcional. Ese último se define como "la conexión entre la forma y

la función", donde (i) forma, es la morfo-característica dada en cualquier animal y (ii) función, es cualquier nivel de actividad que rinda o muestre el animal (Dullemeijer 1980). La morfología funcional en crustáceos ha sido ampliamente estudiada (Lombardi & Ruppert 1982; Crain 1999; Abrunhosa & Melo 2008; Watling & Thiel 2015; Felgenhauer *et al.* 2020; Jacques 2020). La morfometría geométrica puede localizar con precisión y establecer una correlación uno a uno entre todos los especímenes que se incluyan en el análisis estadístico (Klingenberg 2011), proporcionando una mejor interpretación biológica y proveyendo resultados visuales, puesto que integra el tamaño de los organismos, análisis robustos y herramientas gráficas para la cuantificación y visualización de la variación morfológica (Adams *et al.* 2013; Benítez & Püschel 2014).

Las larvas Zoea de decápodos presentan una compleja morfología con una gran cantidad de tejidos especializados: mecanoreceptores, quimiorreceptores y estructuras que le permiten nadar y alimentarse (Anger 2001). En este mismo estadio larval el órgano dorsal de los decápodos se encuentra en la zona frontal de la caparaza entre los ojos, estudios realizados por Laverack y colaboradores (Laverack 1990; Laverack *et al.* 1996) sugieren que podría ser un sensor de presión (baroreceptor). Además, poseen un par de ojos compuestos y toracopodos funcionales que son su mayor diferencia con una larva nauplio (Anger 2001). La anténula y antena funcionan como detectores mecánicos y químicos de presas y las mandíbulas son diseñadas para alimentarse (Anger 2001). En el infraorden Brachyura, la espina dorsal parece ser el principal orientador del movimiento de la larva (Foxon 1934).

Dentro de los decápodos existen diversos patrones de desarrollo larval, para el caso de Brachyura las larvas eclosionan como una zoea con exopodos natatorios exclusivamente en los maxilipedos 1 y 2 (Anger 2001). Específicamente, la súper familia Majoidea tiene un patrón en el cual existen dos etapas de Zoea y después una megalopa, un proceso fuertemente canalizado, como la Jaiba *Taliepus dentatus* (Fagetti & Campodónico 1971). Existe variabilidad intraespecífica en la morfología de larvas tanto dentro de un estadio larval como en su historia de vida completa; numerosos estudios de terreno y laboratorio han podido demostrarlo en decápodos (Ewald 1969; Haynes 1979; Christiansen & Anger 1990; Strasser & Felder 2000; Fincham 2011). Un estudio realizado por Thatje & Bacardit (2000) identificó variaciones morfológicas en las etapas larvales de *Nauticaris magellanica* de individuos extraídos de terreno en el sudoeste de Argentina y comparó sus datos con los obtenidos por Albornoz & Wehrtmann (1998) que cultivaron larvas de la misma especie de adultos del centro de Chile. La mayor diferencia fue el largo total del cuerpo que fue 1,5 veces más grandes en el Sur de Argentina.

Naturalmente, algunas variaciones interpoblacionales (por diferencias en las condiciones climáticas) en la morfología de larvas de decápodos, podrían detectarse en el tamaño del cuerpo, largo de las espinas (rostrum y dorsal) e incluso en taxones con un desarrollo fuertemente canalizado (fijado genéticamente) como en la súper familia Majoidea (Pohle 1991). Además, variaciones temporales de carácter estacional en la morfología de larvas de decápodo se han demostrado, como por ejemplo Ampuero *et al.* (2010) realizaron un estudio de morfometría geométrica en el cual incluyeron 296 megalopas directamente extraídas de terreno en Punta Tralca, Chile (33°25'S, 71°42'W) de la especie *Paraxanthus*

barbiger y encontraron diferencias significativas en el largo de la caparaza y algunos apéndices entre primavera (noviembre), verano (febrero) e invierno (julio).

El efecto de la temperatura sobre la supervivencia y morfología en larvas de crustáceos decápodos.

La capacidad de dispersión de una larva tiene una influencia directa en las fases de asentamiento y reclutamiento de las larvas (distribución y abundancia), por esto mismo, la mortalidad o supervivencia también es de gran importancia, ya que determina el número de individuos que llegan a asentarse y quienes podrán formar las futuras poblaciones adultas (Pineda *et al.* 2007). La temperatura tiene un fuerte efecto sobre la duración de las larvas planctónicas que es cuantitativamente constante en muchas especies marinas (O'Connor *et al.* 2007). Una dependencia general de la duración de las larvas con respecto a la temperatura implica efectos predecibles de la temperatura del océano sobre la distancia de dispersión y la supervivencia de las larvas e importantes consecuencias en la conectividad poblacional (Swearer *et al.* 2019). Experimentalmente, se demostró que las larvas zoea 1 de *Taliepus dentatus* mostraron diferencias significativas en la mortalidad (LT_{50}) al ser incubadas a diferentes temperaturas (Baldanzi *et al.* 2020). Otro ejemplo, en el cangrejo rojo de nieve (*Chionoecetes japonicus*) también se identificaron diferencias significativas en sus curvas de mortalidad cuando sus larvas (zoea1-2 y megalopa) fueron cultivadas bajos diferentes temperaturas, en los tratamientos más extremos (3°C y 18°C) ninguna larva llegó al estadio de megalopa, mientras que a 8°C se obtuvo el mayor número de larvas que llegó al último estadio (Yamamoto *et al.* 2021).

La temperatura además influye sobre el crecimiento larval de crustáceos, la gran mayoría de estudios sugiere que este es máximo cuando la temperatura está cercana al óptimo para el rendimiento fisiológico específico para cada etapa larval (Zeng *et al.* 2020). La relación entre tamaño y temperatura está definida por la regla de Bergman (Kinne *et al.* 1970), la cual indica que dentro de grupos taxonómicos los mayores valores de tamaños larvales se han observado en los sectores más fríos del área de distribución (Anger 2001).

El efecto de la temperatura sobre el crecimiento larval está relacionado con cambios en la morfología larval durante su desarrollo. Un experimento realizado sobre larvas zoeas del decápodo *Acanthocyclus hassleri* cultivadas experimentalmente a tres temperaturas distintas (10°C, 17°C y 20°C) tuvieron diferencias significativas en la longitud de sus estructuras larvales y en las proporciones morfométricas de estas respecto a la longitud total (Barría *et al.* 2005). Este mismo estudio identificó que los valores de longitud total fueron significativamente mayores en las temperaturas más altas (17°C y 20°C) respecto a las que fueron cultivadas a 10° (Barría *et al.* 2005). Variaciones en los patrones de espinación por el efecto de la temperatura influiría en la capacidad de mantenerse en el plancton (ref). Las espinas de las larvas de crustáceos decápodos y otros organismos planctónicos tiene funciones como: (1) mecanismo de defensa frente a predadores, (2) regulación de migraciones verticales, (3) estabilización del organismo en la columna de agua y (4) regulación de su velocidad de hundimiento (Pennington & Chia 1984; Sulkin 1984; Morgan 1987; Shirley *et al.* 1987; Morgan & Christy 1997; Barría *et al.* 2005).

Por todos los puntos mencionados anteriormente, el presente estudio tendrá como objetivo poder identificar posibles diferencias en la morfología y mortalidad de las larvas zoea 1 de *Taliepus dentatus* bajo distintos tratamientos de temperatura.

HIPÓTESIS

Respecto a la sobrevivencia de las larvas, a la temperatura de 15°C se debería observar la menor mortalidad, mientras que valores extremos de temperaturas afectaran negativamente la sobrevivencia de zoea 1 de *T. dentatus*. La temperatura de cultivo de larvas (Zoea 1) de *Taliepus dentatus* tendrá un efecto sobre hitos morfológicos asociados a mecanismos de defensa, movilidad y flotabilidad de las larvas. En particular, se espera que altas temperaturas causen una mayor curvatura de la espina dorsal porque se ha visto que el abdomen late una mayor cantidad de veces por minuto desde los 11-19°C (Storch *et al.* 2011), Además, ese efecto debería ser mayor en larvas con tiempos de desarrollo post-eclosión mayor por tener un efecto acumulativo durante el tiempo.

OBJETIVOS

General

Evaluar el efecto de la temperatura sobre cambios en la morfometría y sobre la supervivencia de larvas Zoea 1 del cangrejo submareal *Taliepus dentatus.*

Específicos:

1- Cultivar larvas de *Taliepus dentatus* zoea 1 bajo tres distintas temperaturas que representan los valores mínimo, promedio y máximo registrado en el área de estudio (12, 15 y 17°C, respectivamente).

2- Estimar la supervivencia de larvas zoea 1 cultivadas a tres distintas temperaturas.

3- Cuantificar los cambios en hitos morfológicos de larvas zoea 1 en distintos tiempos de desarrollo post-eclosion entre las tres distintas temperaturas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Especie Modelo y área de estudio

La especie modelo elegida para este estudio es el Panchote *Taliepus dentatus*, una jaiba común en las costas de Chile que habita en las algas pardas del submareal rocoso, con una distribución desde el centro de Perú (11.90°S) hasta la Patagonia Chilena (51.00°S) y en las islas San Félix y archipiélago de Juan Fernández (Fagetti & Campodónico 1971; Aedo *et al.* 2009). *T. dentatus* es una de las nueve especies de jaibas comercializadas nacionalmente, principalmente en playas y en algunos casos enviadas a través de remitentes a mercados, su extracción como recurso natural está limitado a las zonas sur de Chile (Isla de Chiloé) (Aedo *et al.* 2009).

Taliepus dentatus habita principalmente en bosques de feófitas formados por varias especies de algas pardas y suele distribuirse en una amplia gama de latitudes (Pretterebner & Pardo 2020). Presenta hábitos omnívoros, ya que, puede alimentarse de algas como *Lessonia spp.* y briozoos en simultáneo (Manriquez & Cancino 1991). Además, en cuanto a su morfología, *T. dentatus* se caracteriza por tener un caparazón nasubcircular fuertemente convexo, generalmente más ancho que largo; densamente punteado, con márgenes laterales con cuatro dientes, los tres primeros agudos y el último romo, antenas cortas plegadas longitudinalmente que no sobrepasan el rostro y presencia de quelipedos robustos y periópodos largos (Zuñiga 2002; Naderloo 2017). Cabe mencionar que los quelipedos de los individuos de *T. dentatus* pueden presentar alometría en el tamaño (Petriella & Boschi 1997).

Las hembras de esta especie presentan un desove continuo durante el año (Fagetti & Campodónico 1971) con una mayor fecundidad y huevos más grandes en latitudes más altas (Baldanzi *et al.* 2018), aunque no existen datos en los límites de su distribución geográfica. Sus estadios larvales son los mismos que en la mayoría de la superfamilia Majoidea, en la cual hay dos zoea y una megalopa (Fagetti & Campodónico 1971), el desarrollo larval completo puede durar 30 días a 14°C-15°C (Fagetti & Campodónico 1971; Baldanzi *et al.* 2020). Zoea 1 tiene un cefalotórax con una espina dorsal levemente curvada, una corta espina rostral (rostrum), ojos no pedunculados compuestos, órgano dorsal en su zona frontal y un telson (Fagetti & Campodónico 1971).

Sus estadios larvales presentan diferencias con respecto a la tolerancia térmica que disminuyen en la medida que las larvas desarrollan desde Zoea 1 a Megalopa (Storch *et al.* 2011).

La concesión marítima de Montemar (32,57°S-71,33°O) se encuentra dentro de la bahía de Valparaíso. Montemar presenta un frente protegido y un frente semi protegido/expuesto (Figura 1), con una baja surgencia siendo caracterizada como una zona de "sombra de surgencia" (Antezana et al 1965; Balbontín & Montecinos 1993), a pesar de esto, tiene una alta productividad (Aparicio-Rizzo & Masotti 2019). Los valores de temperatura del agua que se encuentran en literatura muestran variaciones promedio anuales de aproximadamente un grado Celsius (12,6°C en invierno y 13,7°C en verano). Datos medidos *in situ* desde el año 2021 (a una profundidad de 1,5-2 metros de profundidad)

presentan variaciones anuales de aproximadamente cinco grados Celsius, con una máxima de 17°C en verano y una mínima de 12°C en invierno (Figura 2).

Los experimentos descritos a continuación fueron ejecutados en las dependencias de la Facultad de Ciencias del Mar y de Recursos Naturales de la Universidad de Valparaíso.

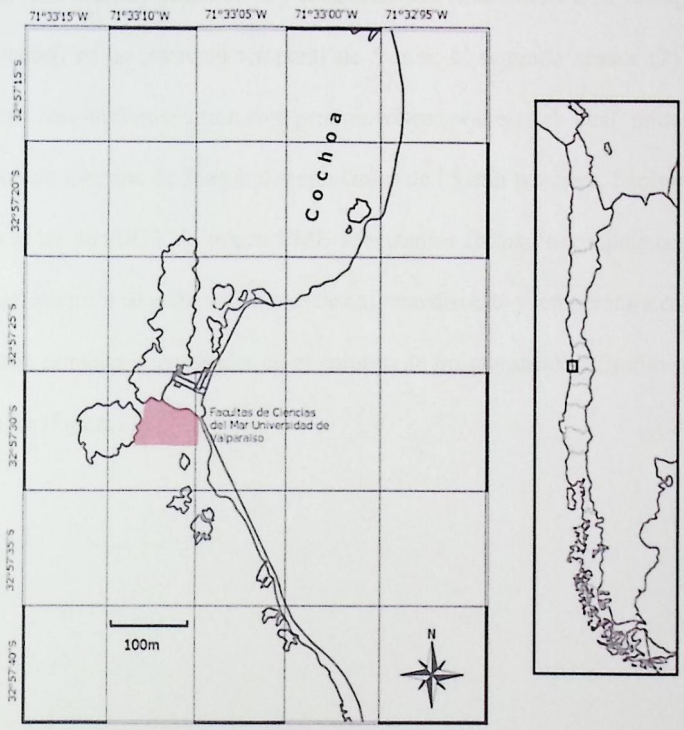


Figura 1. Mapa de la caleta de Montemar. La zona roja corresponde a la zona semi protegida/expuesta (extraído y modificado Rojas 2021).

Caracterización ambiental del área de estudio

La caracterización ambiental se realizó a través de medición *in situ* utilizando tres sensores diferentes instalados en la zona sur de Montemar, los cuales están ubicados a 1,5-2 metros de profundidad. El sensor (1) es un WiSens CTD marca NKE instruments (https://nke-instrumentation.com/produit/wisens-ctd-conductivity-temperature-depth/), el cual mide presión, temperatura y conductividad (esta última a su vez se usa para conocer la salinidad) en un intervalo temporal de 5 min; el segundo sensor (2) es un NKE Waves (https://nke-instrumentation.com/produit/wisens-wave/), el cual mide las mareas en un intervalo temporal de 2 segundos con ciclos de 15 min por hora, finalmente el último sensor (3) es un miniDOT de marca PME Electronics (https://www.pme.com/products/minidot-clear) que mide las concentraciones de oxígeno disuelto y temperatura cada 10 min. Los datos fueron extraídos e ingresados en el entorno de programación RStudio para su visualización gráfica (Figura 2)

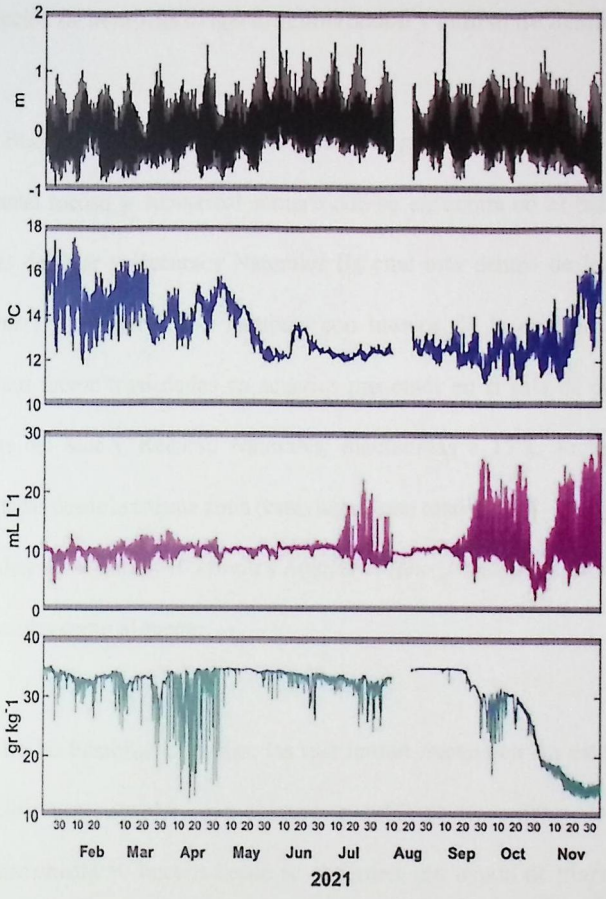


Figura 2. Datos extraídos desde terreno en el intermareal de Montemar, Reñaca. El eje horizontal es sobre las fechas, mes y año sobre el cual fueron tomados los datos y aplica para los 4 gráficos apilados verticalmente. Desde arriba hacia abajo, el primer gráfico (líneas negras) hace referencia a la altura de la ola; el segundo grafico (líneas azules) hace referencia a la temperatura en °C; el tercer gráfico (línea rosada) hace referencia al oxígeno disuelto; el cuarto gráfico (líneas verdes) hace referencia a la salinidad.

Recolección de hembras ovigera, aclimatación y cultivo de hembras ovigeras y larvas

Buzos apnea se sumergieron durante el periodo de noviembre/diciembre 2021 en el intermareal rocoso y submareal somero que se encuentra en el lado sur de la Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Naturales (la cual esta dentro de la concesión marítima de Montemar) y extrajeron 4-5 hembras con huevos de la especie *Taliepus dentatus*. Los individuos fueron trasladadas en acuarios presentes en la sala de cultivo de la Facultad de Ciencias del Mar y Recurso Naturales, mantenidas a 15°C junto a estipes de *Lessonia* recolectadas desde la misma zona (estas algas eran renovadas 1-2 veces por semana), además, semanalmente se abrían 10 choritos *Mytilus chilensis* obtenidos desde el mismo intermareal para dárselos como alimento.

De las hembras extraídas, las que tenían huevos en un estadio más avanzado (ojo reconocible por su color rojo obscuro o café) se les extraía una pequeña muestra de aproximadamente 50 huevos desde su abdomen con ayuda de pinzas para poder revisarlos bajo lupa, con el fin de observar el tiempo aproximado a la eclosión de las larvas. Los embriones que ya presentaban un corazón que latiera indicaba que la hembra del cual fueron extraídos debía ser reubicada en un acuario extra con una única salida que llevaba a un tamiz de 500-700 µm (colector) (Figura 3). El acuario que mantuvo a las hembras reproductivas tuvo un fotoperiodo de 10:14 horas (de día y noche, respectivamente) y fue constantemente oxigenado por medio de una bomba de aire conectada a una piedra difusora. Una vez que las larvas eclosionaron se mantuvieron dentro del colector por un máximo de 12 horas y desde aquí las larvas fueron extraídas para los distintos tratamientos. Las larvas durante el tiempo

de permanencia en el tamiz recolector fueron alimentadas con método gravimétrico por goteo (Figura 3) utilizando un mix artificial de microalgas de 537.500 células/ml aproximadamente utilizando los concentrados de fitoplancton presente en dos productos para acuarios (Phytogold-S y Phytogreen-S, https://www.brightwellaquatics.com/products/index.php).

