

Índice

Índice.....	1
Agradecimientos	2
Listado de abreviaturas	4
Resumen.....	5
Introducción	6
Aspectos biológicos de <i>Nacella concinna</i>	6
Relación trófica con la gaviota cocinera	8
Hipótesis.....	10
Objetivos	10
Metodología	11
Área de estudio.....	11
Colecta de los individuos	11
Morfometría tradicional	13
Análisis de contorno.....	14
Análisis estadísticos	15
Resultados	16
Morfometría tradicional	16
Análisis de contorno.....	20
Discusión.....	30
Variación morfológica	30
¿Existe una presión de depredación diferencial?	32
Bibliografía	35



Al Carlos...



Agradecimientos

A mis padres María y Sergio y mis hermanos Paloma y Julián, por ser el sostén permanente e incansable de todos los días

A mis abuelos: Chiche, Carlos, Norma y Héctor por regar en mí desde la infancia las mejores cosas, entre ellas, la pasión por la naturaleza

A Marcos, por ser mi guía desde un comienzo en esta maravillosa carrera

A Carla, por la dedicación, las ganas, el empuje y toda la buena onda de este tiempo

A Juan José Martínez, por la ayuda y el tiempo dedicado

A Gastón Alurralde, por el muestreo y la vital ayuda informática para la realización de este trabajo

A los ecomarinólogos, por las horas compartidas en el laboratorio, los mates, los consejos, las críticas constructivas, los chistes, los martes, los jueves y la buena onda desde el primer momento

A mis compañeros y amigos de la facultad, por las horas de estudio, los viajes, las risas y todos los buenos momentos compartidos a lo largo de esta hermosa etapa

A mis hermanos del andar, Martín, Joaquín y Julián

A EPICa y dentro de ella a cada uno de los compañeros de militancia, por los espacios de discusión, enriquecimiento político y la voluntad permanente de trabajar por una mejor facultad

A la Escuela de Biología, por formarme en conjunto a mis compañeros como profesional y como persona

A la Universidad Nacional de Córdoba, por la educación libre, gratuita y laica. Valores a defender ahora y siempre



Listado de abreviaturas

ACP: análisis de componentes principales

AlM: alto máximo

AnM: ancho máximo

CP: componente principal

EFA: análisis elíptico de Fourier

K-S: Kolmogorov - Smirnov

L: morfotipo litoral

LM: largo máximo

SL: morfotipo sublitoral



Resumen

La lapa *Nacella concinna* es uno de los macro-invertebrados más abundantes de la Península Antártica, distribuyéndose desde la zona del litoral hasta aproximadamente 100 metros de profundidad. Se han descrito dos morfotipos con base en la morfología de su valva: uno característico del litoral (L), con una valva alta y gruesa, y otro del sublitoral (SL), con una valva más achatada y delgada. La depredación de individuos por parte de la gaviota cocinera *Larus dominicanus* en el litoral ha sido propuesta junto a otros factores como la exposición al aire, al oleaje y el impacto del hielo, como un posible causante de esta separación morfológica. En este trabajo nos proponemos evaluar la posible existencia de una presión de depredación diferencial de *L. dominicanus* sobre *N. concinna* en el litoral de Caleta Potter, Isla 25 de Mayo, Islas Shetland del Sur. Se evaluaron valvas obtenidas de sitios de acumulación por parte de *L. dominicanus* denominados basureros de alimentación y se las comparó con valvas de individuos provenientes del litoral y del sublitoral mediante morfometría tradicional y Análisis Elíptico de Fourier (EFA) en vista dorsal y lateral. Los resultados obtenidos por morfometría tradicional y EFA lateral apoyan la diferencia planteada previamente en la morfología de ambos grupos, mientras que el EFA dorsal no aporta información relevante para diferenciarlos. En cuanto a los basureros de alimentación, se encontró mediante el EFA dorsal una preferencia por parte de las gaviotas hacia una morfología aperada, dentro de un continuo presente en los individuos del litoral entre esta forma y una más elíptica. El EFA lateral y la morfometría tradicional confirmaron que los individuos depredados corresponden principalmente al morfotipo L, por lo cual se comprueba que la presión de depredación hacia la forma aperada se ejerce principalmente sobre este morfo. Sin embargo, no se observa un efecto evidente sobre la morfología del grupo, ya que no se hallaron diferencias dentro del rango aperado-elíptico entre las distribuciones del grupo del litoral y el del sublitoral. En base a estos resultados, no se encuentra justificación para indicar a la depredación por parte de *L. dominicanus* sobre *N. concinna* como una de las causas biológicas o ambientales que conducirían a la diferenciación de los morfotipos.



Introducción

Aspectos biológicos de *Nacella concinna*

El orden Patellogastropoda (Mollusca, Gastropoda) comprende una gran variedad de lapas con valvas sin orificios que han evolucionado de forma independiente de las lapas perforadas. Estos animales habitan desde aguas someras hasta grandes profundidades oceánicas y son comunes en zonas intermareales de playas rocosas (Ruppert y Barnes 1996).

La familia Nacellidae incluye únicamente especies propias del hemisferio sur y dentro de ella, se ubica uno de los macro-invertebrados más conspicuos de la Península Antártica, la lapa *Nacella concinna* (Fig. 1; Picken 1980). Esta especie se distribuye desde el litoral hasta aproximadamente los 100 m de profundidad (Walker 1972), encontrándose principalmente sobre áreas rocosas, aunque también puede hallarse sobre macro-algas y raramente, en superficies arenosas. En cuanto a su alimentación, esta lapa se sustenta principalmente de los *films* de microfitobentos que raspa con su rádula (Brêthes et al. 1994). Se trata de una especie dioica con fecundación externa, en la que la liberación de las gametas se produce una única vez al año entre la primavera y el verano austral, aproximadamente tres semanas después de que la temperatura del agua ascienda por encima de los $-1,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Picken 1980). La larva velíger y sus anteriores estadios son los principales encargados de la dispersión en la especie. Estudios previos indican que la fase de natación libre de *N. concinna* se extiende por alrededor de 40 – 45 días, antes de que se asiente en el sustrato (Peck et al. 2016).



Fig. 1: Fotos de *N. concinna*. Arriba: grupo de lapas en una poza de marea del litoral de Caleta Potter. Abajo: individuo de *N. concinna* en la zona del sublitoral. Fotografía inferior gentileza de C. Lagger.

La especie ha sido modelo experimental en estudios enfocados en el cambio climático actual y sus efectos sobre la Península Antártica (Abele et al. 1998; Clark y Peck 2009; Weihe et al. 2010; entre otros). El hecho de ser un animal marino que habita también la zona del litoral, expuesta a las variaciones en la temperatura del aire, la convierte en un interesante modelo para estudios sobre los efectos que el calentamiento global podría tener sobre la región y, particularmente, sobre su biota.

En base a la morfología y el sector en el que habitan los individuos, se han descrito dos morfotipos en esta especie (Walker 1972): uno característico del litoral (L), con una valva alta y gruesa, y otro del sublitoral (SL), con una valva más aplanada y delgada (Fig. 2). Existe una zona de confluencia de ambas formas desde la línea máxima de marea baja hasta aproximadamente los cuatro metros de profundidad. El morfotipo SL permanecería por debajo de la marea baja a lo largo de todo el año. Por el contrario, los individuos del morfotipo L se desplazarían al comienzo del



otoño hacia el sublitoral somero, retornando a la zona litoral durante la primavera (Walker 1972; Beaumont y Wei 1991; Nolan 1991; Brêthes et al. 1994). Estos desplazamientos verticales estacionales ocurrirían en respuesta a cambios en la temperatura del aire y la formación de hielo en el litoral (Nolan 1991). De este modo, durante el invierno ambos morfotipos coexistirían en el sublitoral. Sin embargo, se ha planteado la posibilidad de que el comportamiento migratorio del morfo L tenga una heredabilidad menor a 1, por lo que no todos los descendientes de padres migrantes heredarían este comportamiento, razón por la cual, estos individuos permanecerían en el litoral durante el invierno (de Aranzamendi et al. 2008). Por su parte, Nolan (1991) reporta haber encontrado entre valvas de individuos depredados por gaviotas, una pequeña proporción del morfotipo SL, lo que indicaría también su presencia en el litoral en algún momento del año.