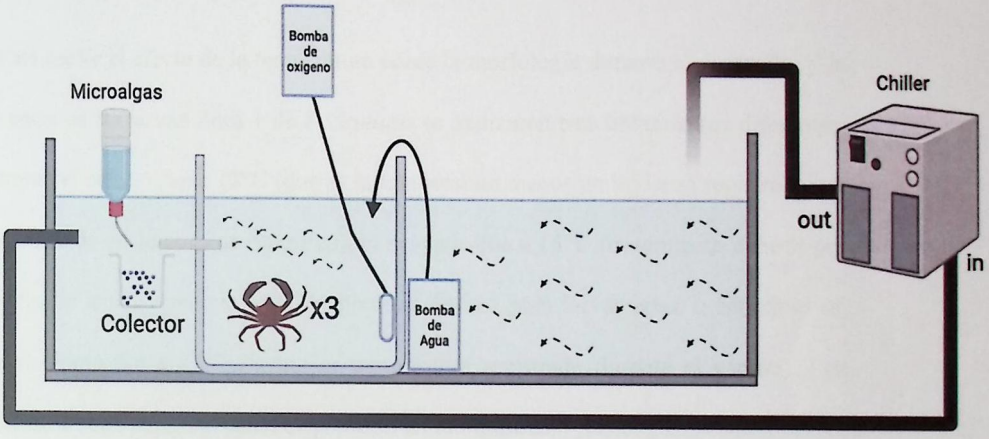


Figura 3. Esquema representativo sobre la recolección de larvas eclosionadas

Cultivo y tratamiento de larvas zoea 1.

Por cada tratamiento de temperatura y réplica correspondiente (ver diseño experimental más abajo) se utilizaron 400 larvas (N_{total}=1200) que pasaron a ser colocadas en 4 pequeños acuarios de cultivo (100 larvas por acuario), de 10cm x 10cm con 200 ml de agua de mar filtrada a 1 micra y esterilizada por luz ultravioleta (UV). Diariamente, se les renovó el agua por una que también era filtrada, esterilizada, y además, con un mix artificial de microalgas de 537.500 células/ml aproximadamente. Para no causar shock térmico durante el cambio diario de agua de mar se utilizó siempre agua de mar previamente

oxigenada y aclimatada a la temperatura correspondiente (ver mas abajo los valores utilizados).

Diseño experimental

Para medir el efecto de la temperatura sobre la morfología durante el desarrollo y la supervivencia de las larvas Zoea 1 de *T. dentatus* se realizaron tres tratamientos diferentes: en el primero el cultivo fue a 12°C (que es la temperatura menor en invierno registrada por sensores instalado en la zona de muestreo), el segundo fue a 15°C (tratamiento control por ser el promedio anual y porque es la temperatura óptima para larvas zoea 1; Storch *et al.* 2011) y el último fue a 17°C (la mayor temperatura registrada durante el verano). Los resultados de la serie temporal están disponibles en la Figura 2.

Los experimentos se ejecutaron empleando el sistema de cultivo de invertebrados marinos y peces ubicados en el laboratorio de salas de acuarios de la Facultad, que consta de numerosos estanques de cultivos y de dos sistemas paralelos de recirculación semicerrados con temperatura controlada y con agua de mar micro filtrada (filtración desde 20 a 1 micra) y esterilizada con UV.

Las larvas se cultivaron a las tres temperaturas experimentales (12-15-17°C), tanto para 15 y 17°C se utilizó un método a "baño-maría" en donde los acuarios experimentales fueron parcialmente sumergidos en el agua contenida en los estanques del sistema de cultivo (Figura 4). Para el tratamiento de 12°C fue necesario utilizar un baño termorregulador

conectado con un estanque que contenía aproximadamente 200 L de agua dulce (térmicamente aislado utilizando una plancha de poliestireno) a través de un sistema de mangueras (7 m de longitud total) que permitían el control sobre la temperatura del agua dentro del estanque donde los acuarios experimentales contenientes las larvas fueron parcialmente sumergidos en el agua y mantenidos a 12°C (Figura 5).

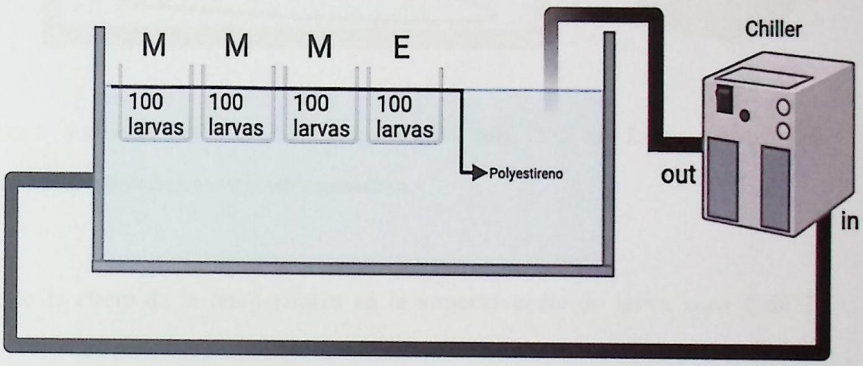


Figura 4. Sistemas de cultivo con Chiller utilizado para los 17°C y 15°C. M= larvas cultivada para experimento 1, E= larvas cultivada para experimento 2.

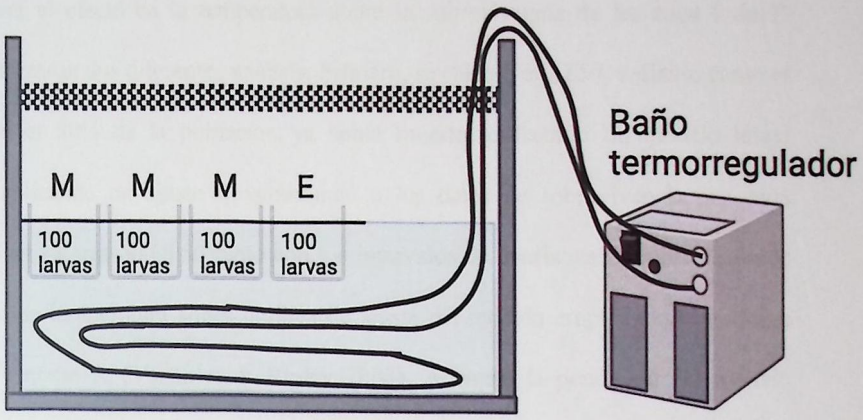


Figura 5. Sistema de cultivo con baño termorregulador para 12°C. M= Larvas cultivada para mortalidad, E= Larvas cultivada para morfometría geométrica.

Experimento 1: efecto de la temperatura en la supervivencia de larva zoea 1 de *T. dentatus*.

Por cada tratamiento de temperatura tres acuarios experimentales de cultivo fueron asignados al conteo de la mortalidad. La mortalidad fue evaluada diariamente (aquellas larvas que no se movían ni reaccionaban fueron contabilizadas como muertas), anotando la cantidad de vivas y muertas junto a la fecha. Las larvas vivas fueron trasladadas individualmente con la ayuda de una pipeta pasteur en nuevos acuarios experimentales y mantenida a la temperatura experimental. El conteo de mortalidad fue replicado y adaptado desde Baldanzi *et al.* (2020). El experimento terminó cuando todas las larvas habían muerto.

Análisis de datos

Para ver el efecto de la temperatura sobre la sobrevivencia de las zoea 1 de *T. dentatus*, se utilizaron dos diferentes análisis. Primero, se calculó el *LT50*, definido como el día en el cual el 50% de la población ya había muerto, utilizando un modelo lineal generalizado aplicando un ajuste quasibinomial a los datos de sobrevivencia por cada temperatura. Los valores de LT50 junto con los intervalos de confianza fueron calculados por cada valor de temperatura sobre la línea de ajuste del modelo empleando el package MASS en el entorno R (Venables & Ripley 2003). Además, la pendiente del modelo calculada para cada temperatura entregó una medida de la tasa de mortalidad de las larvas de *T. dentatus.*

En el segundo análisis se usó el estimador de Kaplan-Meier (Kaplan & Meier 1958) como test estadístico no paramétrico para calcular la función de supervivencia de las larvas Zoea 1 a lo largo de los días e identificar si existía alguna diferencia significativa entre los tratamientos de temperaturas. La representación visual de esta función es una curva de Kaplan-Meier y muestra cuál es la probabilidad de un evento (supervivencia) en un determinado intervalo de tiempo. Para crear las curvas se procedió primero en asignar a cada evento de mortalidad el valor "dos" mientras que si no ocurriera se le asignó el valor de "uno". De esa forma se obtuvo un marco de datos con el cual se procedió al cálculo de la función de supervivencia utilizando la estimación de Kaplan-Meier de la probabilidad de supervivencia en el tiempo (Kaplan & Meier 1958). La función de Kaplan-Meier para producir las estimaciones se calculó con la función *survfit* del package *Survival* en el entorno R (Therneau & Grambsch 2000). Para ver el efecto de las tres temperaturas de cultivo sobre

la probabilidad de supervivencia se utilizó la función *survdiff* presente en el package *Survival* que compara las curvas de supervivencia utilizando la prueba de rango logarítmico ponderada de Fleming-Harrington (Andersen & Keiding 1998)(Revisar anexo 1 para ver Script).

Experimento 2: efecto de la temperatura en la morfología de larvas zoea1 de *T. dentatus*.

Toma de fotos.

Por cada tratamiento se utilizó un acuario experimental con 100 larvas que fueron cultivadas hasta el noveno día, por cada día se extrajeron entre 5 y 10 individuos vivos para ser guardados en tubos eppendorf de 1,5 ml plásticos y congelados a -20°C.

Diariamente de sacaron fotografías bajo microscopio (Leica DMLB con magnitud 5x), donde cada foto debía contener toda la caparaza, espícula dorsal, ojo y órgano dorsal (ejemplo, Figura 5). Los individuos fueron traspasados a una placa Petri con agua de mar filtrada (0,1 µm) y esterilizada con UV, desde esta placa Petri se tomaban con mucha cautela para ser colocados sobre un portaobjetos con un cubreobjeto adherido. Con el fin de generar imágenes donde las estructuras a digitalizar se podían visualizar claramente bajo un mismo plano, se procedió a calcular un ángulo de inclinación óptimo del portaobjeto, midiendo las distancias del portaobjeto inclinado (hipotenusa) y la de la base (cateto adyacente). Finalmente, se aplicó la siguiente fórmula para obtener el ángulo deseado (α):

$$\alpha = cos - 1(\frac{hipotenusa}{cateto\ adyacente})$$

Después de diferentes pruebas preliminares se estableció un ángulo de inclinación óptimo de 27°.

Solo la espina dorsal del organismo debía quedar apoyada sobre el cubreobjeto con pendiente (Figura 6) y el órgano dorsal debía quedar en línea con la Esquina Superior Izquierda de la Caparaza (ESIC) para que quedaran centrados. Realizado esto se ubicaba un segundo cubreobjeto apoyado sobre la larva con un poco de agua de mar filtrada (0,1 µm) y esterilizada con UV, así se tomaron correctamente las fotografías.

De cada individuo se tomaron tres fotos: (1) centrada, (2) inclinada hacia la derecha, (3) inclinada hacia la izquierda (revisar anexo 2, fotografía 2 y 3 de la figura 6), de esta manera se digitalizaron réplicas que fueron utilizadas para calcular el error de digitalización.

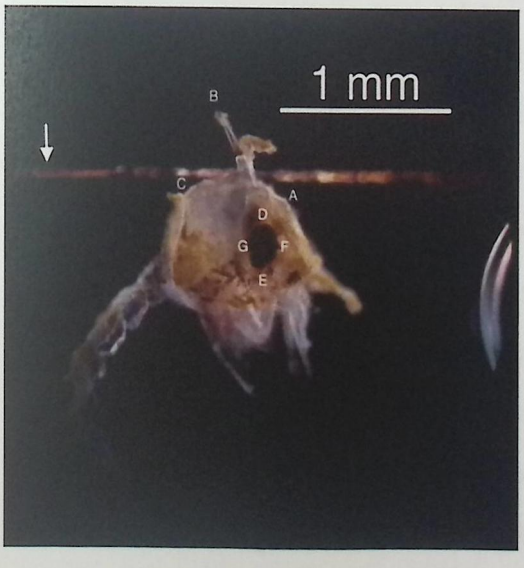


Figura 6. Fotografía bajo microscopio de una larva Zoea 1 con 5x de aumento con sus landmarks. A=Órgano dorsal, B=Punta de la espina dorsal, C=ESIC, D= Lado superior del ojo, E= Lado inferior del ojo, F= Lado derecho del ojo, G= Lado izquierdo del ojo, Flecha blanca= Cubreobjeto de apoyo.

Digitalización.

Las imágenes se digitalizaron utilizando el paquete de Rstudio (V. 1.4.1717) llamado Stereomorph (Olsen & Westneat 2015); con este se marcaron hitos morfológicos de dos tipologías: landmarks (n=7) y semilandmarks (n=10). Los landmarks son hito morfológico independiente mientras que los semilandmarks son hito morfológico dependiente de otros hitos. Esta digitalización formada por landmarks y semilandmarks permitió describir correctamente las curvas de toda la parte superior de la caparaza y la forma o tamaño del ojo. En particular, los landmarks empleados fueron los siguientes: el órgano dorsal, la punta de la espina dorsal, el ESIC y 4 landmarks para el ojo (Figura 6). Los semilandmarks permitieron realizar dos curvas (5 semilandmarks cada una), generadas desde la punta de la espina dorsal (B) hasta el órgano dorsal (A) y ESIC (C), respectivamente (ver especies alineadas en resultados y Figura 7, líneas moradas son representativas de los semilandmarks). A los semilandmarks se les aplicó un criterio de disminución de la energía de unión ("minimizing bending energy"). Además de digitalizar los landmarks, debían marcarse los puntos de regla, que sirven para hacer una proporción entre pixel y tamaño que más adelante fue utilizado para estimar la alometría (Figura 7, ejemplo de la digitalización).

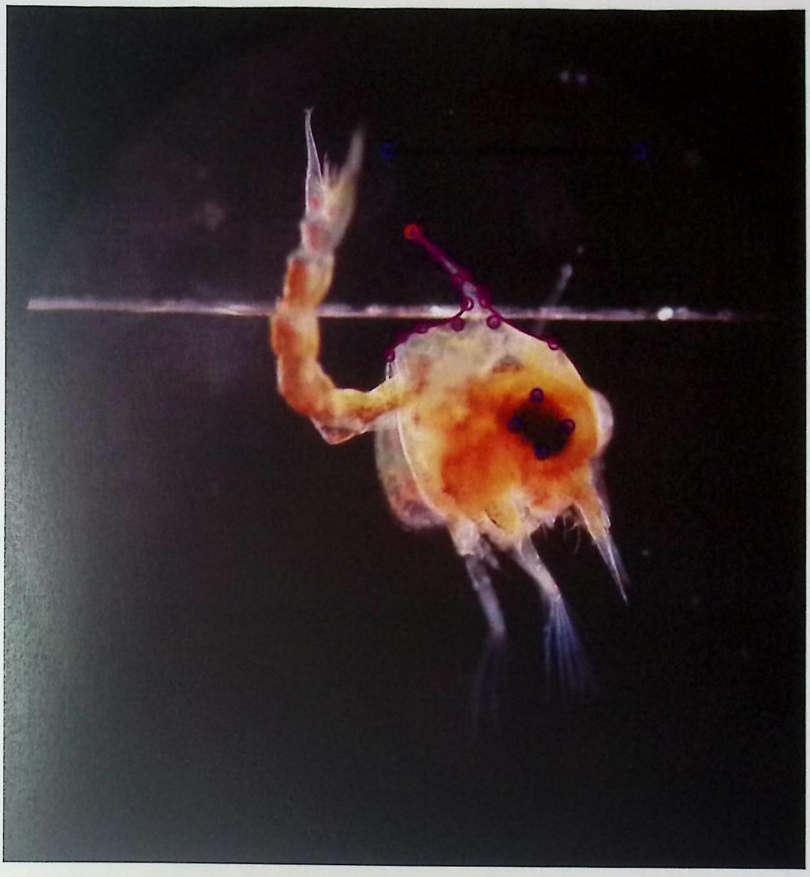


Figura 7. Larva zoea 1 digitalizada con el paquete Stereomorph.

Análisis de los datos.

La información recolectada sobre la digitalización fue tratada con otro paquete de Rstudio llamado Geomorph (Herrmann & Bucksch 2013). El primer paso fue realizar un análisis generalizado de Procrustes (GPA por sus siglas en inglés; Rohlf & Slice 1990), este análisis tiene tres pasos: (1) *Escalamiento* de los landmarks a un mismo tamaño con el fin de llevar a una misma escala todos los individuos, utilizando el tamaño del centroide de cada

uno, este término se define como una cuantificación de la extensión de los landmarks respecto a su centro de gravedad (Toro Ibacache *et al.* 2010); (2) *Posicionamiento* (ubicar el centro de gravedad de todos los individuos en el mismo punto); (3) *Rotación* (Klingenberg 2010) y así la información digitalizada bruta fue transformada para poder comparar la forma, excluyendo la orientación y tamaño.

El resultado del GPA entregó las coordenadas de los Procrustes (landmarks después de ejecutar GPA), las cuales fueron usadas para realizar un análisis de componentes principales (PCA). Este análisis indica cuáles son los componentes principales (landmarks o conjunto de landmarks) que explican la mayoría de la varianza en la forma entre los individuos. Además, nos permite representar el morfoespacio (donde cada eje es un componente principal) adentro del cual se distribuyen los individuos dependiendo de la morfología que estos tenían.

Para cuantificar el error asociado por una incorrecta digitalización se aplicó un análisis de la varianza (ANOVA de Procrustes) sobre las réplicas de la digitalización. El error de digitalización fue calculado utilizando la siguiente ecuación:

$$\%Error\ digitalización = MS_{rds} \div \Sigma MS \times 100$$

Donde, MS_{rds} = Suma de cuadrados medios de los residuales, MS = suma de cuadrados medios.

Para evaluar el efecto de la temperatura (variable explicativa categórica con tres niveles (12-15-17°C) en tres días distintos (días 1-5 y 8) se realizaron 3 Análisis de Variables Canónicas (uno por cada día) utilizando la distancia de Procrustes y una corrección de Bonferroni para identificar diferencias significativas (Revisar Anexo 3 para el protocolo detallado del análisis de Morfometría en Rstudio) utilizando el paquete de Rstudio llamado "Morpho" (Schlager 2017).

RESULTADOS

Experimento 1: efecto de la temperatura en la supervivencia de larva zoea1 de *T. dentatus*.