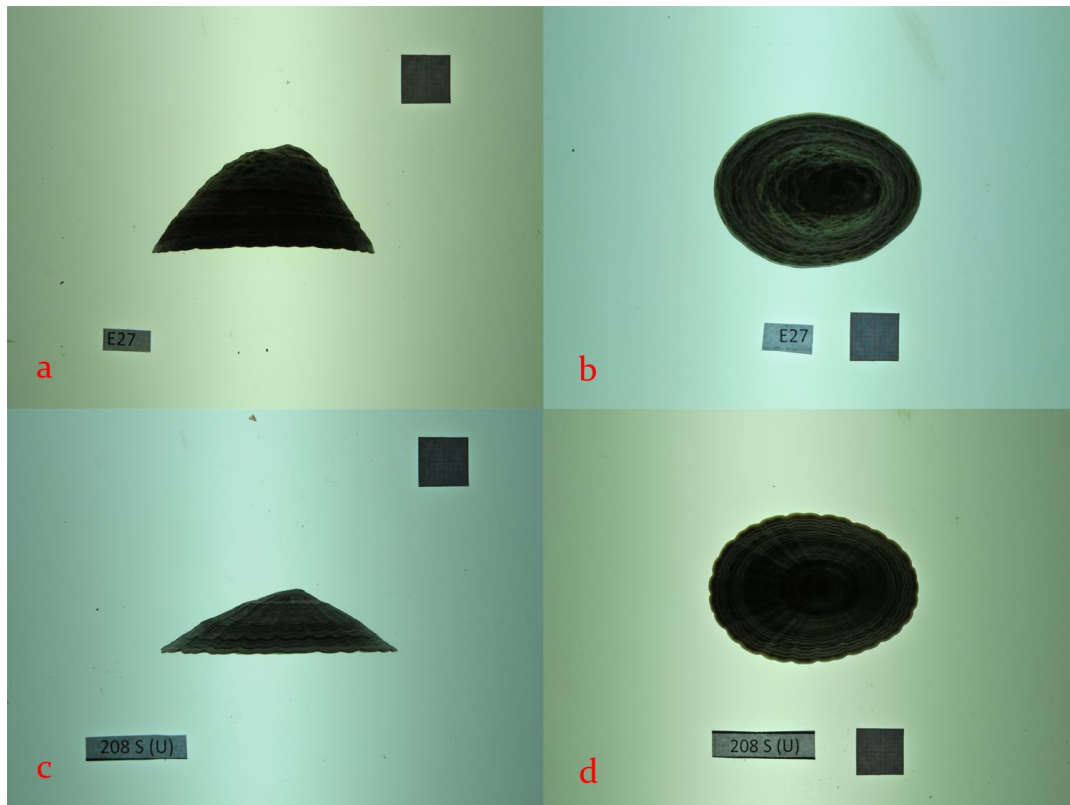


Fig. 2: Valvas de *N. concinna*. a) Vista lateral y b) vista dorsal de un individuo del morfotipo L. c) Vista lateral y d) dorsal de un individuo del morfotipo SL. Escala: 1 cm x 1 cm.

Históricamente se ha empleado el análisis de morfometría tradicional para describir la variación morfológica de la lapa, utilizando medidas lineales como el largo máximo, el ancho máximo o el alto máximo de la valva (Picken 1980; Nolan 1991; Brêthes et al. 1994; de Aranzamendi et al. 2008). Más recientemente, se empleó la técnica de estudios de contornos mediante el Análisis Elíptico de Fourier que permite separar variables de tamaño isométrico y variables de forma (Zelditch et al. 1998). En estos estudios, se confirmaron diferencias morfométricas entre ambos morfotipos y se ha caracterizado los cambios en la forma de éstos (de Aranzamendi et al. 2010; González-Wevar et al. 2011). Distintos trabajos han corroborado estas diferencias morfométricas a lo largo de la distribución de la especie (Nolan 1991; de Aranzamendi et al. 2010; González-Wevar et al. 2011; entre otros).

Algunos autores han atribuido las diferencias morfológicas entre los morfotipos a plasticidad fenotípica inducida por el ambiente (Beaumont y Wei 1991; Nolan 1991). Por ejemplo, los individuos del morfotipo L serían más robustos debido a un efecto combinado de resistencia al



oleaje, al impacto del hielo, a la exposición al aire y a la depredación aviar, mientras que los del morfotipo SL sufrirían un desgaste de las capas superficiales de la valva producto de la colonización de algas y su posterior ramoneo por parte de otros individuos (Nolan 1991). Por otro lado, estudios genético poblacionales de la especie mostraron resultados contradictorios. De Aranzamendi y colaboradores (2008) sugieren la existencia de dos subpoblaciones con un bajo nivel de flujo génico, representadas por ambos morfotipos en esta especie, al encontrar diferencias bajas pero significativas entre los morfos en tres sitios de muestreo. En un estudio posterior utilizando otro marcador molecular, Hoffman y colaboradores (2010) reportan no haber encontrado diferenciación genética entre ambos morfotipos, atribuyendo nuevamente la diferencia morfológica a plasticidad fenotípica. Más adelante, Chwedorzewaska y colaboradores (2010) encuentran nuevamente una baja, pero significativa, diferenciación genética entre los morfotipos, sin embargo, al ser esta menor al 2 % vuelven a atribuir la diferenciación morfológica de los morfotipos a plasticidad fenotípica. Por su parte, estudios en relación a la fisiología y el comportamiento de la especie encontraron diferencias significativas en la respuesta de ambos morfotipos (Markowska y Kidawa 2007; Weihe y Abele 2008).

Según lo propuesto con anterioridad, la variación morfológica de *N. concinna* parece ser causada por mecanismos de plasticidad fenotípica desconociéndose aún si existe un componente genético. Factores ambientales como la acción del oleaje, el impacto del hielo o la exposición al aire han sido propuestos como importantes agentes en la formación del morfotipo L, en conjunto con la interacción con las aves como principales depredadoras en la zona del litoral.

Relación trófica con la gaviota cocinera

Al ser un habitante de la zona del sublitoral tanto como de la del litoral, la lapa se enfrenta en cada una de ellas a distintos depredadores. Bajo el agua, estrellas, erizos, gasterópodos prosobranquios, picnogónidos, nemertinos y peces suelen ser sus depredadores habituales. En la zona del litoral, la depredación la ejercen principalmente las aves, siendo la gaviota cocinera, *Larus dominicanus*, y la paloma antártica, *Chionis alba*, las mayores consumidoras (Walker 1972; Shabica 1976; Favero et al. 1997).



Fig. 3: Gaviota cocinera (*L. dominicanus*) apresando una lapa en Caleta Potter.



La gaviota cocinera (**Fig. 3**) es un ave perteneciente a la familia Laridae, ampliamente distribuida en el hemisferio sur, principalmente en áreas costeras de Sudamérica, sur de África, Oceanía y Antártida. Se trata de un animal que presenta un comportamiento alimenticio altamente generalista y oportunista, utilizando variadas fuentes de alimento a lo largo de su distribución (Favero y Silva 1997; Bertellotti y Yorio 1999; Silva et al. 2000), lo cual se ve ejemplificado en el gran aprovechamiento que hace de basurales y pesquerías (Silva et al. 2000; Silva-Costa y Bugoni 2013; entre otros).

En la Península Antártica, donde la oferta de alimento antrópico es considerablemente menor que en el resto de los continentes, trabajos previos describen una fuerte relación trófica existente entre *L. dominicanus* y *N. concinna*, donde se observa a la lapa como la principal fuente de alimento de la gaviota cocinera (Favero et al. 1997; Barbieri 2008). Debido a que éste ave no se sumerge, solo puede coleccionar individuos que encuentra expuestos en el litoral o levemente por debajo del agua en el sublitoral somero. En un trabajo realizado en Caleta Potter, Isla 25 de Mayo, Islas Shetland del Sur, se estimó que *L. dominicanus* es responsable del 10 % al 14 % de la mortalidad de lapas del litoral (Favero et al. 1997). En lo que respecta a su comportamiento, las gaviotas remueven las lapas del sustrato rocoso por medio de una combinación de picotazos y tironeos, tragando por lo general más de un individuo para luego volar a sitios fijos del supralitoral donde regurgitan las valvas y generan centros de acumulación denominados basureros de alimentación (**Fig. 4**; Shabica 1976). Por su parte, la paloma antártica presenta un comportamiento distinto al de la gaviota, descartando las valvas de sus presas de forma aleatoria en el litoral (Nolan 1991).



Fig. 4: Basureros de alimentación de *L. dominicanus* en la zona de Caleta Potter. Fotografías gentileza de G. Alurralde.

Mediante morfometría tradicional, Shabica (1976) estudió las valvas encontradas en los basureros generados por la gaviota cocinera y no encontró evidencia de una posible selección del tamaño de la presa por parte de este ave. Más adelante, Silva y colaboradores (1999) observaron que las lapas de mayor tamaño, por lo general, ocupan los lugares más seguros en el litoral desplazando a los individuos más pequeños a sitios de mayor exposición a los depredadores. De esta forma, diferenciaron entre la densidad total de la población de lapas en el litoral y la densidad de lapas que se encuentran disponibles para *L. dominicanus* en dicha zona. Teniendo en cuenta esta distinción, sí se encontró una fuerte selección hacia un mayor tamaño por parte de la gaviota cocinera, con un valor medio de 28,94 mm ($\pm 8,37$) de largo para las lapas depredadas.

La depredación aviar es uno de los tantos factores indicados como posibles causantes de una respuesta de plasticidad fenotípica ante el ambiente que resultaría en los dos morfotipos presentes. En su estudio, Nolan (1991) encontró, en los basureros de alimentación de gaviota cocinera,



mayoría de lapas del morfotipo L y una minoría SL. Sin embargo, a diferencia de las lapas del litoral, en los individuos del sublitoral y de los basureros observó mediante morfometría tradicional, una forma periforme, en la cual resulta más fácil distinguir la parte anterior de la posterior. Al poder hacer esta diferenciación, el autor plantea la posibilidad de que la gaviota podría elegir atacar por detrás a la lapa, lo que le otorgaría un mayor porcentaje de éxito al tomarla desprevenida, como ya había sido propuesto en un trabajo anterior con ostreros y otra especie de lapa (Hockey y Branch 1983). De esta forma, las gaviotas removerían permanentemente del litoral las lapas con forma periforme, una característica principalmente del morfotipo SL según Nolan (1991). Esta preferencia de las gaviotas sobre la forma de las lapas, además de eliminar el morfotipo SL de la zona litoral, induciría una presión selectiva sobre el morfotipo L, perjudicando a los individuos con un contorno periforme por sobre aquellos que posean una forma más elíptica.

Considerando los antecedentes planteados, se pretende evaluar a través de morfometría clásica y análisis de contornos la existencia de una posible selección de individuos presa por parte de las gaviotas, lo que generaría un efecto de presión de depredación sobre la forma de esta lapa antártica. En este sentido, se pretende indagar sobre uno de los factores propuestos como probables causantes de la variación morfológica en *N. concinna*.

Hipótesis

La depredación de *Larus dominicanus* sobre *Nacella concinna* es un factor que contribuye a la diferenciación morfológica de las valvas de esta lapa.

Predicción

La proporción de cada morfotipo de lapa encontrado en los basureros de alimentación de gaviotas en Caleta Potter, diferirá significativamente de las proporciones presentes en la zona del litoral de este fiordo antártico.

Objetivos

Objetivo General:

- Contribuir a la discusión acerca de si la presencia de los dos morfotipos en la lapa antártica *Nacella concinna* está inducida por una combinación de factores físicos e interacciones biológicas.

Objetivos específicos:

- ◆ Determinar las proporciones de los morfotipos en áreas del litoral y sublitoral de Caleta Potter, Isla 25 de Mayo, utilizando morfometría tradicional y análisis de contorno.



- ◆ Evaluar mediante morfometría tradicional y análisis de contorno las características morfológicas y proporciones de los morfotipos presentes en los basureros de alimentación de la gaviota cocinera.

Metodología

Área de estudio

Las muestras utilizadas en el trabajo provienen de Caleta Potter, un pequeño fiordo ubicado en el sudoeste de la Isla 25 de Mayo, perteneciente al archipiélago de las Shetland del Sur, al noroeste de la Península Antártica (**Fig. 5**). Esta caleta tiene una extensión de aproximadamente 4,7 km de largo por unos 1,6 km de ancho; presenta un glaciar en la margen este y la estación científica Base Antártica Carlini en su margen sur. La retracción de los glaciares en el área debido a los efectos del calentamiento global es, desde hace años, un nuevo factor incidente en las comunidades bentónicas generando cambios en su composición (Quartino et al. 2013; Sahade et al. 2015). Además, éstas nuevas áreas libres de hielo ofrecen más sitios para el anidamiento de aves como es el caso de *L. dominicanus*; lo que podría producir variaciones en el número y ubicación de sus poblaciones (Lee et al. 2017).

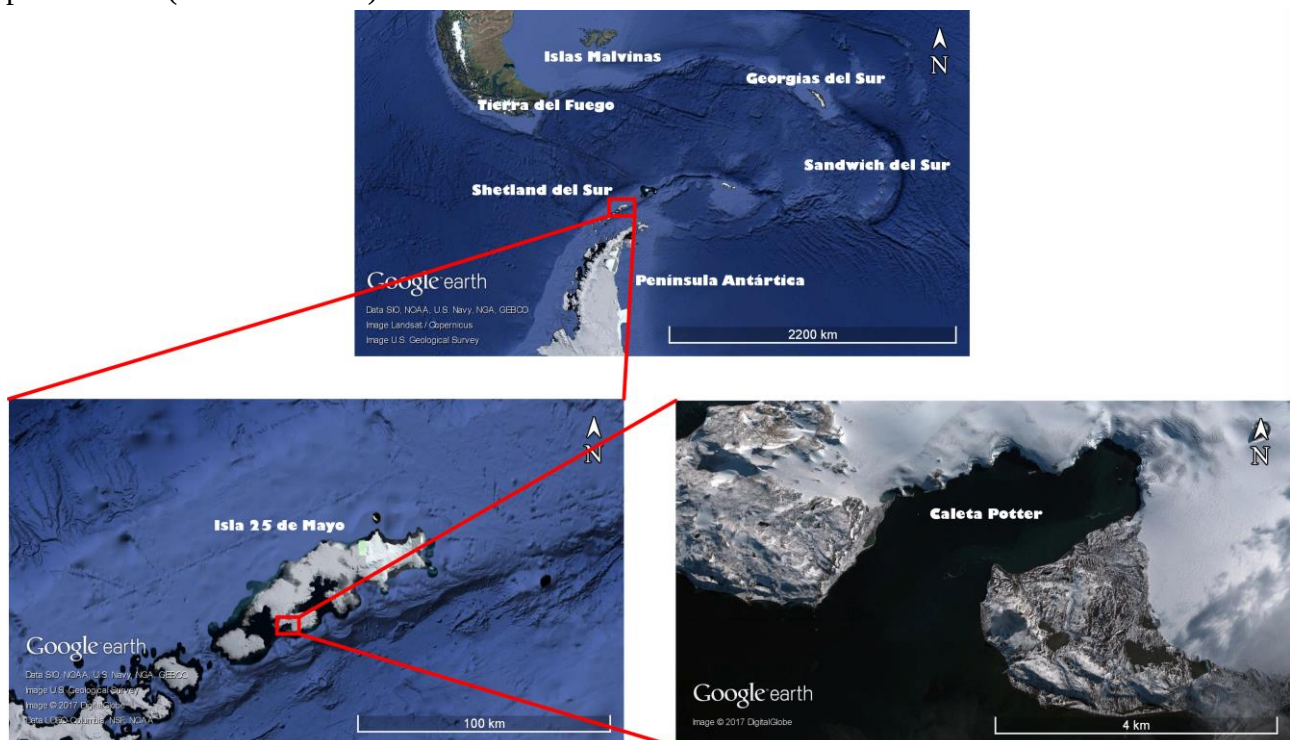


Fig. 5: Ubicación de Caleta Potter en la Isla 25 de Mayo, Islas Shetland del Sur. Imágenes obtenidas de Google Earth.