En los primeros dos días del experimento no hubo diferencias visuales en la mortalidad a las tres distintas temperaturas. En el tercer día, a 17 y 15°C la supervivencia de las larvas alcanzó valores parecidos (92% vivas) mientras que a 12°C tuvo una fuerte baja que redujo al 50% la supervivencia. Hasta el quinto día las larvas cultivadas a 15 y 17°C tuvieron las mismas pequeñas bajas graduales en la supervivencia (80%), mientras que a los 12°C desde el cuarto hasta el noveno día se mantuvo aproximadamente en el 25% de supervivencia. Desde el quinto hasta el séptimo día las larvas cultivadas a 15 y 17°C registraron una fuerte baja en la supervivencia. En el octavo día, menos de un 5% de las larvas a 17°C ha sobrevivido, al mismo tiempo, los 15°C (12,5% aproximadamente) tuvieron una supervivencia menor a los 12°C (25% aproximadamente). En el día once murieron las últimas larvas que habían sobrevivido a 15 y 12°C. En la Figura 8 se muestran las curvas de supervivencia por cada acuario.

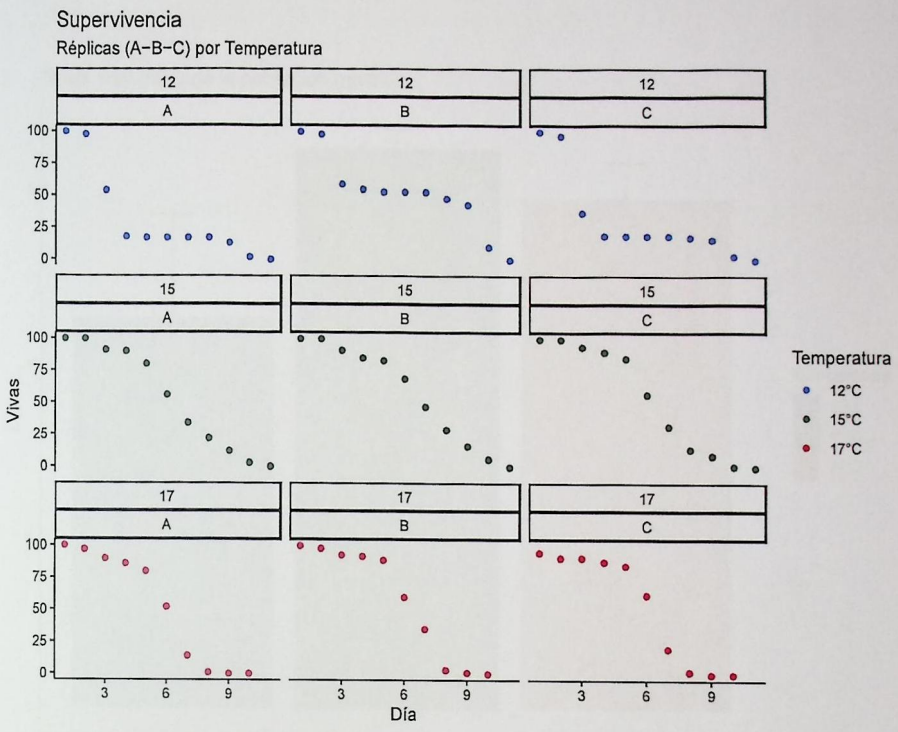


Figura 8. Supervivencia por día de las tres temperaturas en porcentajes por cada réplica.

Los resultados de LT50 muestran una mayor mortalidad de las larvas a la temperatura de 12°C (LT50 = 4,5 días), mientras que a 15°C y a 17°C el LT50 fue de 6,4, y 5,9 días, respectivamente. Los valores promedios del LT50 por cada temperatura junto con los respectivos intervalos de confianzas están graficados en la Figura 9, en donde se aprecia que la supervivencia de las larvas (medida como LT50) alcanza valores mayores a la temperatura de 15°C (tolerancia óptima; Storch *et al.* 2009), mientras que a las temperaturas de 12 y 17°C el LT50 alcanzó valores menores. Los valores de las tasas de mortalidad por cada temperatura presentan valores diferentes: para los 12°C la pendiente fue de -0,47, mientras que a 15 y 17°C fueron de -0,89 y -1,04, respectivamente.

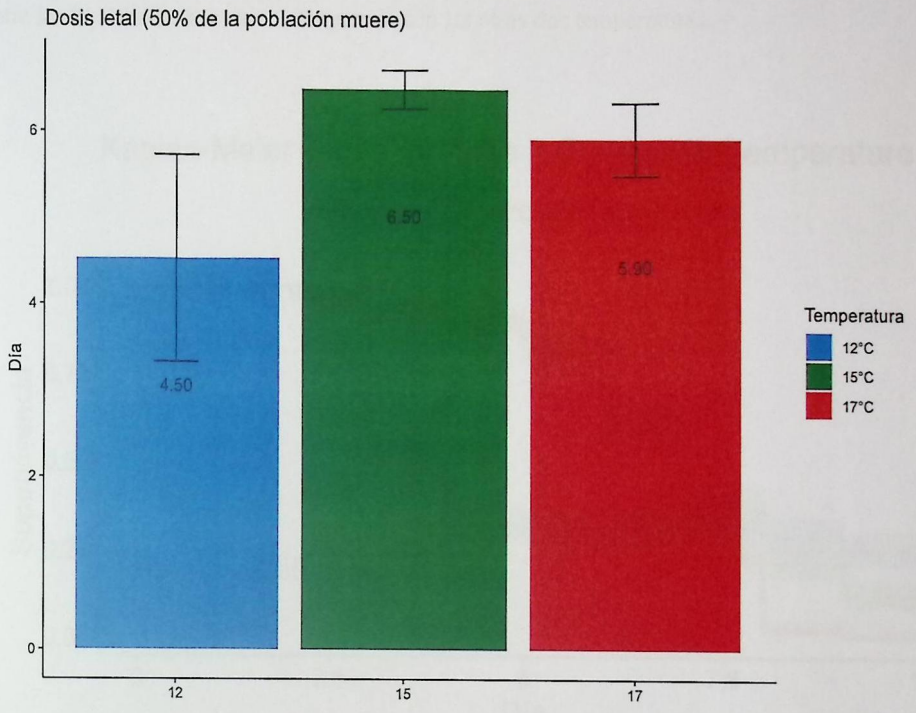


Figura 9. Día en el cual las larvas llegaron a su 50% de supervivencia (LT50). Las barras verticales corresponden al intervalo de confianza al 95% del LT50 por cada temperatura.

Las curvas de Kaplan-Meier realizada por cada temperatura confirmaron y ampliaron los resultados obtenidos con el cálculo de LT50, indicando una tendencia negativa de la probabilidad de supervivencia con el tiempo. Específicamente, hubo una diferencia significativa ($p=0.0005$) entre las tres curvas de supervivencia de las larvas Zoea 1 indicando que la temperatura de 15 y 17°C presentaron valores de probabilidad de supervivencia iniciales significativamente mayores comparado con los 12°C hasta el séptimo día. Sin

embargo, la temperatura de 12°C mostro valores de supervivencia significativamente más altos entre los 8 y 10 días de cultivo comparada con las otras dos temperaturas.

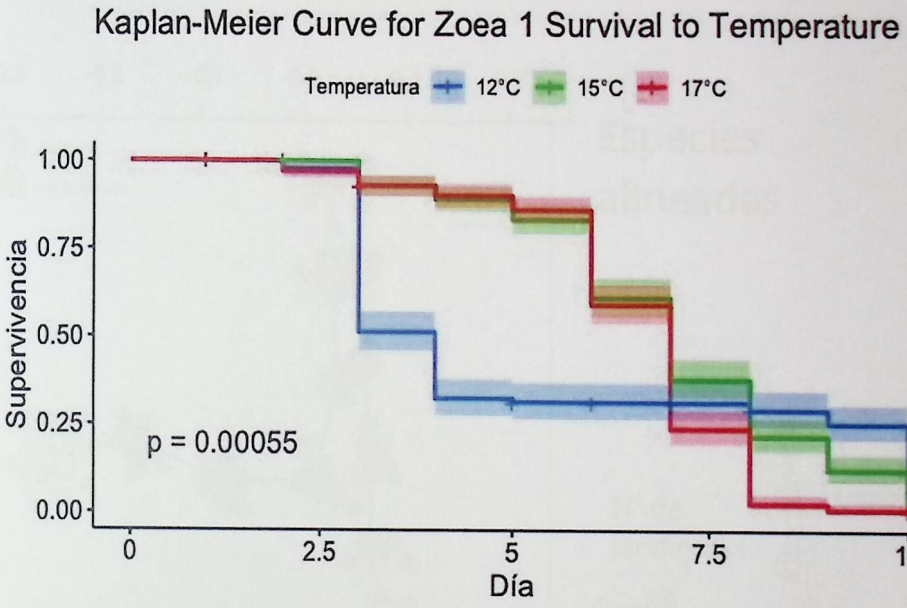


Figura 10. Curvas de Kaplan-Meier por cada temperatura con intervalos de confianza.

Experimento 2: efecto de la temperatura en la morfología de larvas zoea1 de *T. dentatus*.

El análisis generalizado de Procrustes entrego la morfología consenso que representa el morfoespacio en donde se visualiza el total de las imagenes digitalizadas de las zoeas 1 (Figura 11; N=120). Las variaciones en la morfología de toda las larvas fue explicada por 33 componentes principales (PC; por sus siglas en inglés), de los cuales solo los primeros 6

explican más del 90% de la variación, los tres primeros explican sobre un 10% (32%, 20% y 18,2% respectivamente; Figura 12).

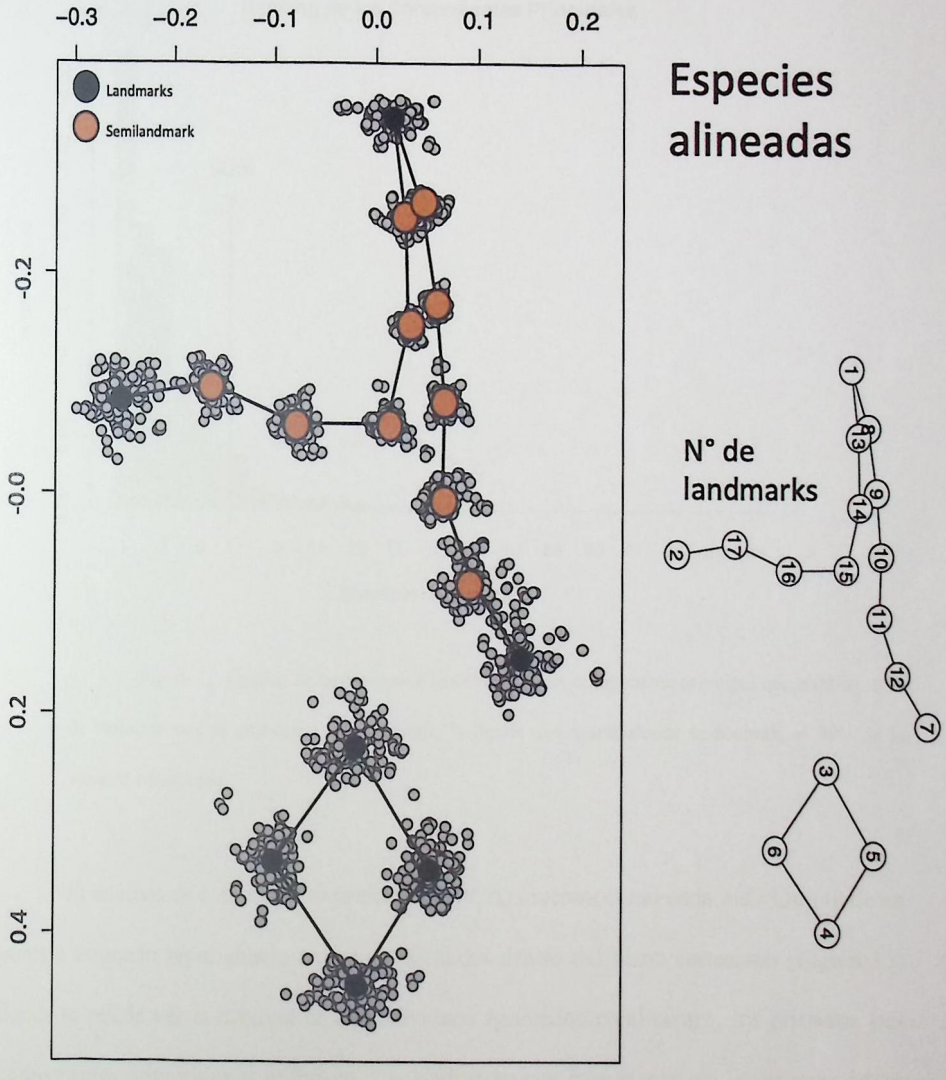


Figura 11. En la figura a la izquierda los círculos grises representan las 198 imágenes digitalizadas alineadas (Procrustes obtenidos del GPA), mientras que, en negro se representan los landamarks y en naranjo los semilandmarks consenso. La figura pequeña a la derecha indica el número correspondiente a cada landmark o semilandmark (círculo con número de relleno).

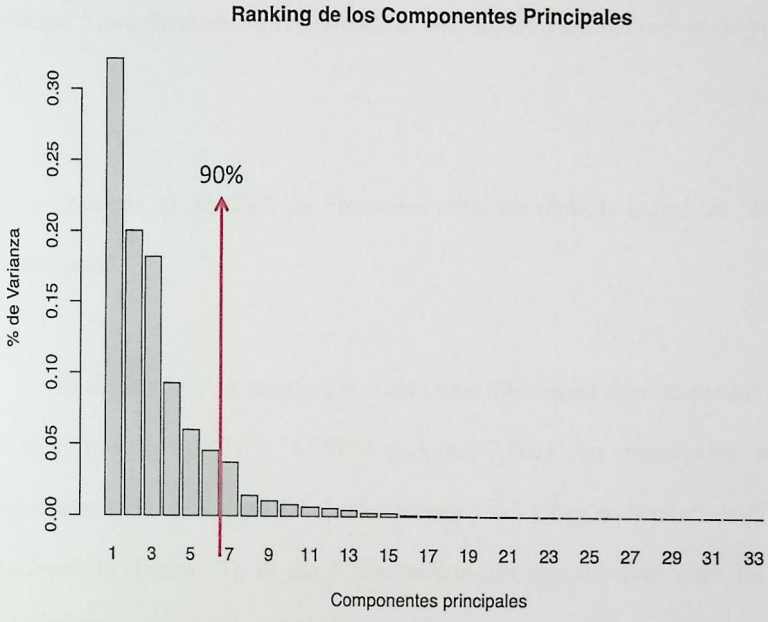


Figura 12. Gráfico de barras donde cada barra es un componente principal que explica el % de variación que se atribuye a la morfología, la flecha roja marca donde se acumula el 90% de la variación explicada.

El análisis de componentes principales (PCA) muestra como cada individuo tiene un puntaje asignado representado en sus coordenadas dentro del plano cartesiano (Figura 13) donde se puede ver la mayoría de los individuos agrupados en el centro, los primeros tres componentes principales se atribuyen. Los landmarks más importantes en la varianza de los

individuos digitalizados son el lado inferior del ojo (en un eje vertical) y la punta de la espina dorsal (en un eje vertical; Figura 14). El lado superior, derecho y izquierdo (en un eje horizontal) son el que tienen la mayor importancia en el componente principal 2, al igual, que la punta de la espina dorsal (también en un eje horizontal; Figura 14), el componente principal 3 esta directamente relacionado al lado superior del ojo (en un eje vertical; Figura 16).

Además, el ANOVA de Procrustes entre las réplicas indicó un 5% de error de digitalización.

El análisis de CVA mostró que el día 1 tuvo diferencias significativas entre los grupos 12-15°C (p-value=0.003) y 15-17°C (p-value=0.003), las principales diferencias se encontraron en la orientación del ojo (landmarks 3-4-5 y 6) y en la punta de la espina dorsal (landmark 1) (Figura 17). El día 5 tuvo diferencias significativas entre los 12-17°C (p-value=0.003) y 15-17°C (p-value=0.018), el ojo (landmarks 3-4-5 y 6) tuvo un crecimiento mayor que los demás grupos para el día 5 y la espina dorsal (representada por el landmark 1 y semilandmarks 8-9-10-1-13-14-15) tuvo una curva mayor hacia su parte posterior, además, el landmark 16 desde los 12° hasta los 17°C baja levemente (figura 18). El día 8 mostró diferencias significativas entre todos sus grupos (12-15, p-value=0.018; 12-17, p-value=0.003; 15-17, p-value=0.039), la principal diferencia es el tamaño del ojo que aumenta desde los 12°C hasta los 17°C (figura 19).

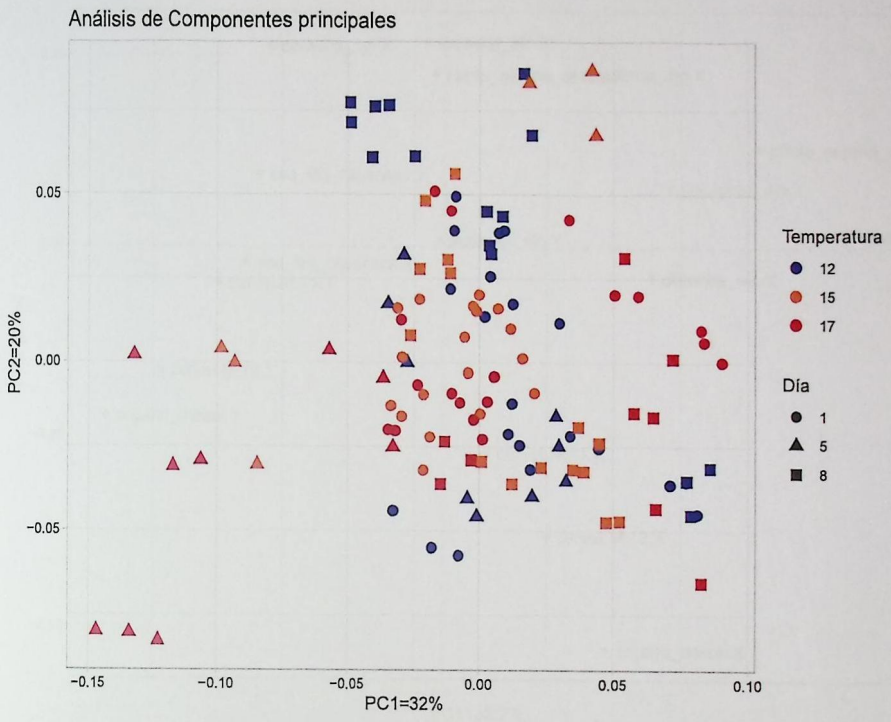


Figura 13. Distribución de los individuos en el morfoespacio del PC1 y PC2. azul=12°C; naranjo=15°C; rojo=17°C. Circulo=Día 1; Triangulo=Día 5; Cuadrado=Día 8.