Colecta de los individuos

La obtención de los individuos se realizó durante la temporada de verano 2013-2014. Se trabajó con 136 lapas pertenecientes a dos sitios de la zona del litoral (Peñón 0 y Peñón 1)



colectadas durante marea baja, 132 propias de dos áreas del sublitoral (Área 1 y Peñón de Pesca) recogidas utilizando equipos de buceo autónomo aproximadamente a 15 metros de profundidad y 159 valvas provenientes de seis basureros de alimentación de *L. dominicanus* en sitios cercanos a la caleta denominados P, K, G, H, T y O (**Fig. 6**). Este último basurero se localiza en la Isla O, una pequeña isla rocosa de alrededor de 3.600 m² ubicada dentro de la caleta y de una historia de aparición reciente. Hasta 1998 estuvo cubierta por el glaciar y terminó de descubrirse en 2003 (Oscar González, comunicación personal).

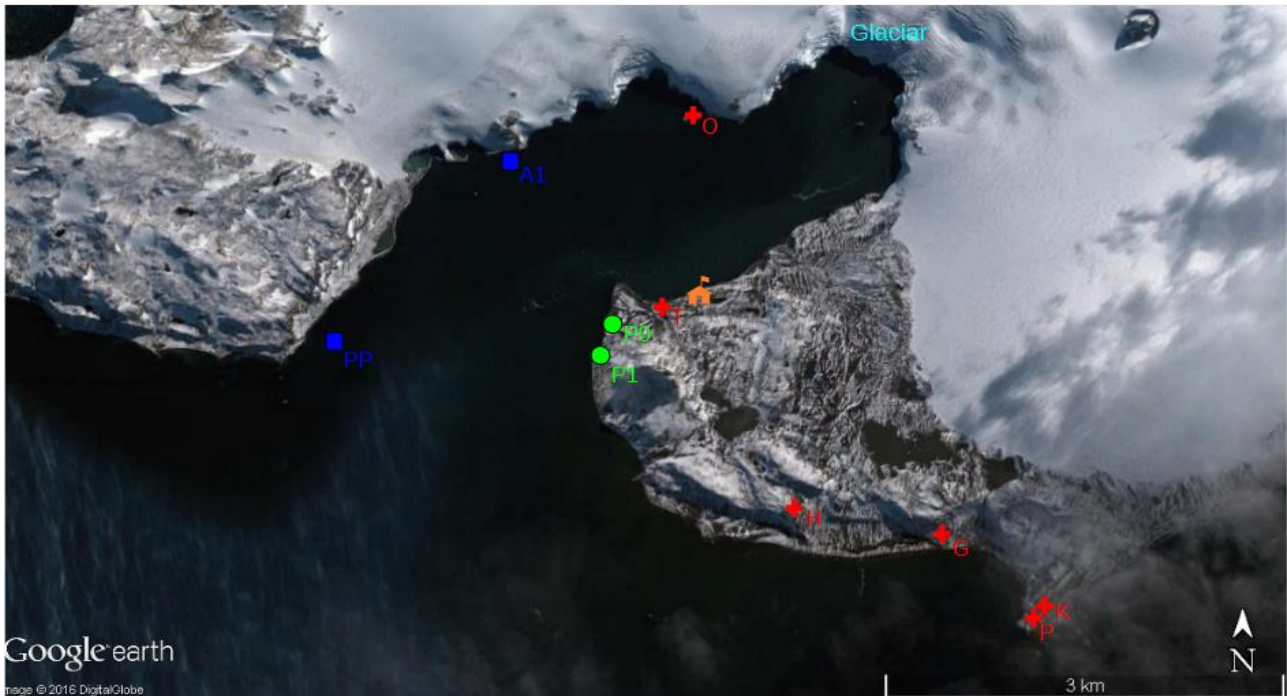


Fig. 6: Imagen satelital de Caleta Potter. En círculos verdes los sitios de colecta de lapas en el litoral Peñón 0 y Peñón 1. En cuadrados azules los sitios de colecta de lapas en el sublitoral Peñón de Pesca y Área 1. En cruces rojas los basureros de alimentación de *L. dominicanus* P, K, G, H, T y O. También se indica la ubicación de la Base Antártica Carlini y el frente del glaciar. Imagen obtenida de Google Earth.

Para cada individuo se separó la valva del tejido blando. Las valvas se limpiaron y rotularon. Algunos de los individuos, mayoritariamente del sublitoral, presentan en la superficie incrustaciones de organismos epibiontes (algas calcáreas, poliquetos, briozoos). Por esta razón, en ciertos casos no es posible tomar alguna de las medidas lineales o el contorno de la valva se distorsiona de manera incorregible (**Fig. 7**). Por otro lado, algunas valvas presentan roturas, las cuales al igual que la epibiosis obligan a descartar individuos para algunos análisis. Todos los estudios se realizaron con valvas mayores a 20 mm ya que a partir de ese tamaño son consideradas adultas (Walker 1972). Debido a las razones precedentes, la información del tamaño de la muestra utilizado para cada análisis se resume en la **Tabla 1**.

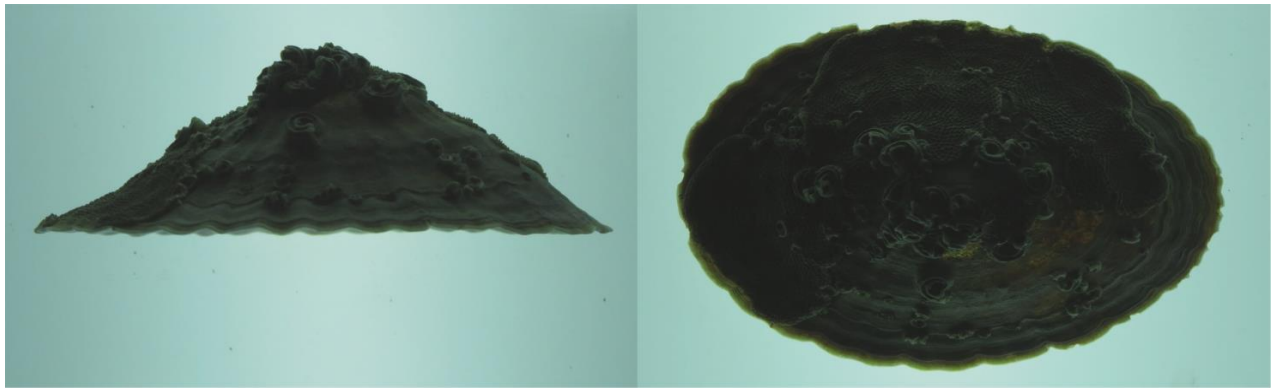


Fig. 7: Valva con epibiosis. Izquierda: vista lateral de valva con poliquetos y briozoos que distorsionan el contorno de la valva imposibilitando la distinción precisa del ápice y la toma de la medida lineal altura máxima. Derecha: vista dorsal de la misma valva donde puede apreciarse que en este caso la epibiosis no afecta al contorno.

Tabla 1: Tamaño de la muestra utilizado para cada grupo en cada uno de los análisis realizados en el presente trabajo.