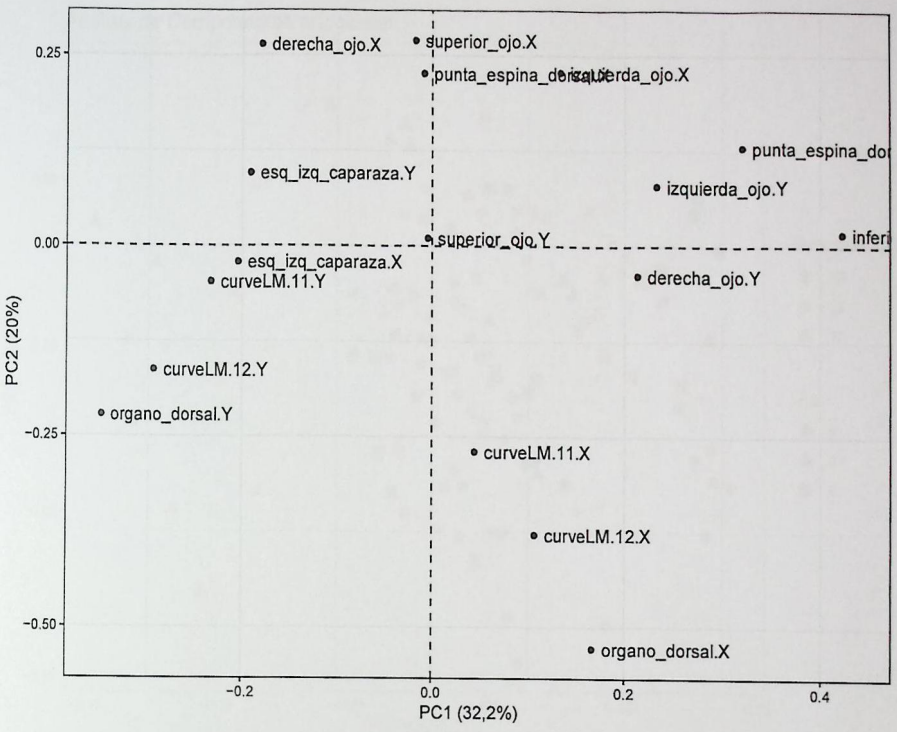


Figura 14. Distribución de las cargas factoriales en el morfoespacio del PC1 y PC2.

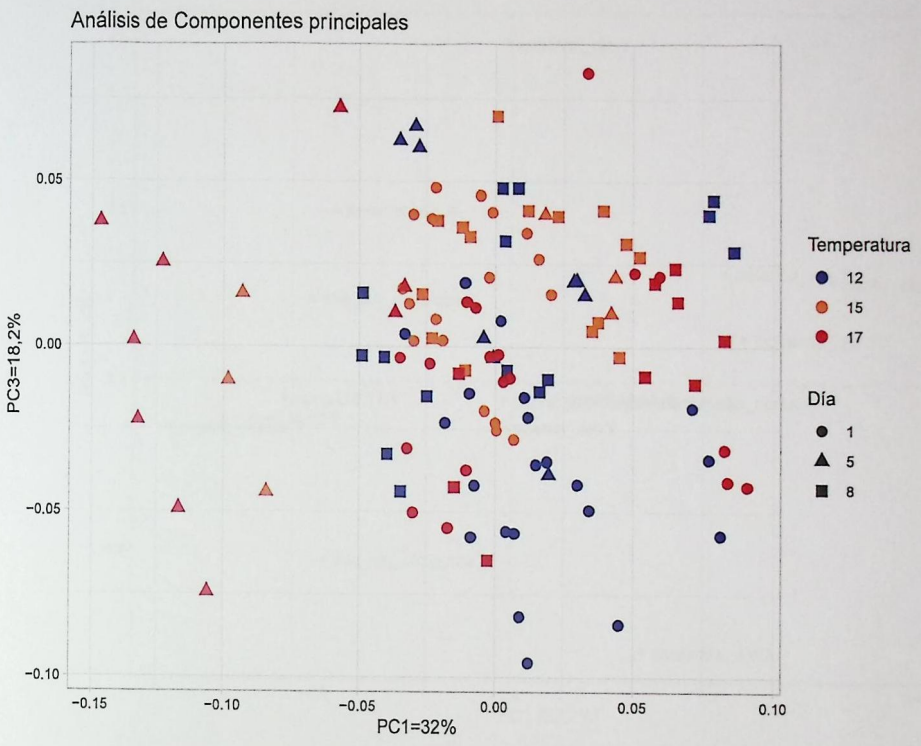


Figura 15. Distribución de los individuos en el morfoespacio del PC1 y PC3. azul=12°C; naranjo=15°C; rojo=17°C. Circulo=Día 1; Triangulo=Día 5; Cuadrado=Día 8.

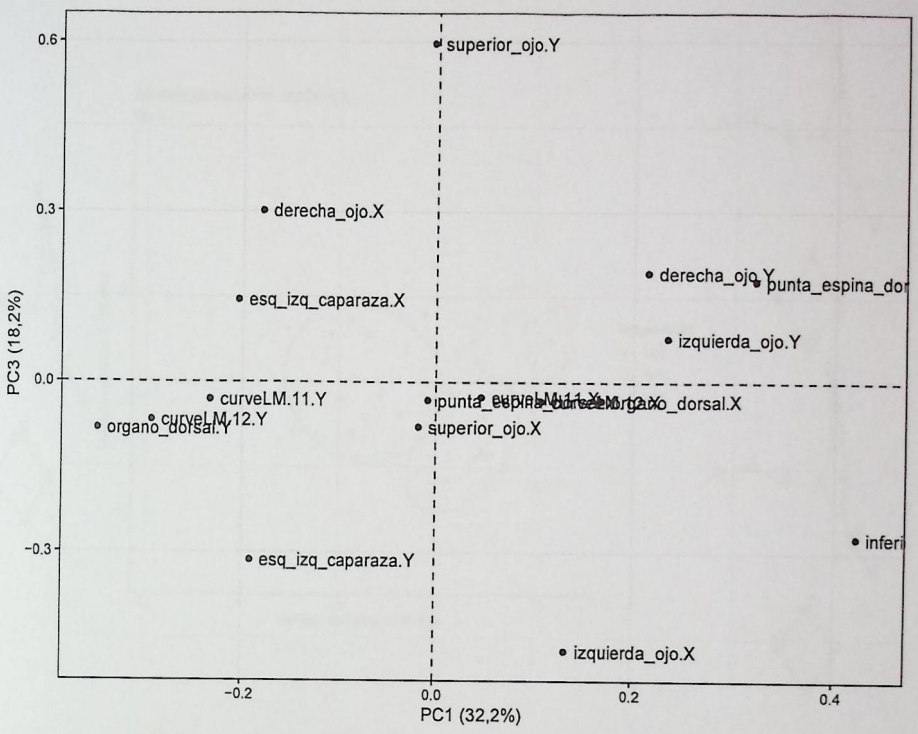


Figura 16. Distribución de las cargas factoriales en el morfoespacio del PC1 y PC3.

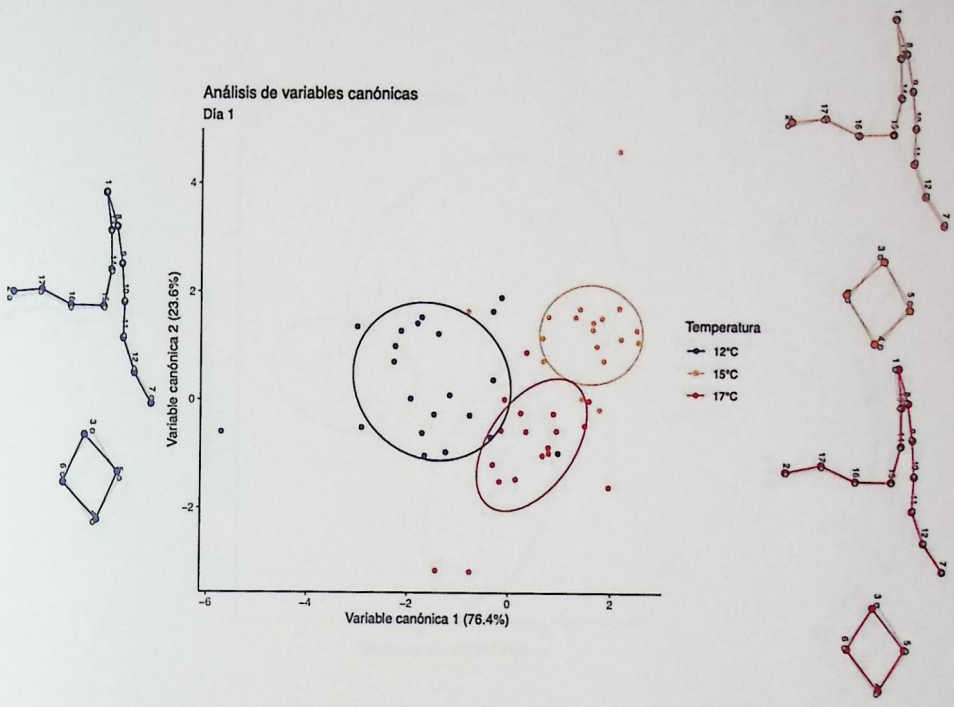


Figura 17. CVA para el día 1. El color azul representa los 12°C, la figura al lado izquierdo en azul es la forma promedio de esta temperatura; el color naranjo representa los 15°C, la figura superior derecha es la forma promedio de esta temperatura; El color rojo representa los 17°C, la figura inferior derecha es la forma promedio de esta temperatura. Todas las figuras promedio están contrastadas por una gris que representa la forma promedio del total de temperaturas y días.

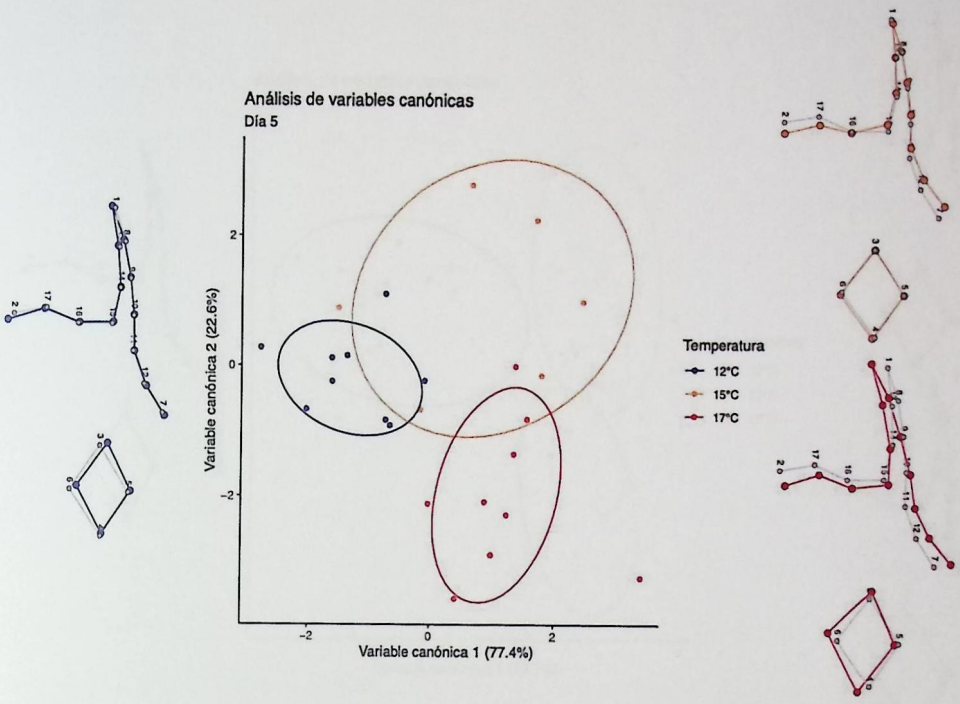


Figura 18. CVA para el día 5. El color azul representa los 12°C, la figura al lado derecho en azul es la forma promedio de esta temperatura; el color naranjo representa los 15°C, la figura superior derecha es la forma promedio de esta temperatura; El color rojo representa los 17°C, la figura inferior derecha es la forma promedio de esta temperatura. Todas las figuras promedio están contrastadas por una gris que representa la forma promedio del total de temperaturas y días.

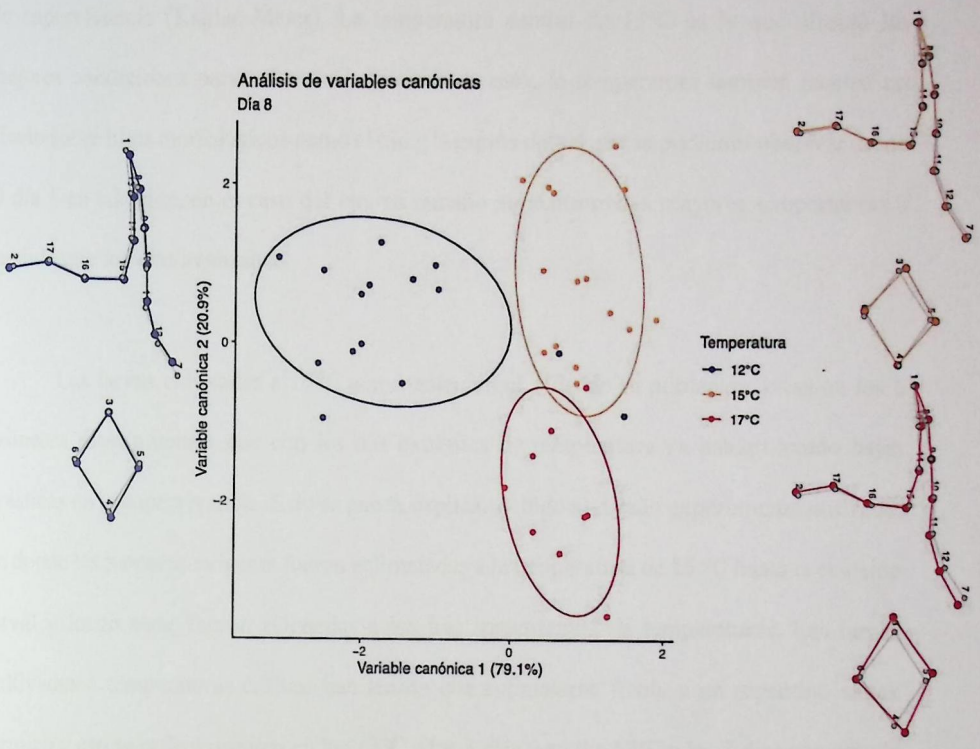


Figura 19. CVA para el día 8. El color azul representa los 12°C, la figura al lado derecho en azul es la forma promedio de esta temperatura; el color naranjo representa los 15°C, la figura superior derecha es la forma promedio de esta temperatura; El color rojo representa los 17°C, la figura inferior derecha es la forma promedio de esta temperatura. Todas las figuras promedio están contrastadas por una gris que representa la forma promedio del total de temperaturas y días.

DISCUSIÓN

Las temperaturas extremas tienen efectos negativos sobre la supervivencia de larvas zoea 1 de *Taliepus dentatus*, tanto en la medida del LT50 como en la curva de probabilidad

de supervivencia (Kaplan-Meier). La temperatura central de 15°C es la que ofreció las mejores condiciones para sobrevivir. Además de esto, la temperatura también mostró un efecto sobre hitos morfológicos como el ojo y la espina dorsal que se pudieron observar desde el día 1 en adelante, en el caso del ojo, su tamaño aumentó más a mayores temperaturas a medida que los días avanzaban.

Las larvas cultivadas a 15°C aún mantenían el 50% de su población vivas en los 6 primeros días, mientras que con los dos extremos de temperatura ya habían tenido bajas drásticas en la supervivencia. Esto se puede explicar debido al diseño experimental utilizado, en donde las hembras ovígeras fueron aclimatadas a la temperatura de 15 °C hasta la eclosión larval y luego estas fueron asignadas a los tres tratamientos de temperaturas. Las larvas cultivadas a temperaturas críticas han tenido que aclimatarse frente a un repentino shock térmico y eso se reflejó primero en los 12°C a los 3 días y en los 17°C a los 7 días comparada con la temperatura de 15°C, el aumento de temperatura tuvo un efecto más tardío pero brusco, ya que la totalidad de sus larvas murió antes que a 12°C. Lo más probable, es que el repentino aumento de 2°C más la falta de alimentación interactuaron en el séptimo día. De todas formas este resultado representa una confirmación de que la temperatura promedio de 15°C registrada por los sensores en el área de muestreo es una temperatura que favorece una mayor supervivencia de las larvas con importantes implicaciones en la dispersión, al menos, durante primavera-verano.

La dispersión larval puede ser mayor o menor según cuanto tiempo de duración tiene esa etapa de su vida, se sabe que la duración de las etapas de vida tiene una relación inversa

con la temperatura (esta relación está medida por el metabolismo) (O'Connor *et al.* 2007). En este sentido las larvas de *Taliepus dentatus* que son liberadas en invierno (12°C) tienen tiempos de desarrollo más largos en comparación con las de verano (17°C), durante estos tiempos están sujetas a movimiento por las corrientes y mortalidad (O'Connor *et al.* 2007), lo que indica también un efecto sobre la conectividad poblacional de las especies (Swearer *et al.* 2019).

Evolutivamente, las especies con estadios larvales han disminuido en lugares con bajas temperaturas, tiempos de desarrollo más largos inciden en mayores mortalidades y por esta razón podría haber una selección evolutiva en reducir la duración larval planctónica en climas helados (Pearse *et al.* 1991). Lo cual se ve claramente reflejado en la regla de Thorson, que describe una disminución latitudinal de especies que tienen desarrollos larvales planctónicos hacia los polos (Pechenik *et al.* 1987; Houde 1989, 1991).

Por otro lado, el repentino shock térmico que causó mortalidades mayores en los primeros 3 y 7 días (12 y 17°C respectivamente) en el experimento para las temperaturas críticas se puede reflejar en terreno en fenómenos como la surgencia (enfriamiento; Tapia *et al.* 2009) u olas de calor (calentamiento; Narváez *et al.* 2006). Eventos de enfriamiento identificados en las costas de Chile (norte chico y central) causaron bajas en la temperatura promedio (entre 1,6-2,8°C) que duraron desde 8,8 hasta 15,7 días, los cuales fueron estadísticamente asociados a fenómenos de surgencia modelados por la topografía y orientación de la costa (Tapia *et al.* 2009). También, en las zonas de surgencia se ha correlacionado la temperatura con la distribución del meroplancton (Ej. Poulin *et al.* 2002;

Shanks & Brink 2005). Según los puntos recién mencionados y los resultados de este estudio, las larvas que sean liberadas en una zona de surgencia podrían tener una distribución espacial moldeada por este fenómeno y una alta mortandad en los primeros días.

Se han identificado dos tipos de repentinas olas de calor (ambas causadas por una relajación de los vientos que generan surgencia) en la costa central de Chile (30 y 34°S): la primera y más común, aumentos entre 0,5 y 1°C de corta duración y superficiales en la columna de agua; la segunda de menor ocurrencia, pero detectada al menos dos veces por primavera-verano, con aumentos de hasta 3°C que pueden durar días en los primeros 25 m de profundidad (Narváez *et al.* 2006). El segundo caso se asimila bastante a las condiciones del tratamiento a 17°C, por lo que, en primavera-verano las larvas de *Taliepus dentatus* podrían mantenerse estables, pero después tener un fuerte decaimiento en el séptimo día si son liberadas durante estos fenómenos. Un estudio realizado durante 1964-1966 identificó que cada primavera-verano hubo un debilitamiento de las condiciones anticiclónicas comunes de la costa en Chile central que favoreció un momentáneo (hasta 4 días en 1966) aumento de las temperaturas del agua en 2-3°C y hasta 5°C del promedio mensual (Caviedes 1971). Lo que indica la presencia de aumentos en la temperatura superficial repentinos desde hace más de 55 años.