Valvas	Basureros	Litoral	Sublitoral	Total
<i>Total disponibles</i>	159	136	132	427
<i>Morfometría tradicional</i>	153	113	102	368
<i>Análisis de contorno lateral</i>	159	113	92	364
<i>Análisis de contorno dorsal</i>	126	112	97	335

Morfometría tradicional

Para los análisis de morfometría tradicional se tomaron las siguientes medidas en cada valva (**Fig. 8**): largo máximo (LM; máxima distancia del eje antero-posterior), ancho máximo (AnM; máxima distancia entre el borde derecho y el izquierdo) y alto máximo (AIM; máxima distancia dorso-ventral). Tanto el LM como el AnM se midieron utilizando un calibre digital de 0,01 de precisión, mientras que el AIM se tomó utilizando un calibre manual de mayor tamaño de 0,1 de precisión. El uso de dos calibres se debió a la imposibilidad del tomar la medida AIM con el calibre más pequeño. Todas las valvas se pesaron con una balanza de 0,001 de precisión. Sin embargo, esta variable no se utilizó en los análisis debido a la distorsión causada por la epibiosis en distintos individuos. El error de medición asociado a cada una de las variables, se estimó según el procedimiento detallado por Yezerinac y colaboradores (1992), repitiendo la toma de medidas en el 30 % de los individuos seleccionados al azar en un día diferente.

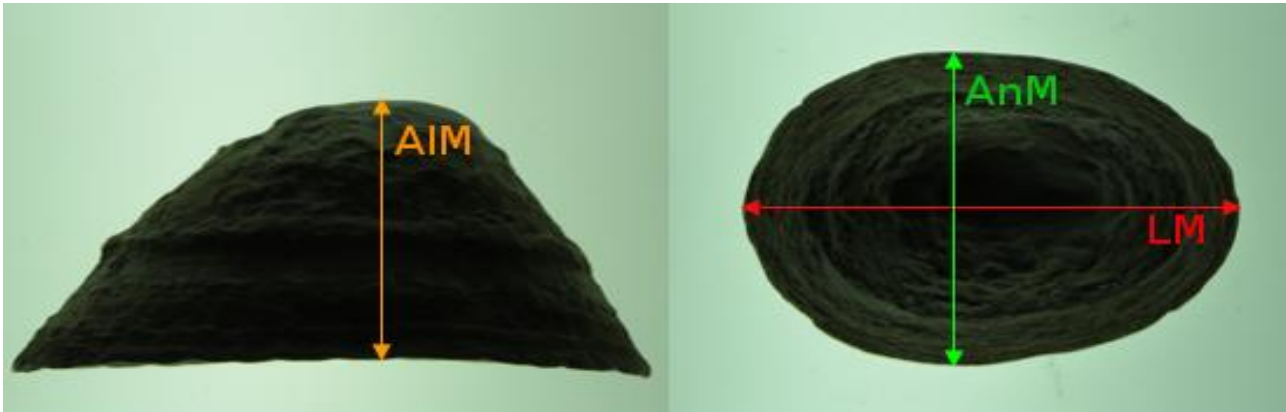


Fig. 8: Medidas lineales tomadas en cada valva. Alto Máximo (AIM), Ancho Máximo (AnM) y Largo Máximo (LM).

Análisis de contorno

Es importante aclarar que la forma de las valvas de estas lapas es simple y prácticamente no se identifican puntos homólogos que puedan ser usados como *landmarks* para el análisis de morfometría geométrica. Por esta razón, en este trabajo se utilizó el Análisis Elíptico de Fourier (EFA, por sus siglas en inglés) de las coordenadas del contorno para analizar las diferencias en la forma de los individuos (Rohlf y Archie 1984). El contorno es expresado como una secuencia de coordenadas x, y de los puntos que lo componen y cada coordenada es representada por las series de Fourier como propusieron Kuhl y Giardina (1982). Luego, los coeficientes del análisis de Fourier que describen la forma de la curva, pueden ser comparados con los coeficientes correspondientes a otras curvas por medio de métodos estadísticos multivariados.

Las valvas se fotografiaron sobre un fondo blanco e iluminado para maximizar el contraste entre éste y el contorno de la valva utilizando una cámara Canon Powershot SX50 HS de 12,1 MP. Se tomaron dos fotografías digitales de cada ejemplar, vista lateral y vista dorsal, ubicándose siempre en la misma orientación. Para la vista lateral, siempre que fue posible, las valvas se ubicaron sobre el lado derecho. En caso de presentar alguna rotura que distorsione el contorno del individuo, se fotografió el lado izquierdo, invirtiéndose la imagen posteriormente. Las imágenes se binarizaron y procesaron con el programa ImageJ (Schneider et al. 2012). El EFA se llevó a cabo utilizando el Software SHAPE (Iwata y Ukai 2002). Los coeficientes Elípticos de Fourier se normalizaron para evitar que los resultados se vean influidos erróneamente por diferencias en el tamaño, ubicación y orientación de las valvas (Rohlf y Archie 1984). La curva más próxima de cada valva se descompuso en la suma de 15 armónicos elípticos. Se utilizó este valor ya que en un trabajo previo con esta misma especie en seis localidades realizado por de Aranzamendi y colaboradores (2010), éstos 15 armónicos representaron el 99,99 % del total del poder del espectro de Fourier (Crampton 1995). Con el objetivo de reducir la dimensionalidad del *set* de datos, para ambas vistas se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) con los coeficientes del EFA. Se calculó el error asociado al CP 1 de ambas vistas, según el procedimiento detallado por Yezerinac y colaboradores (1992), repitiendo la toma de fotografías al 30 % de las valvas analizadas.



Análisis estadísticos

Se realizaron gráficos de dispersión bivariados y se ajustaron líneas de tendencias mediante el método de mínimos cuadrados para los individuos del litoral, sublitoral y basureros en cada gráfico con el objetivo de visualizar posibles diferencias en las relaciones entre las medidas lineales. Luego de verificar que los datos obtenidos a través de morfometría tradicional y los Componentes Principales (CP) de ambas vistas del EFA, no poseen una distribución normal, se realizaron *tests* de MANOVA no paramétrico (PERMANOVA) utilizando distancia Euclidiana para corroborar si existen o no diferencias significativas entre los grupos litoral y sublitoral para cada caso. El número de permutaciones empleadas en estos análisis y con el cual se observaron resultados estables fue de 1.000.000. Con el objetivo de reducir la dimensionalidad de los datos de medidas lineales en morfometría tradicional, se realizó un ACP, del cual, al igual que en los casos de análisis de contorno, se obtuvo un gráfico de dispersión del CP 1 vs. el CP 2. Por su parte, con los datos del EFA, se realizaron *plots* con los promedios por localidad entre CP 1 vs. el CP 2 de los basureros individuales y de los sitios de colecta de lapas del litoral y el sublitoral. Estos gráficos de dispersión de CPs permiten visualizar cuán distantes se encuentran los morfotipos y, a su vez, la relación de estos con los de los basureros. Por otro lado, con la intención de comparar la distribución de las valvas de los basureros con las valvas del litoral y sublitoral y así poder apreciar si existe una preferencia de las gaviotas por alguna forma de valva en particular, se elaboraron gráficos de densidad. Para esto se utilizó la relación LM/AlM en morfometría tradicional, el CP 1 del EFA lateral y los CP 1 y 2 en la vista dorsal. Para verificar si existen diferencias entre las distribuciones de los grupos en los gráficos de densidad, se realizaron *tests* de Kolmogorov–Smirnov (K-S) entre pares de comparaciones. Tanto para morfometría tradicional como para las dos vistas del análisis de contornos, se llevaron a cabo *tests* discriminantes con la intención de evaluar las valvas colectadas en el litoral y el sublitoral así como clasificar las valvas encontradas en los basureros en alguno de los grupos reales según su morfología (litoral o sublitoral), generando en el caso de morfometría tradicional una función discriminante con la cual es posible asignarle la categoría litoral o sublitoral a nuevos individuos. El análisis se validó mediante una prueba cruzada *Leave-One-Out (Jackknifed)*. Por último, mediante los CP más significativos del EFA, se obtuvieron las formas consenso de las lapas del litoral, del sublitoral y de los basureros, las cuales pueden utilizarse como una medida de comparación visual entre los grupos. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa PAST 3 (Hammer et al. 2001), a excepción del análisis discriminante de morfometría tradicional, que se realizó con la versión de PAST 2.17c, a los fines de obtener la función discriminante. Los gráficos de dispersión bivariados de morfometría tradicional, así como los gráficos de barra (utilizados para ilustrar los resultados de los ACP y los análisis discriminantes de morfometría tradicional y EFA) se realizaron con el programa EXCEL (paquete Microsoft Office). Los gráficos de densidad se obtuvieron mediante RStudio versión 1.0.136 (RStudio Inc., Boston, MA, USA).