En el primer día de los tratamientos se identificaron diferencias morfológicas (de ambas temperaturas críticas con 15°C, pero no entre ellas) en la orientación del ojo, muy posiblemente, a causa del estrés por los cambios de temperatura. Al igual que en un experimento realizado con cangrejos de río adultos (*Procrambarus bouvieri*) cultivados a

distintas temperaturas (10-25°C), se identificaron diferencias en la posición de los pigmentos según cada temperatura tanto en condiciones con o sin luz. El aumento de temperatura causante de una diferencia en la orientación del ojo durante el primer día puede estar relacionado con un potencial de reposo electrofisiológico que se activa y genera una desviación de las células de la retina hacía una posición adaptada para la luz. Esta interesante conexión entre temperatura-luz que tiene un efecto sobre los pigmentos del ojo fue identificada en el crustáceo *Orchomene pubs* en un experimento hecho por Meyer-Rochow & Tiang (1979) cuando aplicaron un estrés por calentamiento durante 7 horas. La temperatura entonces podría ser un indicativo para la posición de los pigmentos del ojo sobre cuando hay baja o alta intensidad de luz, ayudando en terreno a las migraciones verticales de las larvas cuando anochece (disminución en la temperatura y luz superficial) y cuando amanece (aumento en la temperatura y luz superficial). Considerar el factor de luz será un elemento clave para próximos estudios en el desarrollo temprano de la especie modelo.

Las larvas zoea 1 de *Taliepus dentatus* utilizan los maxilipedos y el abdomen para nadar, este último late una mayor cantidad de veces a 19°C que a 11°C cuando son cultivadas experimentalmente (Storch *et al.* 2011). Si la cantidad de nado es mayor a mayores temperaturas a lo largo de 5 días, es probable que la fuerza ejercida por la hidrodinámica sea mayor a 17°C que a 12°C, esta fuerza debe haber sido la razón por la cual en los tratamientos la espina dorsal tuvo una curvatura más remarcada a 17°C en el quinto día. Este efecto no se vio en el octavo día por la incapacidad de alimentarse de las larvas con las microalgas entregadas, de seguro las larvas con mayor actividad de nado (y por ende con mayor curvatura) murieron antes de poder llegar al último día, sobreviviendo únicamente las que no

tuvieron altos gastos energéticos (menor curvatura). En terreno, las larvas liberadas en verano podrían ser más veloces que las liberadas en invierno por la simple curvatura de su espina dorsal.

Finalmente en el octavo día, las diferencias más claras se identificaron en la posición del órgano dorsal y tanto en la orientación como en el tamaño del ojo. La función del órgano dorsal aún no es totalmente comprendida, según autores podría ser un órgano baroreceptor (Laverack 1990; Laverack *et al.* 1996) y en este contexto su cambio en la posición no tendría una mayor relación con su función, sino, con los distintos crecimientos causados por los tratamientos. El tamaño del ojo se puede deber a un desarrollo más rápido de la larva a 17°C, por ejemplo, la larva del crustáceo *Hyas coarctatus* tuvo diferencias en sus días de desarrollo cuando fueron cultivadas a 12-15 y 18°C.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos permiten corroborar la hipótesis de que las temperaturas críticas de 12 y 17°C tuvieron efectos negativos en la supervivencia de larvas zoea 1 de *Taliepus dentatus*, sin embargo, cabe destacar que una tuvo un efecto negativo más notorio en el LT50 (rápida mortalidad en los primeros días, 12°C), mientras que la otra tuvo un claro efecto negativo en la curva de kaplan-meier (mortalidad muy brusca pero tardía, 17°C). Al mismo tiempo, la hipótesis de que mayores temperaturas causarían una mayor curvatura en

la espina dorsal es parcialmente aceptada, ya que, se pudo identificar este efecto en el quinto día a 17°C, pero no así, con un efecto mayor en el octavo día, principalmente por la falta de alimentación de las larvas. Sin embargo, este estudio presenta una primera aproximación utilizando morfometría geométrica para el estudio de la morfología de las larvas de *Taliepus dentatus*, los principales puntos a mejorar de este estudio serían alimentar a las larvas y sacarlas para digitalizar a la misma hora todos los días para evitar un efecto por ciclos circadianos. Por otro lado, los siguientes estudios debiesen agregar (1) otros factores como salinidad o pH, lo cuales podrían tener un efecto mayor o interactivo con la temperatura sobre la morfología, (2) iniciar los tratamientos desde la hembra ovigera para poder evaluar efectos crónicos o latentes (carry-overs) y finalmente (para hacer un estudio más realístico con la naturaleza 3) realizar un tratamiento con fluctuaciones de temperatura diarias.

LITERATURA CITADA

Abrunhosa F & M Melo. 2008. Development and functional morphology of the foreguts of larvae and postlarvae of three crustacean decapods. Brazilian Journal of Biology 68(1): 221–228. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842008000100032>.

Aedo G, M Retamal, C Suárez, S Montecinos, M Pedraza & P Arana. 2009. Estado actual del conocimiento de las principales especies de jaibas a nivel nacional.

Aïdam A, CL Michel & X Bonnet. 2013. Effect of Ambient Temperature in Neonate Aspic Vipers: Growth, Locomotor Performance and Defensive Behaviors. Journal of

Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology 319(6): 310–318. <https://doi.org/10.1002/JEZ.1794>.

Ampuero D, AT Palma, D Veliz & LM Pardo. 2010. Description, seasonal morphological variation, and molecular identification of Paraxanthus barbiger megalopae obtained from the natural environment. Helgoland Marine Research 64(2): 117–123. <https://doi.org/10.1007/s10152-009-0172-9>.

Andersen P & N Keiding. 1998. Survival analysis. Encyclopedia of Biostatistics 6: 4452–4461.

Anger K. 1984. Development and growth in larval and juvenile *Hyas coarctatus* (Decapoda, Majidae) reared in the laboratory. Marine Ecology Progress Series 19. <https://doi.org/10.3354/meps019115>.

Anger K (Klaus). 2001. The biology of decapod crustacean larvae. : 419.

Aparicio-Rizzo P & I Masotti. 2019. Inter-annual variability of oceanographic conditions and phytoplankton in Valparaíso Bay (~33°S), central Chile. Revista de Biologia Marina y Oceanografia 54(1). <https://doi.org/10.22370/rbmo.2019.54.1.1495>.

Balbontín F & A Montecinos. 1993. Indices de surgencia y circulación superficial del mar: implicancias biológicas en un área de desove de peces entre Los Vilos y Valparaíso, Chile. Revista de Biologia Marina Y Oceanografia 28(1): 133–150.

Baldanzi S, D Storch, M Fusi, N Weidberg, A Tissot, S Navarrete & M Fernández. 2020. Combined effects of temperature and hypoxia shape female brooding behaviors and the early ontogeny of the Chilean kelp crab *Taliepus dentatus*. Marine Ecology Progress Series 646: 93–107. <https://doi.org/10.3354/meps13381>.

Baldanzi S, D Storch, SA Navarrete, M Graeve & M Fernández. 2018. Latitudinal variation in maternal investment traits of the kelp crab *Taliepus dentatus* along the coast of Chile. Marine Biology 165(2): 37. <https://doi.org/10.1007/s00227-018-3294-2>.

Barría EM, C G. Jara & KA Paschke. 2005. La temperatura como factor de variabilidad en el desarrollo y morfología de larvas zoeas de *Acanthocyclus hassleri* Rathbun (Decapoda, Brachyura, Atelecyclidae) cultivadas en laboratorio. Investigaciones marinas 33(1). <https://doi.org/10.4067/S0717-71782005000100002>.

Blaxter JHS. 1991. The Effect of Temperature On Larval Fishes. Netherlands Journal of Zoology 42(2–3). <https://doi.org/10.1163/156854291X00379>.

Broitman BR, NA Lagos, T Opitz, D Figueroa, K Maldonado, N Ricote & MA Lardies. 2021. Phenotypic plasticity is not a cline: Thermal physiology of an intertidal barnacle over 20° of latitude. Journal of Animal Ecology 90(8): 1961–1972. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13514>.

Carreja B, M Fernández & S Agustí. 2016. Joint additive effects of temperature and UVB radiation on zoeae of the crab Taliepus dentatus. Marine Ecology Progress Series 550: 135–145. <https://doi.org/10.3354/meps11715>.

Caviedes C. 1971. Perturbations During the Predominance of Anticyclonic Summer Weather in Central Chile. Revista Geográfica 74: 71–81.

Christiansen ME & K Anger. 1990. Complete Larval Development of Galathea intermedia Lilljeborg Reared in Laboratory Culture (Anomura: Galatheidae). Journal of Crustacean Biology 10(1). <https://doi.org/10.2307/1548672>.

Colin SP & JH Costello. 2002. Morphology, swimming performance and propulsive mode of six co-occurring hydromedusae. Journal of Experimental Biology 205(3): 427–437. <https://doi.org/10.1242/jeb.205.3.427>.

Compton TJ, MJA Rijkenberg, J Drent & T Piersma. 2007. Thermal tolerance ranges and climate variability: A comparison between bivalves from differing climates. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 352(1). <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.07.010>.

Crain JA. 1999. Functional Morphology of Prey Ingestion by Placetron wosnessenskii Schalfeew Zoeae (Crustacea: Anomura: Lithodidae). Biol. Bull 197(2): 207–218.

Dullemeijer P. 1980. Functional morphology and evolutionary biology. Acta Biotheoretica 29(3–4): 151–250. <https://doi.org/10.1007/BF00051368>.

Ewald JJ. 1969. Observations on the Biology of Tozeuma Carolinense (Decapoda, Hippolytidae) from Florida, with Special Reference to Larval Development. Bulletin of Marine Science 19(3).

Fagetti E & I Campodónico. 1971. Desarollo larval en el laboratorio de Taliepus dentatus (Milne-Edwards) (Crustacea Brachyura: Magjidae, Acanthonychinae). Rev Biol Mar Valparaiso 14(3): 1–14.

Fangue NA, M Hofmeister & PM Schulte. 2006. Intraspecific variation in thermal tolerance and heat shock protein gene expression in common killifish, *Fundulus heteroclitus*. Journal of Experimental Biology 209(15). <https://doi.org/10.1242/jeb.02260>.

Felgenhauer BE, AnneB Thistle & L Watling. 2020. Functional Morphology of Feeding and Grooming in Crustacea. Functional Morphology of Feeding and Grooming in

Crustacea. <https://doi.org/10.1201/9781003079354/FUNCTIONAL-MORPHOLOGY-FEEDING-GROOMING-CRUSTACEA-BRUCE-FELGENHAUER-LES-WATLING-ANNE-THISTLE>.

Fincham AA. 2011. Larval development of British prawns and shrimps (Crustacea: Decapoda: Natantia) 5. Palaemon (Palaemon) adspersus Rathke, 1837. Bulletin of the British Museum (Natural History) 48.

Foxon GEH. 1934. Notes on the Swimming Methods and Habits of Certain Crustacean Larvæ. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 19(2): 829–849. <https://doi.org/10.1017/S0025315400046816>.

Frederich M & HO Pörtner. 2000. Oxygen limitation of thermal tolerance defined by cardiac and ventilatory performance in spider crab, Maja squinado. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 279(5). <https://doi.org/10.1152/ajpregu.2000.279.5.R1531>.

Gaines SD & KD Lafferty. 2020. Modeling the Dynamics of Marine Species: The Importance of Incorporating Larval Dispersal. Ecology of Marine Invertebrate Larvae.

Giménez L. 2011. Exploring mechanisms linking temperature increase and larval phenology: The importance of variance effects. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 400(1–2). <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2011.02.036>.

Giménez L & K Anger. 2003. Larval performance in an estuarine crab, Chasmagnathus granulata, is a consequence of both larval and embryonic experience. Marine Ecology Progress Series 249: 251–264. <https://doi.org/10.3354/MEPS249251>.

Goss LB & DL Bunting. 1976. Thermal tolerance of zooplankton. Water Research 10(5). <https://doi.org/10.1016/0043-1354(76)90056-7>.

Harvell CD. 1986. The Ecology and Evolution of Inducible Defenses in a Marine Bryozoan: Cues, Costs, and Consequences. The American Naturalist 128(6). <https://doi.org/10.1086/284607>.

Haynes E. 1979. Description of larvae of the northern shrimp, *Pandalus borealis*, reared in situ in Kachemak Bay, Alaska. FISHERY BULLETIN 77(1).

Herrmann H & H Bucksch. 2013. geomorph. Wörterbuch GeoTechnik/Dictionary Geotechnical Engineering.

Houde ED. 1989. Comparative growth, mortality, and energetics of marine fish larvae: temperature and implied latitudinal effects. Fishery Bulletin 87(3).

Huey RB & JG Kingsolver. 1989. Evolution of thermal sensitivity of ectotherm performance. Trends in Ecology & Evolution 4(5). <https://doi.org/10.1016/0169-5347(89)90211-5>.

Hufford L, R Gomulkiewicz, CD Schlichting & M Pigliucci. 1999. Phenotypic Evolution: A Reaction Norm Perspective. Systematic Botany 24(4). <https://doi.org/10.2307/2419653>.

Jacques F. 2020. The setal system of crustaceans: Types of setae, groupings, and functional morphology. Functional Morphology of Feeding and Grooming in Crustacea: 1–13. <https://doi.org/10.1201/9781003079354-1/SETAL-SYSTEM-CRUSTACEANS-TYPES-SETAE-GROUPINGS-FUNCTIONAL-MORPHOLOGY-FRAN>.

Kaplan E & P Meier. 1958. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. Journal of the American Statistical Association 53(282): 457–481.

Kingsolver JG & RB Huey. 1998. Evolutionary analyses of morphological and physiological plasticity in thermally variable environments. American Zoologist 38(3). <https://doi.org/10.1093/icb/38.3.545>.

Kinne O, C Oppenheimer, F Gessner, J Brett & E Garside. 1970. Temperature. In: Kinne O (ed). Marine ecology: a comprehensive, integrated treatise on life in oceans and coastal waters: 1. Environmental factors, pp. 321–346. Interscience/Wiley, Londres.

Klingenberg CP. 2010. Evolution and development of shape: Integrating quantitative approaches. Nature Reviews Genetics 11(9).

Landers GJ, BA Blanksby, TR Ackland & D Smith. 2009. Morphology and performance of world championship triathletes. http://dx.doi.org/10.1080/03014460050044865 27(4): 387–400. <https://doi.org/10.1080/03014460050044865>.

Laverack MS. 1990. External Sensors and the Dorsal Organ of Crustacea. Frontiers in Crustacean Neurobiology.

Laverack MS, DL Macmillan, G Ritchie & SL Sandow. 1996. The ultrastructure of the sensory dorsal organ of crustacea. Crustaceana 69(5). <https://doi.org/10.1163/156854096x00646>.

Lee RW. 2003. Thermal Tolerances of Deep-Sea Hydrothermal Vent Animals From the Northeast Pacific. The Biological Bulletin 205(2). <https://doi.org/10.2307/1543230>.

Lombardi J & EE Ruppert. 1982. Functional morphology of locomotion in Derocheilocaris typica (Crustacea, Mystacocarida). Zoomorphology 1982 100:1 100(1): 1–10. <https://doi.org/10.1007/BF00312196>.

Madeira D, L Narciso, HN Cabral & C Vinagre. 2012. Thermal tolerance and potential impacts of climate change on coastal and estuarine organisms. Journal of Sea Research 70: 32–41. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2012.03.002>.

Manriquez P & J Cancino. 1991. Depredación de Membranipora isabelleana (Bryozoa) por Taliepus dentatus (Crustacea: Decapoda). Revista de Biología Marina y Oceanografía 26(2): 309–323.

Marshall CD. 2009. Feeding Morphology. Encyclopedia of Marine Mammals, pp. 406–414. Elsevier.

Meyer-Rochow VB & KM Tiang. 1979. The effects of light and temperature on the structural organisation of the eye of the Antarctic amphipod Orchomene plebs (Crustaceae). Proceedings of the Royal Society of London - Biological Sciences 206(1164). <https://doi.org/10.1098/rspb.1979.0110>.

Morgan SG. 1987. Morphological and behavioral antipredatory adaptations of decapod zoeae. Oecologia 73(3). <https://doi.org/10.1007/BF00385256>.

Morgan SG. 1990. Impact of planktivorous fishes on dispersal, hatching, and morphology of estuarine crab larvae. Ecology 71(5). <https://doi.org/10.2307/1937574>.

Morgan SG. 1992. Predation by planktonic and benthic invertebrates on larvae of estuarine crabs. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 163(1). <https://doi.org/10.1016/0022-0981(92)90149-5>.

Morgan SG. 2020. Life And Death in the Plankton: Larval Mortality and Adaptation. Ecology of Marine Invertebrate Larvae. CRC Press.

Morgan SG & JH Christy. 1997. Planktivorous fishes as selective agents for reproductive synchrony. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 209(1–2). <https://doi.org/10.1016/S0022-0981(96)02690-1>.

Moyano M, C Candebat, Y Ruhbaum, S Álvarez-Fernández, G Claireaux, J-L Zambonino-Infante & MA Peck. 2017. Effects of warming rate, acclimation temperature and ontogeny on the critical thermal maximum of temperate marine fish larvae. PLOS ONE 12(7): e0179928. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179928>.

Naderloo R. 2017. Atlas of Crabs of the Persian Gulf Atlas of Crabs of the Persian Gulf.

Narváez D, S Navarrete, J Largier & C Vargas. 2006. Onshore advection of warm water, larval invertebrate settlement, and relaxation of upwelling off central Chile. Marine Ecology Progress Series 309: 159–173. <https://doi.org/10.3354/meps309159>.

O'Connor MI, JF Bruno, SD Gaines, BS Halpern, SE Lester, BP Kinlan & JM Weiss. 2007. Temperature control of larval dispersal and the implications for marine ecology, evolution, and conservation. Proceedings of the National Academy of Sciences 104(4). <https://doi.org/10.1073/pnas.0603422104>.

Olsen AM & MW Westneat. 2015. StereoMorph: an R package for the collection of 3D landmarks and curves using a stereo camera set-up. Methods in Ecology and Evolution 6(3): 351–356. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12326>.

Pearse JS, JB Mcclintock & I Bosch. 1991. Reproduction of Antarctic Benthic Marine Invertebrates: Tempos, Modes, and Timing. American Zoologist 31(1): 65–80. <https://doi.org/10.1093/icb/31.1.65>.

Pechenik J, A Giese, J Pearse & V Pearse. 1987. Reproduction of marine invertebrates. Blackwell Scientific 9: 551–608.

Pennington JT & FS Chia. 1984. Morphological and behavioral defenses of trochophore larvae of Sabellaria cementarium (Polychaeta) against four planktonic predators. Biological Bulletin 167(1). <https://doi.org/10.2307/1541345>.

Petriella AM & EE Boschi. 1997. Crecimiento en crustáceos decápodos: Resultados de investigaciones realizadas en Argentina. Investigaciones Marinas 25(1997). <https://doi.org/10.4067/s0717-71781997002500010>.

Pineda J, JA Hare & S Sponaugle. 2007. Larval transport and dispersal in the coastal ocean and consequences for population connectivity. Oceanography 20(SPL.ISS. 3). <https://doi.org/10.5670/oceanog.2007.27>.

Pohle GW. 1991. Larval development of Canadian Atlantic oregoniid crabs (Brachyura: Majidae), with emphasis on Hyas coarctatus alutaceus Brandt, 1851, and a comparison with Atlantic and Pacific conspecifics . Canadian Journal of Zoology 69(11). <https://doi.org/10.1139/z91-384>.

Pörtner HO & AP Farrell. 2008. Physiology and Climate Change. Science 322(5902). <https://doi.org/10.1126/science.1163156>.

Poulin E, AT Palma, G Leiva, E Hernández, P Martínez, SA Navarrete & JC Castilla. 2002. Temporal and spatial variation in the distribution of epineustonic competent larvae of Concholepas concholepas along the central coast of Chile. Marine Ecology Progress Series 229. <https://doi.org/10.3354/meps229095>.

Pretterebner K & LM Pardo. 2020. All or nothing: Switch to high current reproductive investment under risk of starvation in male kelp crab. Ecology and Evolution 10(7). <https://doi.org/10.1002/ece3.6131>.

Raimondi PT, SE Forde, LF Delph & CM Lively. 2000. Processes structuring communities: evidence for trait-mediated indirect effects through induced polymorphisms. Oikos 91(2): 353–361. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2000.910215.x>.

Read KRH & KB Cumming. 1967. Thermal tolerance of the bivalve molluscs Modiolus modiolus L., Mytilus edulis L. and Brachidontes demissus dillwyn. Comparative Biochemistry and Physiology 22(1). <https://doi.org/10.1016/0010-406X(67)90176-4>.

Rohlf FJ & D Slice. 1990. Extensions of the procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. Systematic Zoology 39(1). <https://doi.org/10.2307/2992207>.

Rumrill SS. 1990. Natural mortality of marine invertebrate larvae. Ophelia 32(1–2). <https://doi.org/10.1080/00785236.1990.10422030>.

Schlager S. 2017. Morpho and Rvcg – Shape Analysis in R. Statistical Shape and Deformation Analysis.

Schmalenbach I & H-D Franke. 2010. Potential impact of climate warming on the recruitment of an economically and ecologically important species, the European lobster (Homarus gammarus) at Helgoland, North Sea. Marine Biology 157(5): 1127–1135. <https://doi.org/10.1007/s00227-010-1394-8>.

Shanks AL & L Brink. 2005. Upwelling, downwelling, and cross-shelf transport of bivalve larvae: Test of a hypothesis. Marine Ecology Progress Series 302. <https://doi.org/10.3354/meps302001>.

Shirley SM, TC Shirley & SD Rice. 1987. Latitudinal variation in the Dungeness crab, Cancer magister: zoeal morphology explained by incubation temperature. Marine Biology 95(3). <https://doi.org/10.1007/BF00409567>.

Somero GN. 2002. Thermal Physiology and Vertical Zonation of Intertidal Animals: Optima, Limits, and Costs of Living. Integrative and Comparative Biology 42(4). <https://doi.org/10.1093/icb/42.4.780>.

Staines MN, DT Booth & CJ Limpus. 2019. Microclimatic effects on the incubation success, hatchling morphology and locomotor performance of marine turtles. Acta Oecologica 97: 49–56. <https://doi.org/10.1016/J.ACTAO.2019.04.008>.

Stearns SC. 1989. The Evolutionary Significance of Phenotypic Plasticity. BioScience 39(7). <https://doi.org/10.2307/1311135>.

Stillman JH. 2002. Causes and Consequences of Thermal Tolerance Limits in Rocky Intertidal Porcelain Crabs, Genus Petrolisthes. Integrative and Comparative Biology 42(4). <https://doi.org/10.1093/icb/42.4.790>.

Stillman JH & GN Somero. 2000. A Comparative Analysis of the Upper Thermal Tolerance Limits of Eastern Pacific Porcelain Crabs, Genus *Petrolisthes* : Influences of Latitude, Vertical Zonation, Acclimation, and Phylogeny. Physiological and Biochemical Zoology 73(2): 200–208. <https://doi.org/10.1086/316738>.

Storch D, M Fernández, S Navarrete & H Pörtner. 2011. Thermal tolerance of larval stages of the Chilean kelp crab Taliepus dentatus . Marine Ecology Progress Series 429: 157–167. <https://doi.org/10.3354/meps09059>.

Storch D, P Santelices, J Barria, K Cabeza, H-O Pörtner & M Fernández. 2009. Thermal tolerance of crustacean larvae (zoea I) in two different populations of the kelp crab

Taliepus dentatus (Milne-Edwards). Journal of Experimental Biology 212(9): 1371–1376. <https://doi.org/10.1242/jeb.030205>.

Strasser KM & DL Felder. 2000. Larval development of the ghost shrimp Callichirus islagrande (Decapoda: Thalassinidea: Callianassidae) under laboratory conditions. Journal of Crustacean Biology 20(1). <https://doi.org/10.1651/0278-0372(2000)020[0100:ldotgs]2.0.co;2>.

Stuart-Smith RD, GJ Edgar & AE Bates. 2017. Thermal limits to the geographic distributions of shallow-water marine species. Nature Ecology & Evolution 1(12). <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0353-x>.

Sulkin S. 1984. Behavioral basis of depth regulation in the larvae of brachyuran crabs. Marine Ecology Progress Series 15. <https://doi.org/10.3354/meps015181>.

Swearer SE, EA Treml & JS Shima. 2019. A review of biophysical models of marine larval dispersal. Oceanography and Marine Biology, pp. 325–356. CRC Press.

Swimme BT & ME Tucker. 2011. Journey of the Universe Journey of the universe.

Tapia FJ, SA Navarrete, M Castillo, BA Menge, JC Castilla, J Largier, EA Wieters, BL Broitman & JA Barth. 2009. Thermal indices of upwelling effects on inner-shelf habitats. Progress in Oceanography 83(1–4): 278–287. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2009.07.035>.

Thatje S & R Bacardit. 2000. Morphological variability in larval stages of Nauticaris magellanica (A. Milne Edwards, 1891) (Decapoda: Caridea: Hippolytidae) from South American waters. Bulletin of Marine Science 66(2).

Therneau TM & PM Grambsch. 2000. The Cox Model BT - Modeling Survival Data: Extending the Cox Model. Statistics for Biology and Health.

Toro Ibacache MV, G Manriquez Soto & I Suazo Galdames. 2010. Morfometría Geométrica y el Estudio de las Formas Biológicas: De la Morfología Descriptiva a la Morfología Cuantitativa. International Journal of Morphology 28(4). <https://doi.org/10.4067/s0717-95022010000400001>.

Tulli MJ, V Abdala & FB Cruz. 2011. Relationships among morphology, clinging performance and habitat use in Liolaemini lizards. Journal of Evolutionary Biology 24(4): 843–855. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2010.02218.x>.

Watling L & M Thiel. 2015. Functional Morphology and Diversity. Functional Morphology and Diversity: 1–516. <https://doi.org/10.1093/ACPROF:OSOBL/9780195398038.001.0001>.

Wittmann A, M Schröer, C Bock, H Steeger, R Paul & H Pörtner. 2008. Indicators of oxygen- and capacity-limited thermal tolerance in the lugworm Arenicola marina. Climate Research 37(2–3). <https://doi.org/10.3354/cr00763>.

Yamamoto T, Y Ueda & K Hamasaki. 2021. Effect of temperature on red snow crab Chionoecetes japonicus (Crustacea, Decapoda, Majoidea) larval survival, development, and growth under laboratory conditions. Invertebrate Reproduction & Development 65(4): 235–245. <https://doi.org/10.1080/07924259.2021.1958933>.

Zeng C, G Rotllant, L Giménez & N Romano. 2020. Effects of Environmental Conditions on Larval Growth and Development. Developmental Biology and Larval Ecology, pp. 195–222. Oxford University Press.

Zuñiga O. 2002. Guía de biodiversidad N°2. . Centro regional de estudios y educación ambiental 1.

ANEXO

Anexo 1. Script utilizado para análisis y creación de gráficos de mortalidad.

Paquetes empleados a lo largo del Script.

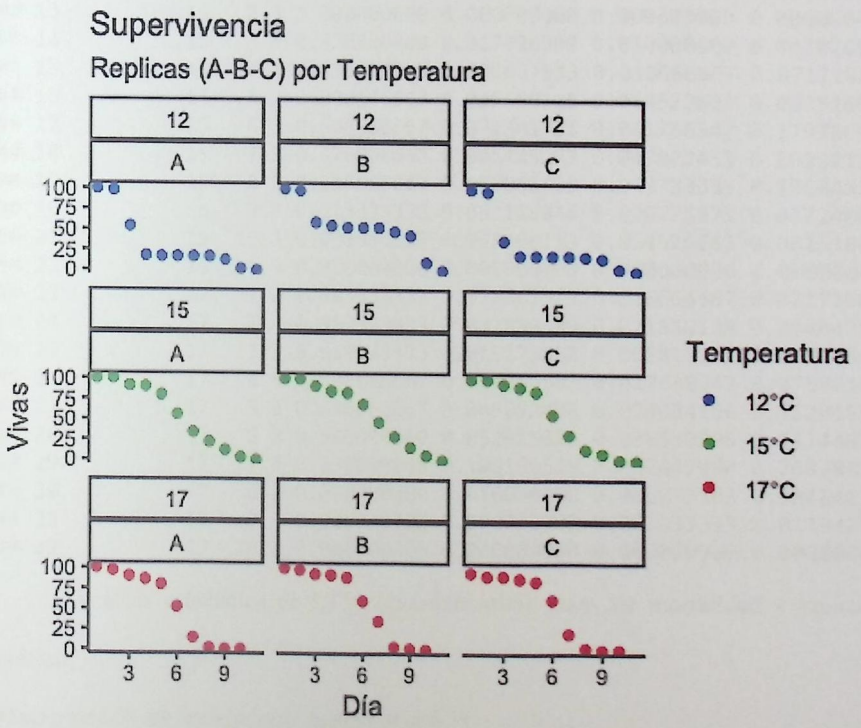
```
library(cowplot)
library(scales)
library(dplyr)
library(gridExtra)
library(tidyverse)
library(ggsci)
library(ggplot2)
library(Rmisc)
library(survminer)
library(survival)
library(MASS)
```

Importación de base de datos, definición de factores y creación de figura numero 7.

```
#Importo base de datos.
Mort<-read.delim("/Users/lucasb/Dropbox/Mac/Desktop/TESIS/TESIS B/RESULTA
DOS/mort.txt")
Mort$bino<-Mort$Vivas/100


#Defino temperatura como un factor
Mort$Temperatura<-as.factor(Mort$Temperatura)


#Grafico de la supervivencia en las tres temperaturas por cada frasco
Grafico_frascos<-ggplot(Mort, aes(x=Dia, y=Vivas, colour=Temperatura)) +
geom_point() + theme_classic() + ggtitle("Supervivencia")+facet_wrap(~Tem
peratura*Frasco) + labs(x="Día", subtitle = "Replicas (A-B-C) por Tempera
tura")
Grafico_frascos + scale_colour_manual(values =c("dodgerblue1", "green3",
"firebrick1"), labels=c("12°C","15°C","17°C"))
```



Preparando tabla con estadísticos básicos (SD, SE, CI, MEAN) para análisis de LT50 y Kaplan-meier.

```
#Estadisticos basicos (SD, SE, CI, MEAN)
LT50_summary<- summarySE(Mort, measurevar="bino", groupvars=c("Temperatur
a","Dia"))
print(LT50_summary)
```

```
##    Temperatura Dia N        bino          sd          se         ci
## 1           12   1 3 1.000000000 0.000000000 0.000000000 0.00000000
## 2           12   2 3 0.976666667 0.005773503 0.003333333 0.01434218
## 3           12   3 3 0.500000000 0.115325626 0.066583281 0.28648474
## 4           12   4 3 0.306666667 0.210792157 0.121700908 0.52363675
## 5           12   5 3 0.296666667 0.202319879 0.116809436 0.50259044
## 6           12   6 3 0.296666667 0.202319879 0.116809436 0.50259044
## 7           12   7 3 0.296666667 0.202319879 0.116809436 0.50259044
## 8           12   8 3 0.276666667 0.176162803 0.101707642 0.43761266
## 9           12   9 3 0.240000000 0.165227116 0.095393920 0.41044691
## 10          12  10 3 0.050000000 0.043588989 0.025166115 0.10828105
## 11          12  11 3 0.000000000 0.000000000 0.000000000 0.00000000
## 12          15   1 3 1.000000000 0.000000000 0.000000000 0.00000000
## 13          15   2 3 1.000000000 0.000000000 0.000000000 0.00000000
## 14          15   3 3 0.920000000 0.017320508 0.010000000 0.04302653
## 15          15   4 3 0.883333333 0.028867513 0.016666667 0.07171088
## 16          15   5 3 0.826666667 0.025166115 0.014529663 0.06251609
## 17          15   6 3 0.606666667 0.072341781 0.041766547 0.17970695
## 18          15   7 3 0.376666667 0.081445278 0.047022453 0.20232129
## 19          15   8 3 0.216666667 0.075055535 0.043333333 0.18644828
## 20          15   9 3 0.123333333 0.035118846 0.020275875 0.08724005
## 21          15  10 3 0.033333333 0.025166115 0.014529663 0.06251609
## 22          15  11 3 0.000000000 0.000000000 0.000000000 0.00000000
## 23          17   1 3 0.983333333 0.028867513 0.016666667 0.07171088
## 24          17   2 3 0.953333333 0.037859389 0.021858128 0.09404794
## 25          17   3 3 0.913333333 0.015275252 0.008819171 0.03794583
## 26          17   4 3 0.886666667 0.030550505 0.017638342 0.07589166
## 27          17   5 3 0.846666667 0.045092498 0.026034166 0.11201597
## 28          17   6 3 0.580000000 0.052915026 0.030550505 0.13144821
## 29          17   7 3 0.230000000 0.108166538 0.062449980 0.26870058
## 30          17   8 3 0.020000000 0.010000000 0.005773503 0.02484138
## 31          17   9 3 0.003333333 0.005773503 0.003333333 0.01434218
## 32          17  10 3 0.000000000 0.000000000 0.000000000 0.00000000
```

Análisis estadístico de LT50 (quasibinomial), tasas de mortalidad y creación de gráfico.

```
#Separación de tabla por temperatura
mort_12<-LT50_summary[1:11, ]
mort_15<-LT50_summary[12:22, ]
mort_17<-LT50_summary[23:32,]
```

```r
#Modelo lineales generalizados por temperatura, que permitieron obtener t
asas de mortalidad
model1<-glm(data=mort_12, bino ~ Dia, family=quasibinomial())
summary(model1)
```

```
##
## Call:
## glm(formula = bino ~ Dia, family = quasibinomial(), data = mort_12)
##
## Deviance Residuals:
##     Min       1Q   Median       3Q      Max
## -0.5179  -0.2999  -0.0738   0.3400   0.5964
##
## Coefficients:
##             Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept)   2.1710     0.6380   3.403  0.00784 **
## Dia          -0.4791     0.1117  -4.289  0.00202 **
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
##
## (Dispersion parameter for quasibinomial family taken to be 0.1436587)
##
##     Null deviance: 5.4993  on 10  degrees of freedom
## Residual deviance: 1.5399  on  9  degrees of freedom
## AIC: NA
##
## Number of Fisher Scoring iterations: 5
```

```r
model2<-glm(data=mort_15, bino ~ Dia, family=quasibinomial())
summary(model2)
```

```
##
## Call:
## glm(formula = bino ~ Dia, family = quasibinomial(), data = mort_15)
##
## Deviance Residuals:
##       Min         1Q     Median         3Q        Max
## -0.185582  -0.053923  -0.005199   0.088830   0.186640
##
## Coefficients:
##             Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept)  5.84038    0.37027   15.77 7.28e-08 ***
## Dia         -0.89940    0.05508  -16.33 5.39e-08 ***
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
##
## (Dispersion parameter for quasibinomial family taken to be 0.01151942)
##
```

```
##     Null deviance: 8.21286  on 10  degrees of freedom
## Residual deviance: 0.13672  on  9  degrees of freedom
## AIC: NA
##
## Number of Fisher Scoring iterations: 6
```

```
model3<-glm(data=mort_17, bino ~ Dia, family=quasibinomial())
summary(model3)
```

```
##
## Call:
## glm(formula = bino ~ Dia, family = quasibinomial(), data = mort_17)
##
## Deviance Residuals:
##       Min         1Q     Median         3Q        Max
## -0.287545  -0.221565  -0.146333  -0.006668   0.263467
##
## Coefficients:
##             Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept)   6.6331     0.9512   6.974 0.000116 ***
## Dia          -1.1205     0.1559  -7.186 9.37e-05 ***
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
##
## (Dispersion parameter for quasibinomial family taken to be 0.05103717)
##
##     Null deviance: 8.41356  on 9  degrees of freedom
## Residual deviance: 0.38809  on 8  degrees of freedom
## AIC: NA
##
## Number of Fisher Scoring iterations: 6
```

```
#dose.p utiliza los modelos lineales para encontrar la dosis (día) sobre
el cual el p=0.5 (50% de la población) ya ha muerto.
print(dose.p(model1, p = 0.5))
```

```
##              Dose        SE
## p = 0.5: 4.531844 0.6121778
```

```
print(dose.p(model2, p = 0.5))
```

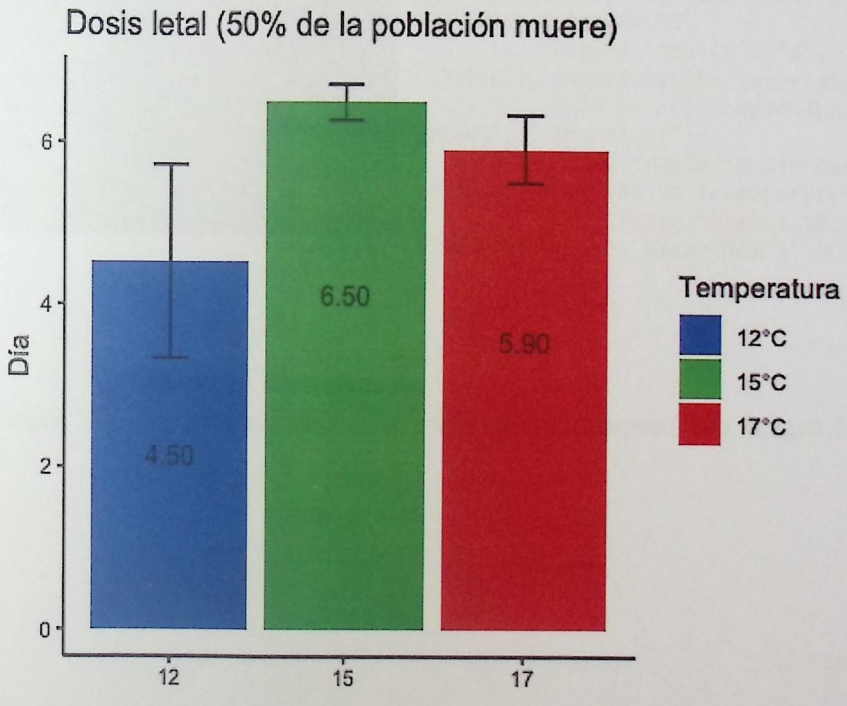
```
##              Dose      SE
## p = 0.5: 6.493628 0.11405
```

```
print(dose.p(model3, p = 0.5))
```

```
##              Dose        SE
## p = 0.5: 5.919705 0.2142654
```

```
#CREACIÓN DE GRAFICO FINAL (DIFERENCIAS ENTRE LT50), estos datos se extra
en de los resultados de dose.p
lt50<-c(4.531844, 6.493628, 5.919705)
CI<-c(0.6121778*1.95, 0.11405*1.95, 0.2142654*1.95)
temp<-c(12, 15,17)
data_final<-data.frame(lt50, CI, temp)
data_final$temp<-as.factor(data_final$temp)


lt50_plot<-ggplot(data_final, aes(x=temp, y=lt50, fill=temp))+ geom_bar(s
tat="identity") + theme_classic() + labs(title = "Dosis letal (50% de la
población muere)", x="", y="Día", fill= "Temperatura") + scale_fill_manua
l(values =c("dodgerblue1", "green3", "firebrick1"), labels=c("12°C","15°C
","17°C"))
lt50_plot + geom_errorbar(aes(ymin=lt50-CI, ymax=lt50+CI), width=.2, posi
tion=position_dodge(0.05)) + geom_text(aes(label=c("4.50","6.50","5.90"))
,position = position_dodge(0.9), vjust = 10)
```



Análisis de Kaplan-Meier

```
##reorden de la tabla correcto para el analisis
repV<- Mort$Muertas
  repV[repV=="0"]<-1

KAP<-Mort %>%
  mutate(count = repV) %>%
  uncount(count)

KAP$STATUS <- ifelse (KAP$Muertas==0, 1, 2)
```



```
survObj <- Surv(time=KAP$Dia, event=KA
P$STATUS==2)

#Analisis de Kaplan-Meier
sfit <- survfit(Surv(Dia, STATUS)~Temp
eratura, data=KAP)

#Grafico de Kaplan-Meier
ggsurvplot(sfit, conf.int=TRUE, pval=T
RUE, risk.table=FALSE,
           legend.labs=c("12°C", "15°C
","17°C"), legend.title="Temperatura",
           palette=(c("dodgerblue1", "
green3", "firebrick1")),
           title="Kaplan-Meier Curve f
or Zoea 1 Survival to Temperature",
           risk.table.height=.15, ylab
="Supervivencia", xlab="Día")
```

Anexo 2. Imagen inclinada hacia la izquierda y derecha respecto a la imagen 1.