Resultados

Morfometría tradicional

El error de medición asociado a cada una de las variables es de LM: 0,004 %; al AnM: 0,007 %; AIM: 0,046 %.

En la **Fig. 9** se muestran los gráficos de dispersión bivariados donde pueden observarse las relaciones entre las medidas lineales tomadas. El grupo del litoral mostró una marcada similitud con las lapas de basureros de alimentación, pudiéndose observar la proximidad de las líneas de tendencia en las gráficas LM vs. AIM, LM vs. AnM y AnM vs. AIM. Por su parte, las lapas del sublitoral mostraron una pendiente más suave en la relación del AIM en función del LM o el AnM, lo que indica su contextura más achatada. Cabe destacar el gran ajuste y la superposición de las líneas del litoral, sublitoral y basureros en la relación entre el LM y el AnM, lo que estaría indicando que esta relación no solo no presenta una respuesta diferenciada entre los morfotipos, sino que además se mantiene muy próxima a un valor medio de 1,4 mm de largo por cada 1 mm de ancho en todos los individuos a partir de los 20 mm de largo. Para medir el grado de relación de cada par de variables, se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson para cada grupo en cada comparación (**Tabla 2**).

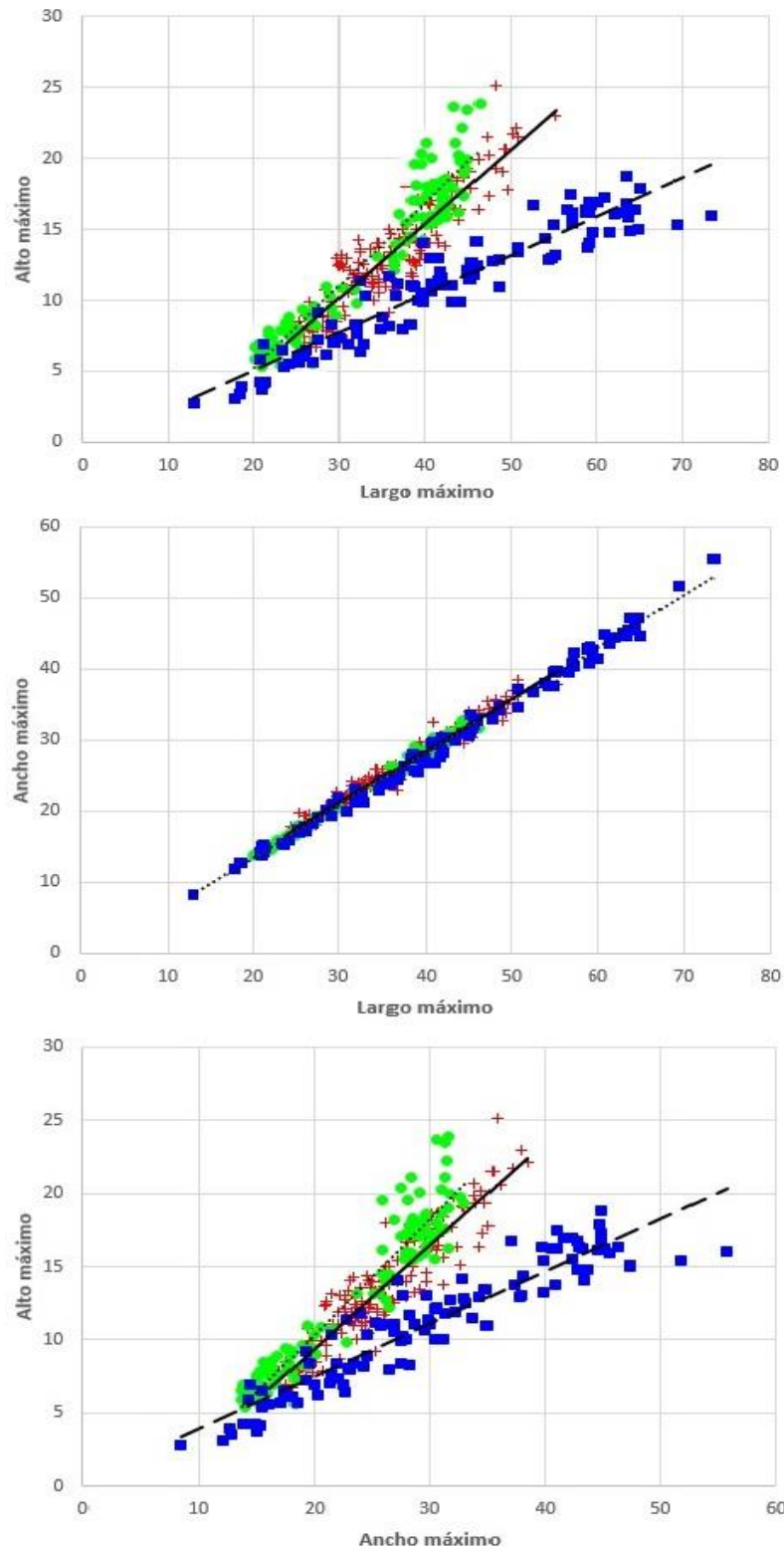


Fig. 9: Gráficos de dispersión bivariados. Arriba: *Plot* LM vs. AIM. Medio: *Plot* LM vs. AnM. Abajo: *plot* AnM vs. AIM. En círculos verdes se marcan los individuos del litoral, en cuadrados azules los provenientes del sublitoral y con cruces rojas los de basereros. Se muestran las líneas de tendencia para cada set de datos. En punteado, la recta perteneciente al grupo litoral, en discontinuo al grupo sublitoral y en continuo al grupo basereros.



Tabla 2: Se presentan los coeficientes de correlación de Pearson de las líneas de tendencia para cada grupo en cada una de los gráficos de dispersión bivariados. Todos los coeficientes son estadísticamente significativos ($P < 0,001$).

Coef. de Pearson	LM vs. AIM	LM vs. AnM	AnM vs. AIM
Litoral	0,9570	0,9958	0,9538
Sublitoral	0,9471	0,9963	0,9359
Basureros	0,9170	0,9801	0,9252

El análisis de PERMANOVA, encontró diferencias significativas entre el litoral y el sublitoral ($F = 38,63$; $P < 0,001$; $\alpha = 0,05$).

Los dos primeros componentes principales absorbieron el 99,7% de la variación (CP 1 = 95,4 %; CP 2 = 4,3 %; CP 3 = 0,3 %). En la **Fig. 10** se observa el *plot* del CP 1 vs. el CP 2 con las elipses correspondientes al 95 % de la población para el litoral y el sublitoral, las cuales generan tres áreas de importancia: la intersección entre ambas, que se denominará zona de confluencia; la zona exclusiva del litoral y la zona exclusiva del sublitoral. Observando la relación de las variables empleadas con los CP 1 y 2, indicadas en la **Tabla 3**, se entiende que el CP 1 está explicado en mayor medida por el LM y el AnM, mientras que el CP 2 por el AIM. Por su lado, la **Fig. 11** resume las proporciones de valvas provenientes del litoral, sublitoral y basureros ubicadas en cada una de las zonas nombradas anteriormente y las que se encuentran por fuera de todas, mostrando los basureros una marcada semejanza con el grupo litoral.