Anexo 3. Script utilizado para análisis y creación de gráficos de morfometría geométrica.

Librería

```
library(StereoMorph)
library(readr)
library(geomorph)
library(ggplot2)
library(lmerTest)
library(lme4)
library(gridExtra)
library(cowplot)
library(Morpho)
library(tidyverse)
library(car)
library(ggsci)
library(RColorBrewer)
library(gridGraphics)
library(ggpubr)
```

Importación de los datos, links entre landmarks para cada paquete (Geomorpho; Morpho) y traits

```
setwd("~/Desktop/ECOMORFOLOGiA/Proyecto taliepus/TESIS")
#IMPORTO DIGITALIZACIÓN (DIGIDATA) Y CLASIFICADORES (TRAIT), LINKS
#REORDENO DIGITALIZACIÓN (array_data)
```

```
DIGIDAT<-readShapes("/Users/lucasb/Dropbox/Mac/Desktop/ECOMORFOLOGiA/Proy
ecto taliepus/TESIS/zoea1-5-8")
array_data<-readland.shapes(DIGIDAT, nCurvePts= c(7,7))

traitF<- read_delim("trait1-5-8.txt",
                    delim = "\t", escape_double = FALSE,
                    trim_ws = TRUE)
linkscva<-list(c(1,8:8,9:9,10:10,11:11,12:12,7),c(3,5:4,5:4,6:6,3),c(1,13
:13,14:14,15:15,16:16,17:17,2))
linksgeo <- read_delim("links.txt", delim = "\t",
                    escape_double = FALSE, col_names = FALSE,
                    trim_ws = TRUE)
linksgeo<-as.matrix(linksgeo)
traitF$Temp<- as.factor(traitF$Temp)
traitF$Replica<-as.factor(traitF$Replica)
traitF$Dia<-as.factor(traitF$Dia)
```

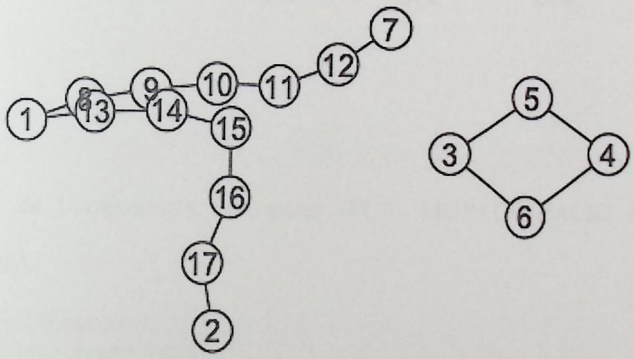
Analisis de Generalizado de Procrustes (GPA)

```
GPA<- gpagen(array_data,
             ProcD=FALSE, print.progress = FALSE, curves = array_data$cur
ves) #procD=false, bending energy is the correct criterion for optimizing
the positions of semilandmarks
gdf<- geomorph.data.frame(GPA, Temp=traitF$Temp, horas= traitF$Horas, rep
lica=traitF$Replica, Dia=traitF$Dia)
summary(GPA)

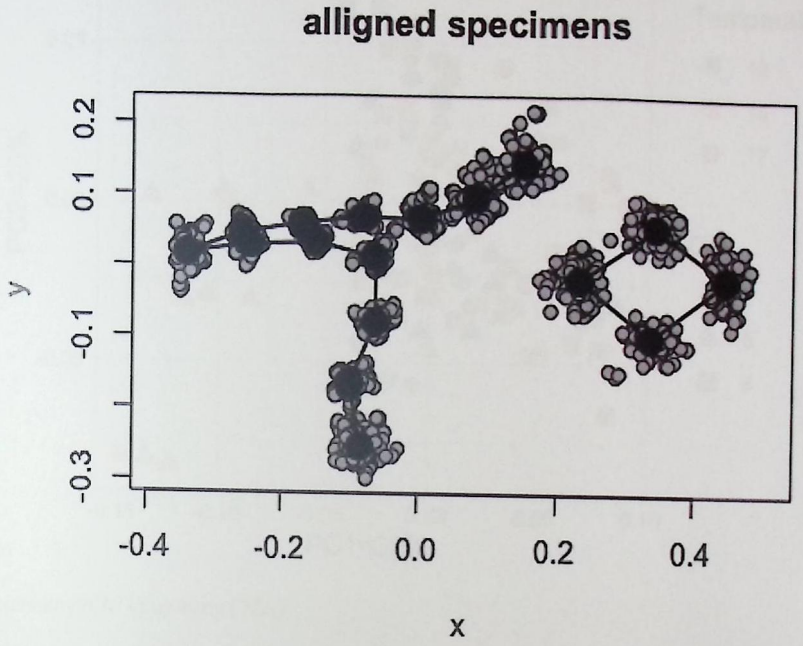
##
## Call:
## gpagen(A = array_data, curves = array_data$curves, ProcD = FALSE,
##     print.progress = FALSE)
##
##
##
## Generalized Procrustes Analysis
## with Partial Procrustes Superimposition
##
## 7 fixed landmarks
## 10 semilandmarks (sliders)
## 2-dimensional landmarks
## 11 GPA iterations to converge
## Minimized Bending Energy used
##
##
## Consensus (mean) Configuration
##
##                                X           Y
## punta_espina_dorsal -0.341841028  0.01731614
```

```
## esq_izq_caparaza    -0.085068726 -0.25314593
## superior_ojo         0.229966648 -0.01850680
## inferior_ojo         0.447884478 -0.01607858
## derecha_ojo          0.342104485  0.05607758
## izquierda_ojo        0.334606398 -0.09936267
## organo_dorsal        0.149644393  0.14327407
## curveLM.8           -0.260898115  0.04558196
## curveLM.9           -0.171845951  0.06012997
## curveLM.10          -0.083052978  0.06821003
## curveLM.11           0.001610384  0.06663808
## curveLM.12           0.080273940  0.09577316
## curveLM.13          -0.247712345  0.02981819
## curveLM.14          -0.150332728  0.03258600
## curveLM.15          -0.063705797  0.01141165
## curveLM.16          -0.063968774 -0.07874820
## curveLM.17          -0.100289354 -0.16482681
```

```
ref<-mshape(GPA$coords)
plot(ref, links = linksgeo)
```



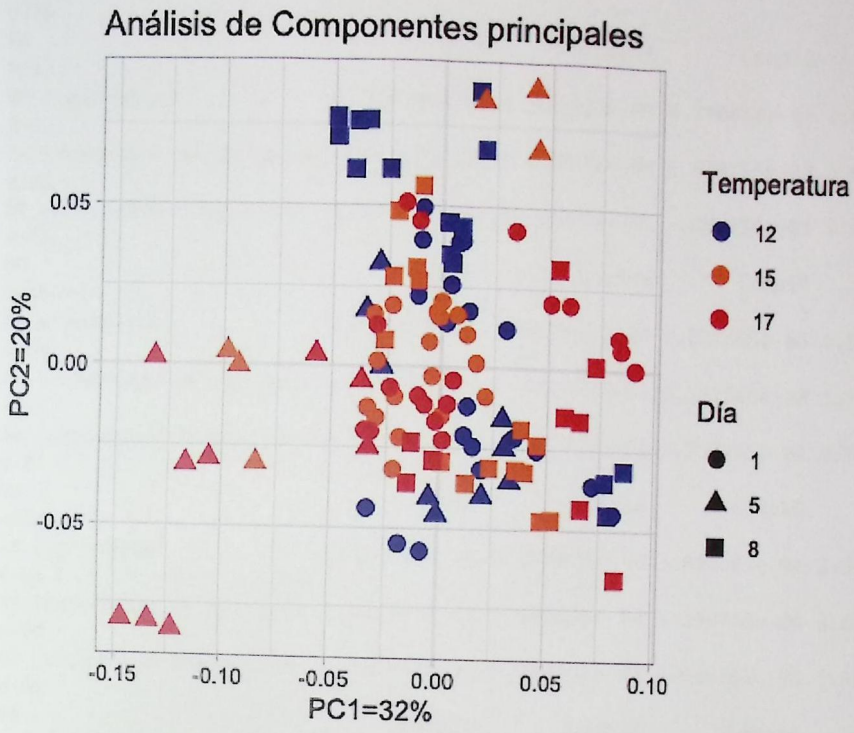
```
plotAllSpecimens(GPA$coords, links = linksgeo, plot.param = list(txt.cex
= 1.5, txt.col = "#D53E4F", pt.bg = "#BDBDBD", link.col = "black", mean.b
g = "black")) + title("alligned specimens")
```




```
## integer(0)
```

Análisis de Componentes Principales (PCA; MORFOESPACIO POR DÍA Y TEMPERATURA)

```
PCA<-gm.prcomp(GPA$coords)
df_out <- as.data.frame(PCA$x)
pcaD<-ggplot(data=df_out, aes(x=Comp1, y=Comp2, shape=gdf$Dia, col=gdf$Te
mp)) + geom_point(size=3) + theme_light() + labs(x="PC1=32%", y="PC2=20%"
, shape="Día", col="Temperatura", title = "Análisis de Componentes princi
pales")
pcaD + scale_color_manual(values =c("blue", "darkorange", "red"))
```




```
summaryPCA<-summary(PCA)

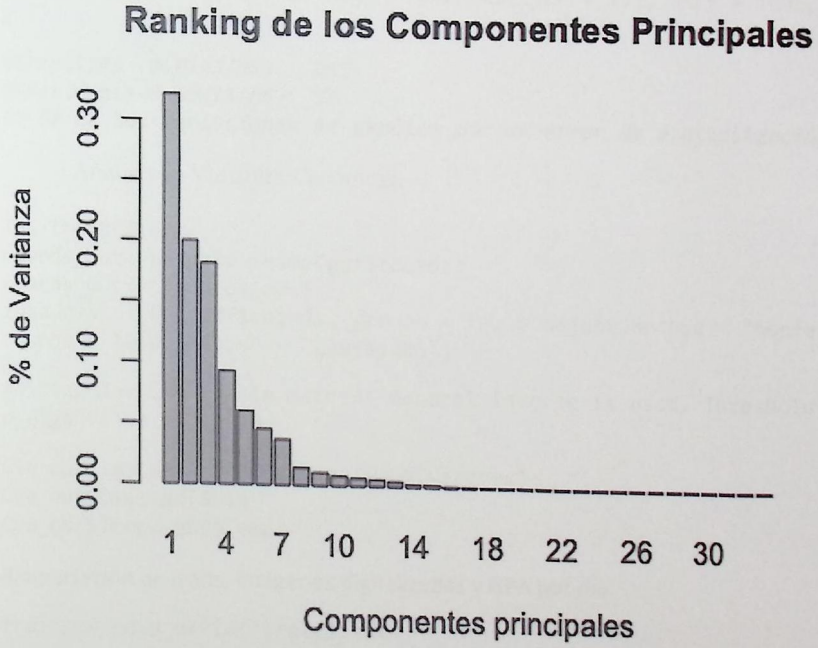
##
## Ordination type: Principal Component Analysis
## Centering by OLS mean
## Orthogonal projection of OLS residuals
## Number of observations: 120
## Number of vectors 33
##
## Importance of Components:
##                                  Comp1       Comp2       Comp3         Comp4
## Eigenvalues            0.002305977 0.00143727 0.001305145 0.0006670557
## Proportion of Variance 0.321577928 0.20043323 0.182007823 0.0930236655
## Cumulative Proportion  0.321577928 0.52201116 0.704018983 0.7970426486
##                                  Comp5         Comp6         Comp7         C
omp8
## Eigenvalues            0.0004328794 0.0003270445 0.0002694576 0.000103
8828
## Proportion of Variance 0.0603668107 0.0456077014 0.0375769773 0.014486
8845
## Cumulative Proportion  0.8574094593 0.9030171608 0.9405941381 0.955081
```

```
0226
##                                Comp9        Comp10        Comp11        Co
mp12
## Eigenvalues             7.778109e-05 5.900533e-05 4.746444e-05 4.068929
e-05
## Proportion of Variance 1.084689e-02 8.228536e-03 6.619111e-03 5.674289
e-03
## Cumulative Proportion   9.659279e-01 9.741565e-01 9.807756e-01 9.864499
e-01
##                               Comp13        Comp14        Comp15        Co
mp16
## Eigenvalues             3.122884e-05 1.727991e-05 1.621685e-05 8.548117
e-06
## Proportion of Variance 4.354990e-03 2.409755e-03 2.261506e-03 1.192070
e-03
## Cumulative Proportion   9.908048e-01 9.932146e-01 9.954761e-01 9.966682
e-01
##                               Comp17        Comp18        Comp19        Co
mp20
## Eigenvalues             6.504770e-06 5.600075e-06 3.800367e-06 2.597828
e-06
## Proportion of Variance 9.071169e-04 7.809535e-04 5.299768e-04 3.622778
e-04
## Cumulative Proportion   9.975753e-01 9.983562e-01 9.988862e-01 9.992485
e-01
##                               Comp21        Comp22        Comp23        Co
mp24
## Eigenvalues             2.490454e-06 1.563432e-06 9.516556e-07 1.280169
e-07
## Proportion of Variance 3.473041e-04 2.180271e-04 1.327123e-04 1.785248
e-05
## Cumulative Proportion   9.995958e-01 9.998138e-01 9.999465e-01 9.999644
e-01
##                               Comp25        Comp26        Comp27        Co
mp28
## Eigenvalues             9.754247e-08 5.418605e-08 3.866308e-08 2.534770
e-08
## Proportion of Variance 1.360270e-05 7.556468e-06 5.391726e-06 3.534841
e-06
## Cumulative Proportion   9.999780e-01 9.999856e-01 9.999909e-01 9.999945
e-01
##                               Comp29        Comp30        Comp31        Co
mp32
## Eigenvalues             1.671369e-08 1.183563e-08 6.365831e-09 4.675625
e-09
## Proportion of Variance 2.330793e-06 1.650528e-06 8.877413e-07 6.520352
e-07
## Cumulative Proportion   9.999968e-01 9.999985e-01 9.999993e-01 1.000000
```

```
e+00
##                                  Comp33
## Eigenvalues                1.078808e-18
## Proportion of Variance     1.504442e-16
## Cumulative Proportion      1.000000e+00
```

Creación de grafico de barras para Componentes Principales.

```
summaryPCA<-as.data.frame(summaryPCA$PC.summary, row.names = NULL)
summaryPCA<-t(summaryPCA)
colnames(summaryPCA) <- c("Eigenvalues", "Variance", "Cumulative")
summaryPCA<-as.data.frame(summaryPCA)
#Primeros 6 demuestran el 90% de la varianza. primeros 3 tienen sobre un
10%.
pcarank<-barplot(PCA$sdev^2/sum(PCA$sdev^2),ylab="% de Varianza", xlab =
"Componentes principales", names=1:33) +
  title("Ranking de los Componentes Principales")
```



#

ANOVA de Procrustes por Réplica (error de digitalización)

```
#ANOVA DE PROCRUSTES REPLICAS
AnError<-procD.lm(coords~replica, data = gdf, iter = 999, RRPP = TRUE)
summary(AnError)

##
## Analysis of Variance, using Residual Randomization
## Permutation procedure: Randomization of null model residuals
## Number of permutations: 1000
## Estimation method: Ordinary Least Squares
## Sums of Squares and Cross-products: Type I
## Effect sizes (Z) based on F distributions
##
##            Df      SS         MS     Rsq      F      Z Pr(>F)
## replica    39 0.76436 0.0195989 0.89574 17.623 10.813  0.001 **
## Residuals  80 0.08897 0.0011121 0.10426
## Total     119 0.85333
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
##
## Call: procD.lm(f1 = coords ~ replica, iter = 999, RRPP = TRUE, data =
gdf)

##replicas  0.0195(MS)   95%
##Residuals 0.00111(MS)  5%
## 5% de las variaciones se explica por un error de digitalización.
```

Análisis de Variables Canónicas.

```
Te<-traitF$Temp
coords_out<-as.data.frame(gdf$coords)
coords_out<-t(coords_out)
zoea.cva1<- CVA(gdf$coords, groups = Te, p.adjust.method = "bonferroni",
rounds = 1000, robust = "classical")

## singular Covariance matrix: General inverse is used. Threshold for zer
o eigenvalue is 1e-10

Cva_out<-as.data.frame(zoea.cva1$CVscores)
Cva_out$Dia<-gdf$Dia
Cva_out$Temp<-gdf$Temp
```

#Importación de traits, imagenes digitalizadas y GPA por día.

```
trait1<- read_delim("trait1.txt",
                    delim = "\t", escape_double = FALSE,
                    trim_ws = TRUE)
trait5<- read_delim("trait5.txt",
                    delim = "\t", escape_double = FALSE,
                    trim_ws = TRUE)
```

```
trait8<- read_delim("trait8.txt",
                    delim = "\t", escape_double = FALSE,
                    trim_ws = TRUE)
trait1$Temp<-as.factor(trait1$Temp)
trait5$Temp<-as.factor(trait5$Temp)
trait8$Temp<-as.factor(trait8$Temp)
zoea1<-readShapes("/Users/lucasb/Dropbox/Mac/Desktop/ECOMORFOLOGiA/Proyec
to taliepus/TESIS/zoea1")
zoea5<-readShapes("/Users/lucasb/Dropbox/Mac/Desktop/ECOMORFOLOGiA/Proyec
to taliepus/TESIS/zoea5")
zoea8<-readShapes("/Users/lucasb/Dropbox/Mac/Desktop/ECOMORFOLOGiA/Proyec
to taliepus/TESIS/zoea8")
array_data1<-readland.shapes(zoea1, nCurvePts= c(7,7))
array_data5<-readland.shapes(zoea5, nCurvePts= c(7,7))
array_data8<-readland.shapes(zoea8, nCurvePts= c(7,7))
GPA1<- gpagen(array_data1,
              ProcD=FALSE, print.progress = FALSE, curves = array_data1$cu
rves) #procD=false, bending energy is the correct criterion for optimizin
g the positions of semilandmarks
GPA5<- gpagen(array_data5,
              ProcD=FALSE, print.progress = FALSE, curves = array_data5$cu
rves) #procD=false, bending energy is the correct criterion for optimizin
g the positions of semilandmarks
GPA8<- gpagen(array_data8,
              ProcD=FALSE, print.progress = FALSE, curves = array_data8$cu
rves) #procD=false, bending energy is the correct criterion for optimizin
g the positions of semilandmarks
```

Análisis de Variables Canónicas por día.

```
cva1<- CVA(GPA1$coords, groups = trait1$Temp, p.adjust.method = "bonferro
ni", rounds = 1000, robust = "classical")

## singular Covariance matrix: General inverse is used. Threshold for zer
o eigenvalue is 1e-10

cva1[["Dist"]][["probsEuclid"]]

##       12    15
## 15 0.003
## 17 0.093 0.006

cva5<- CVA(GPA5$coords, groups = trait5$Temp, p.adjust.method = "bonferro
ni", rounds = 1000, robust = "classical")

## singular Covariance matrix: General inverse is used. Threshold for zer
o eigenvalue is 1e-10

cva5[["Dist"]][["probsEuclid"]]
```

```
##       12    15
## 15 0.213
## 17 0.003 0.018
```

```
cva8<- CVA(GPA8$coords, groups = trait8$Temp, p.adjust.method = "bonferro
ni", rounds = 1000, robust = "classical")
```

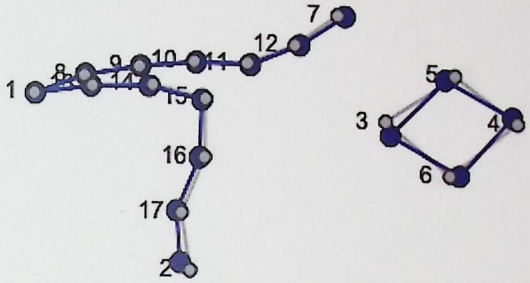
```
## singular Covariance matrix: General inverse is used. Threshold for zer
o eigenvalue is 1e-10
```

```
cva8[["Dist"]][["probsEuclid"]]
```

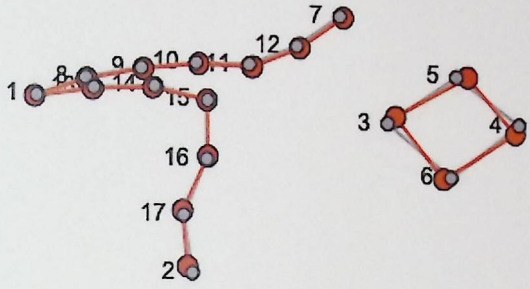
```
##       12    15
## 15 0.018
## 17 0.003 0.039
```

Morphos promedio por temperatura vs consensus del total, grafico de morfoespacio de variables canónicas (día 1)

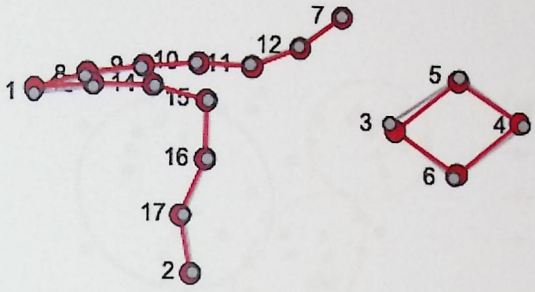
```
plotRefToTarget(zoea.cva1[["Grandm"]], cva1[["groupmeans"]][,,1], method
="points", links = linksgeo, axes = TRUE, label = TRUE, gridPars = gridPa
r(tar.pt.bg = "blue", tar.link.col="blue",tar.link.lwd=2, link.col = "gre
y", pt.bg = "grey", link.lwd = 2, pt.size = 1, tar.pt.size = 1.5))
```



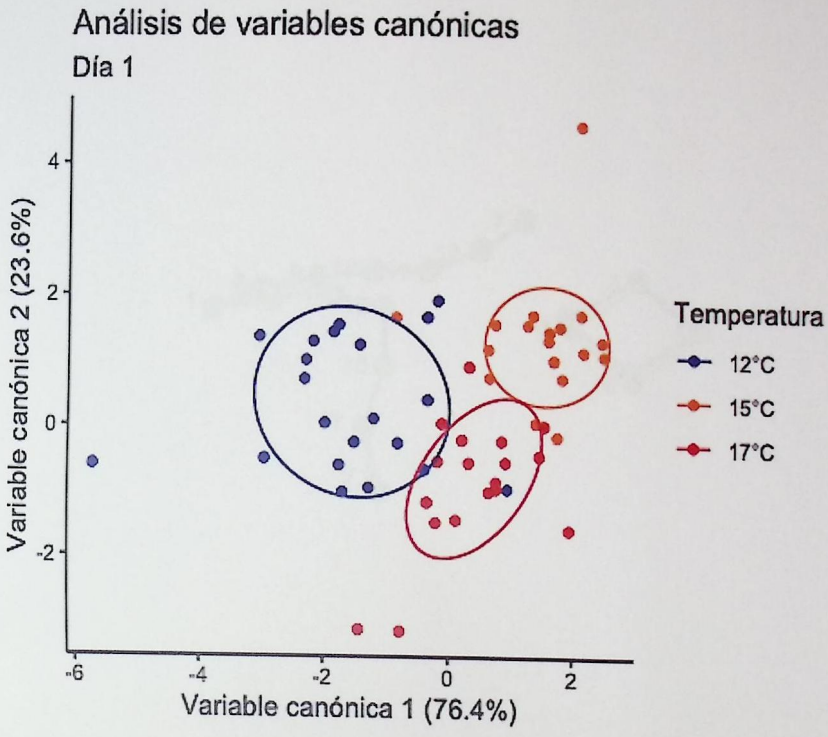

```
plotRefToTarget(zoea.cva1[["Grandm"]], cva1[["groupmeans"]][,,2], method
="points", links = linksgeo, axes = TRUE, label = TRUE, gridPars = gridPa
r(tar.pt.bg = "darkorange", tar.link.col="darkorange",tar.link.lwd=2, lin
k.col = "grey", pt.bg = "grey", link.lwd = 2, pt.size = 1, tar.pt.size =
1.5))
```




```
plotRefToTarget(zoea.cva1[["Grandm"]], cva1[["groupmeans"]][,,3], method
="points", links = linksgeo, axes = TRUE, label = TRUE, gridPars = gridPa
r(tar.pt.bg = "red", tar.link.col="red",tar.link.lwd=2, link.col = "grey"
, pt.bg = "grey", link.lwd = 2, pt.size = 1, tar.pt.size = 1.5))
```



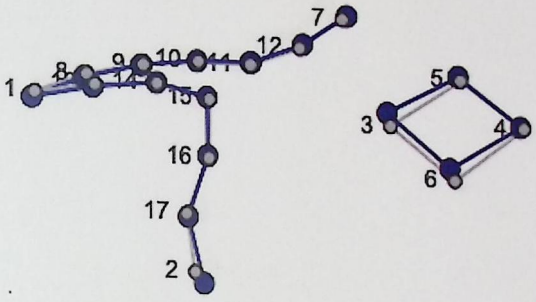

```
Cva_out1<-as.data.frame(Cva_out[Cva_out$Dia==1,])
ggplot(data=Cva_out1, aes(x=`CV 1`, y=`CV 2`, col=Temp)) + geom_point() +
stat_ellipse(level = 0.7) + coord_fixed() +
  labs(title = "Análisis de variables canónicas", x="Variable canónica 1
(76.4%)", y= "Variable canónica 2 (23.6%)", col= "Temperatura", subtitle
= "Día 1") + theme_classic() + scale_color_manual(values =c("blue", "dark
orange", "red"), labels=c("12°C","15°C","17°C"))
```



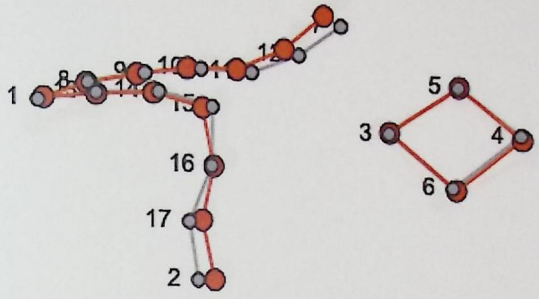
#

Morphos promedio por temperatura vs consensus del total, gráfico de morfoespacio de variables canónicas (día 5)

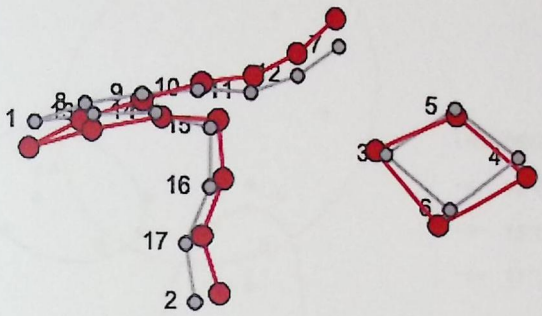
```
plotRefToTarget(zoea.cva1[["Grandm"]], cva5[["groupmeans"]][,,1], method
="points", links = linksgeo, label = TRUE, gridPars = gridPar(tar.pt.bg =
"blue", tar.link.col="blue",tar.link.lwd=2, link.col = "grey", pt.bg = "g
rey", link.lwd = 2, pt.size = 1, tar.pt.size = 1.5))
```



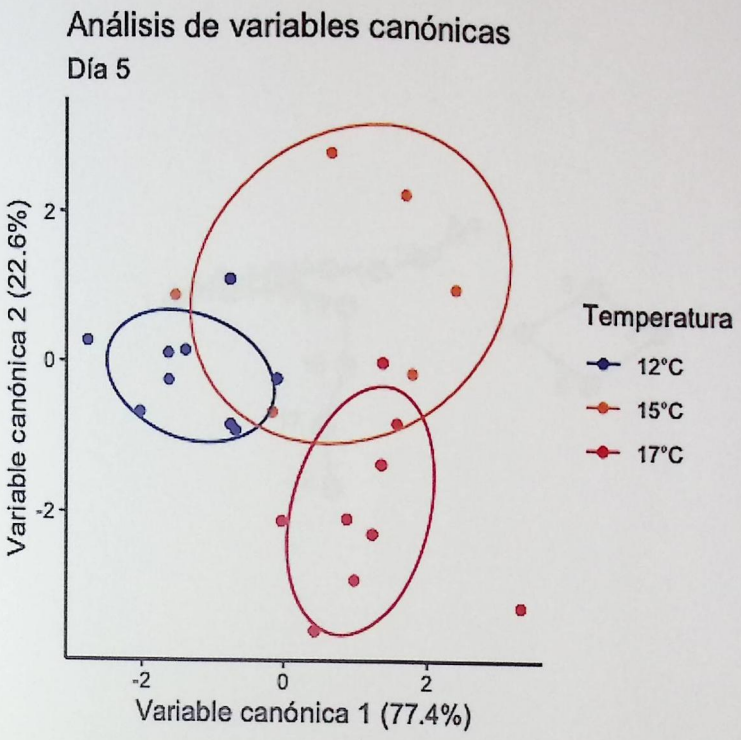

```
plotRefToTarget(zoea.cva1[["Grandm"]], cva5[["groupmeans"]][,,2], method
="points", links = linksgeo, label = TRUE, gridPars = gridPar(tar.pt.bg =
"darkorange", tar.link.col="darkorange",tar.link.lwd=2, link.col = "grey"
, pt.bg = "grey", link.lwd = 2, pt.size = 1, tar.pt.size = 1.5))
```




```
plotRefToTarget(zoea.cva1[["Grandm"]], cva5[["groupmeans"]][,,3], method
="points", links = linksgeo, label = TRUE, gridPars = gridPar(tar.pt.bg =
"red", tar.link.col="red",tar.link.lwd=2, link.col = "grey", pt.bg = "gre
y", link.lwd = 2, pt.size = 1, tar.pt.size = 1.5))
```

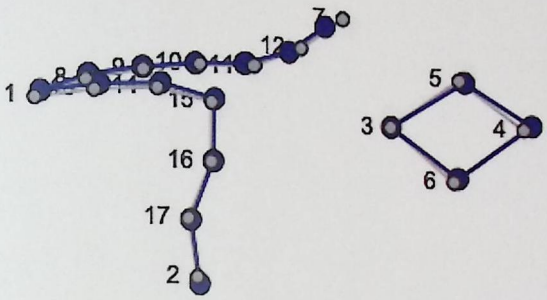



```
Cva_out5<-as.data.frame(Cva_out[Cva_out$Dia==5,])
ggplot(data=Cva_out5, aes(x=`CV 1`, y=`CV 2`, col=Temp)) + geom_point() +
stat_ellipse(level = 0.70) + coord_fixed() +
  labs(title = "Análisis de variables canónicas", x="Variable canónica 1
(77.4%)", y= "Variable canónica 2 (22.6%)", col= "Temperatura", subtitle
= "Día 5") + theme_classic() + scale_color_manual(values =c("blue", "dark
orange", "red"), labels=c("12°C","15°C","17°C"))
```

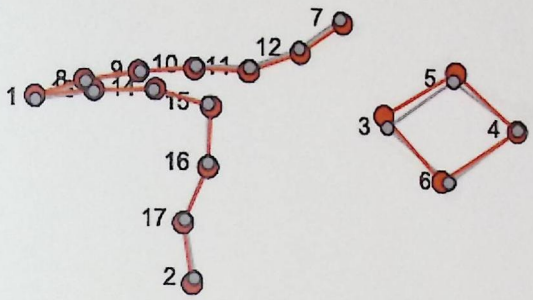


Morphos promedio por temperatura vs consensus del total, gráfico de morfoespacio de variables canónicas (día 8)

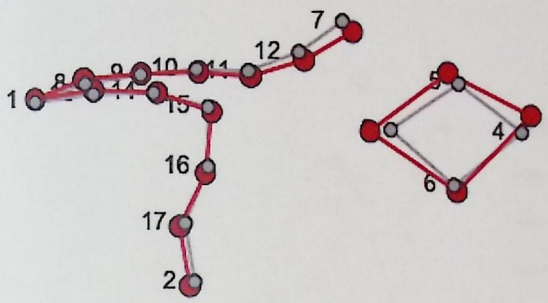
```
plotRefToTarget(zoea.cva1[["Grandm"]], cva8[["groupmeans"]][,,1], method
="points", links = linksgeo, label = TRUE, gridPars = gridPar(tar.pt.bg =
"blue", tar.link.col="blue",tar.link.lwd=2, link.col = "grey", pt.bg = "g
rey", link.lwd = 2, pt.size = 1, tar.pt.size = 1.5))
```



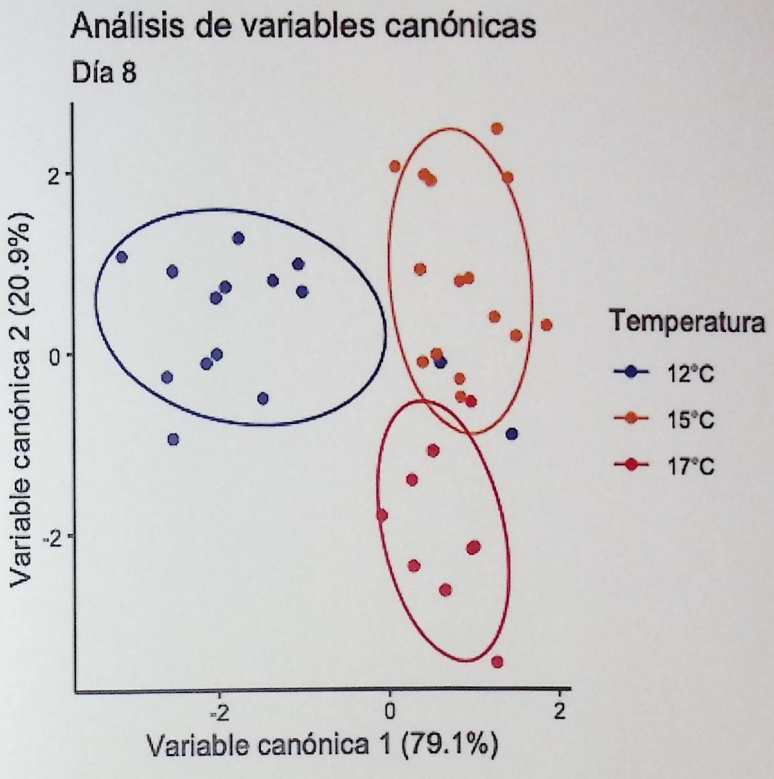

```
plotRefToTarget(zoea.cva1[["Grandm"]], cva8[["groupmeans"]][,,2], method
="points", links = linksgeo, label = TRUE, gridPars = gridPar(tar.pt.bg =
"darkorange", tar.link.col="darkorange",tar.link.lwd=2, link.col = "grey"
, pt.bg = "grey", link.lwd = 2, pt.size = 1, tar.pt.size = 1.5))
```




```
plotRefToTarget(zoea.cva1[["Grandm"]], cva8[["groupmeans"]][,,3], method
="points", links = linksgeo, label = TRUE, gridPars = gridPar(tar.pt.bg =
"red", tar.link.col="red",tar.link.lwd=2, link.col = "grey", pt.bg = "gre
y", link.lwd = 2, pt.size = 1, tar.pt.size = 1.5))
```




```
Cva_out8<-as.data.frame(Cva_out[Cva_out$Dia==8,])
ggplot(data=Cva_out8, aes(x=`CV 1`, y=`CV 2`, col=Temp)) + geom_point() +
stat_ellipse(level = 0.8) + coord_fixed() +
  labs(title = "Análisis de variables canónicas", x="Variable canónica 1
(79.1%)", y= "Variable canónica 2 (20.9%)", col= "Temperatura", subtitle
= "Día 8") + theme_classic() + scale_color_manual(values =c("blue", "dark
orange", "red"), labels=c("12°C","15°C","17°C"))
```


Análisis de variables canónicas
Día 8
Variable canónica 2 (20.9%)
2
0
-2
-2
0
2
Variable canónica 1 (79.1%)
Temperatura
12°C
15°C
17°C