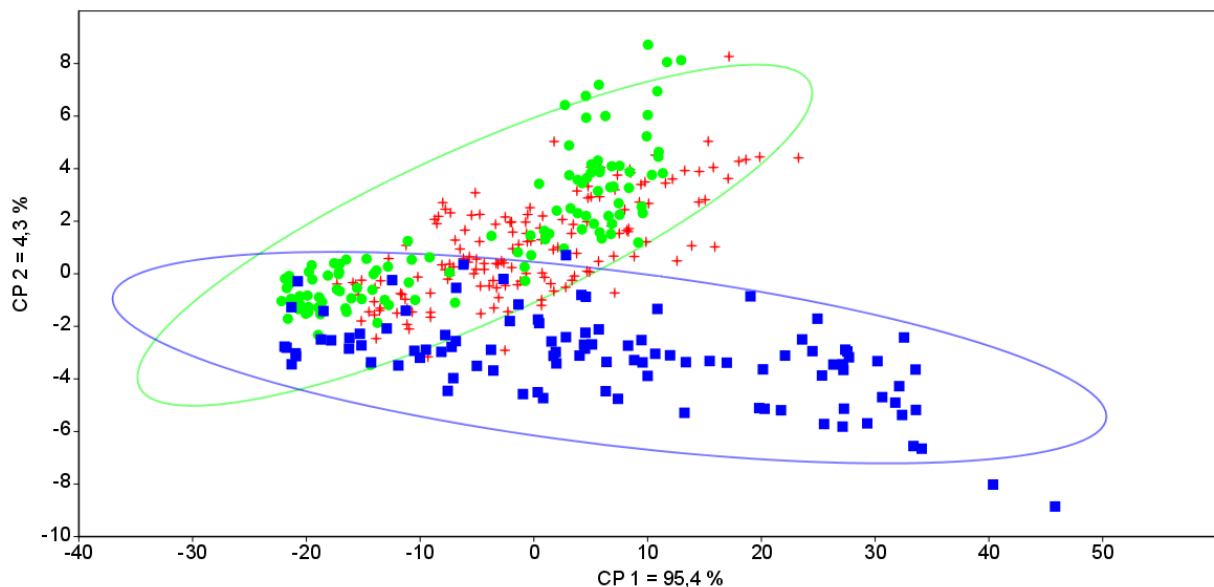


Fig. 10: *Plot* CP 1 vs. CP 2. En círculos verdes se marcan los individuos del litoral, en cuadrados azules los provenientes del sublitoral y con cruces rojas los de basureros

Tabla 3: relación entre los componentes principales y las medidas lineales en el ACP.

Eigenvalues	CP 1	CP 2
LM	0,775	-0,218
AnM	0,576	-0,143
AIM	0,26	0,966

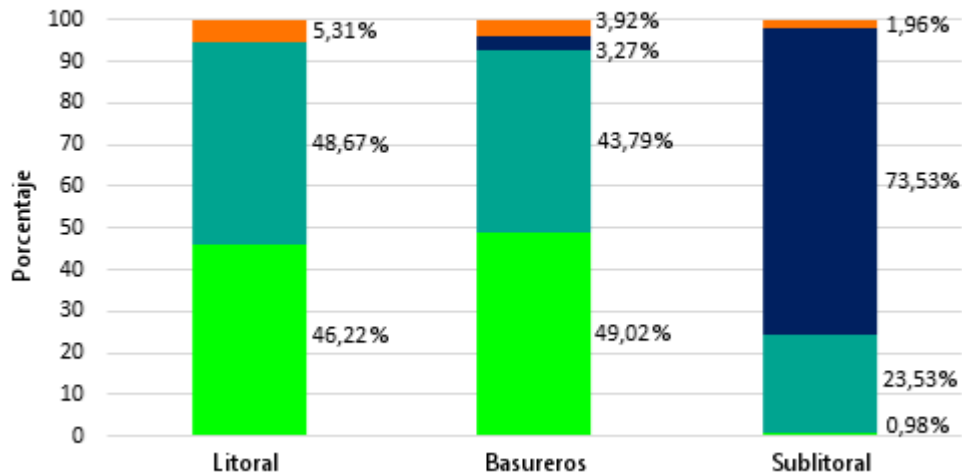


Fig. 11: Gráfico de barra con las proporciones de valvas de los grupos litoral; basureros y sublitoral, ubicadas en las zonas delimitadas por las elipses del 95 % de la población en el *plot* PC 1 vs. PC 2 de morfometría tradicional. En verde, zona exclusiva litoral; verde azulado, zona de confluencia; azul, zona exclusiva sublitoral; naranja, por fuera de las elipses. A la derecha de cada barra se encuentran los porcentajes correspondientes a cada zona.

El gráfico de densidad de la relación LM/AIM (**Fig. 12**), muestra una superposición marcada entre las curvas de las valvas provenientes de basureros y el litoral, mientras que la perteneciente al sublitoral se encuentra desplazada hacia derecha, denotando un menor AIM en relación al LM en sus individuos. La **Tabla 4** resume los valores *P* obtenidos de las comparaciones de a pares del *test* K-S, donde se observa que el sublitoral difiere con el litoral y con los basureros, mientras que entre estos dos grupos no se encontraron diferencias significativas.

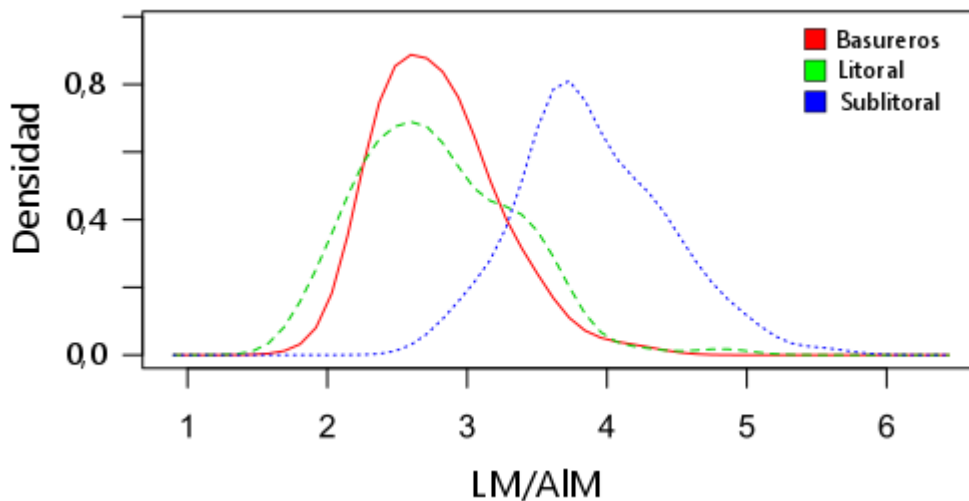


Fig. 12: Gráfico de densidad con la relación LM/AIM empleada como variable.

Tabla 4: Valores *P* obtenidos de la comparación de a pares del *test* K-S.

Comparación	B - L	B - SL	L - SL
<i>P</i>	0,075	<0,001 *	<0,001 *

* $P < 0,05$, considerando la corrección de Bonferroni ($P < 0,0167$)



El análisis discriminante sobre los datos de morfometría tradicional arrojó la siguiente función discriminante:

$$y = (-5,702) + (-0,806 * LM) + (0,459 * AnM) + (1,056 * AIM)$$

Utilizando esta función pueden ser clasificadas las valvas de distintos individuos a partir de las medidas lineales empleadas como propias del grupo litoral (si se obtiene de ella un valor positivo) o al grupo sublitoral (si se obtiene un valor negativo).

Mediante el procedimiento de validación *Jackknifed*, solamente tres de individuos colectados en el litoral los ubicó en el grupo del sublitoral. Con respecto a los individuos colectados en el sublitoral, 13 de un total de 102 se asignaron al grupo litoral. Se obtuvo un porcentaje de clasificación correcta del 92,56 %. La función discriminante clasificó un total de 140 lapas de basureros como pertenecientes al grupo litoral, mientras que solo 13 se ubicaron en el grupo sublitoral. De estas últimas, cuatro pertenecen al basurero G (14,81 % de los individuos provenientes de este basurero), tres al basurero K (6,66 %), una al basurero P (4,37 %), una al basurero T (5,88 %) y cuatro al basurero O (20 %). La **Fig. 13** resume los resultados obtenidos por el análisis discriminante.

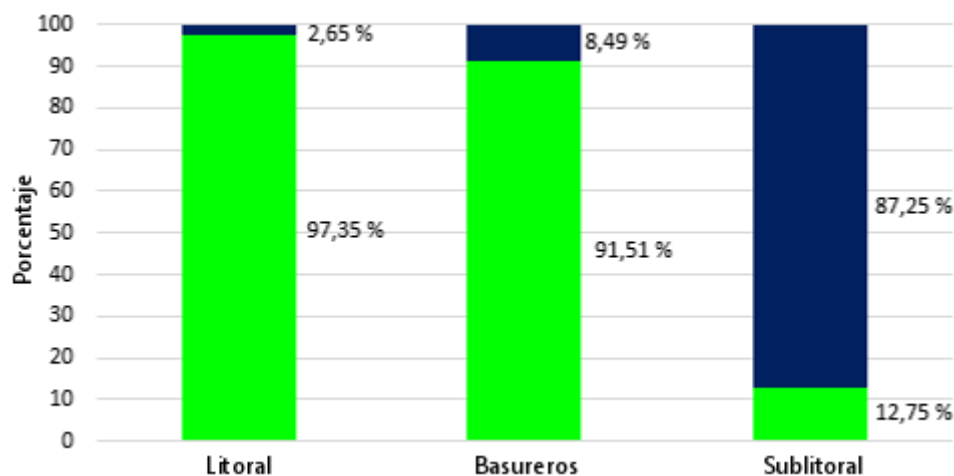


Fig. 13: Gráfico de barras con las proporciones de valvas del litoral, basureros y sublitoral, clasificadas por el análisis discriminante como pertenecientes al grupo litoral en verde y la sublitoral en azul. A la derecha de cada barra se encuentran los porcentajes correspondientes a cada grupo.

Análisis de contorno

Vista lateral

El análisis de PERMANOVA de la vista lateral mostró diferencias significativas entre las lapas del litoral y el sublitoral ($F = 234$; $P < 0,001$; $\alpha = 0,05$).

El ACP arrojó cuatro CP significativos que absorben el 95,88 % de la variación total de los datos (CP 1 = 87,17 %; CP 2 = 4,37 %; CP 3 = 2,22 %; CP 4 = 2,12 %). El error asociado al CP 1 fue del 0,85%. En la **Fig. 14** se observa un *plot* del CP 1 vs. el CP 2. En el gráfico se marcaron las elipses correspondientes al 95 % de la población para la distribución el litoral y el sublitoral. Al



costado de los ejes se encuentran las formas consenso media, más y menos dos desvíos para cada CP. Por su lado, la **Fig. 15** resume las proporciones de valvas del litoral, sublitoral y basureros ubicadas en cada una de las zonas delimitadas por las elipses y las que se encuentran por fuera, donde nuevamente, al igual que en morfometría tradicional, las proporciones de los basureros se asemejaron a las del litoral, diferenciándose marcadamente del sublitoral.

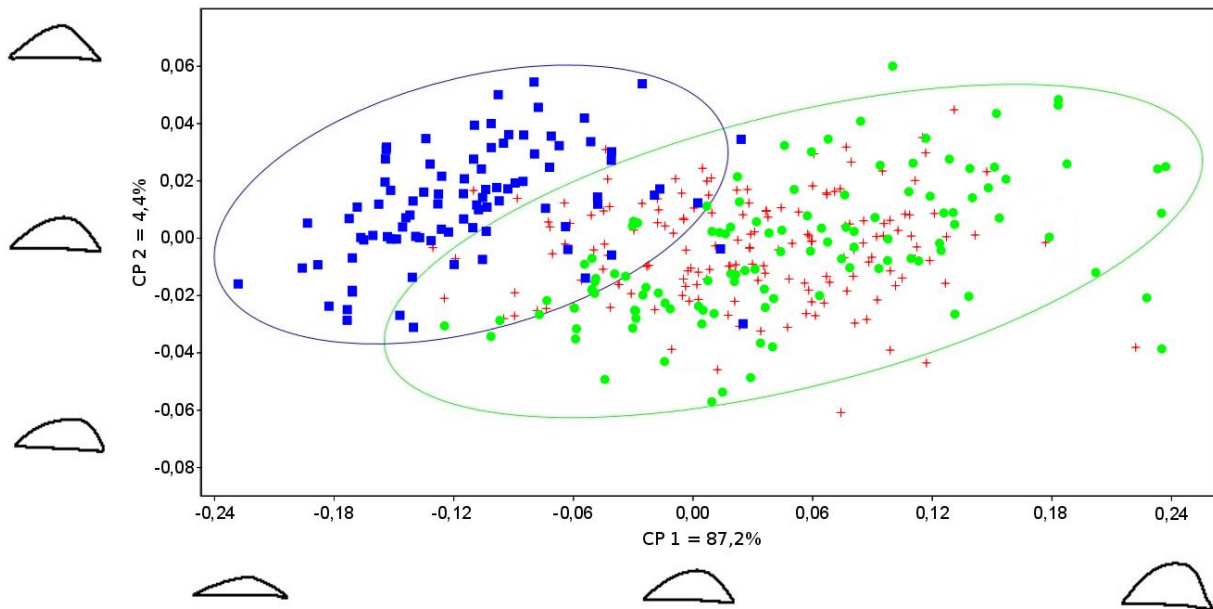


Fig. 14: *Plot* CP1 vs CP2. En círculos verdes se marcan los individuos del litoral, en cuadrados azules los provenientes del sublitoral y con cruces rojas los de basureros. Al costado de los ejes se encuentran las formas consenso media, más dos y menos dos desvíos del consenso de los individuos.

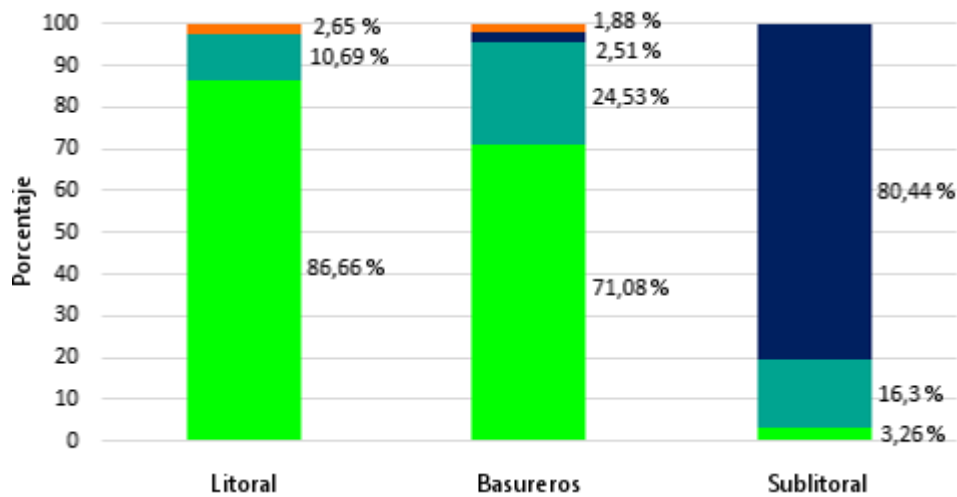


Fig. 15: Gráfico de barra con las proporciones de valvas de los grupos litoral; basureros y sublitoral, ubicadas en las zonas delimitadas por las elipses del 95 % de la población en el *plot* PC 1 vs. PC 2 de análisis de contorno lateral. En verde, zona exclusiva litoral; verde azulado, zona de confluencia; azul, zona exclusiva sublitoral; naranja, por fuera de las elipses. A la derecha de cada barra se encuentran los porcentajes correspondientes a cada zona.

En la **Fig. 16** se grafican los valores promedio de los CP de cada basurero individual en conjunto con los valores promedio de los sitios del litoral y el sublitoral. Puede observarse que los basureros se encuentran comprendidos entre ambos sitios del litoral, tanto en el eje del CP 1 como del CP 2.

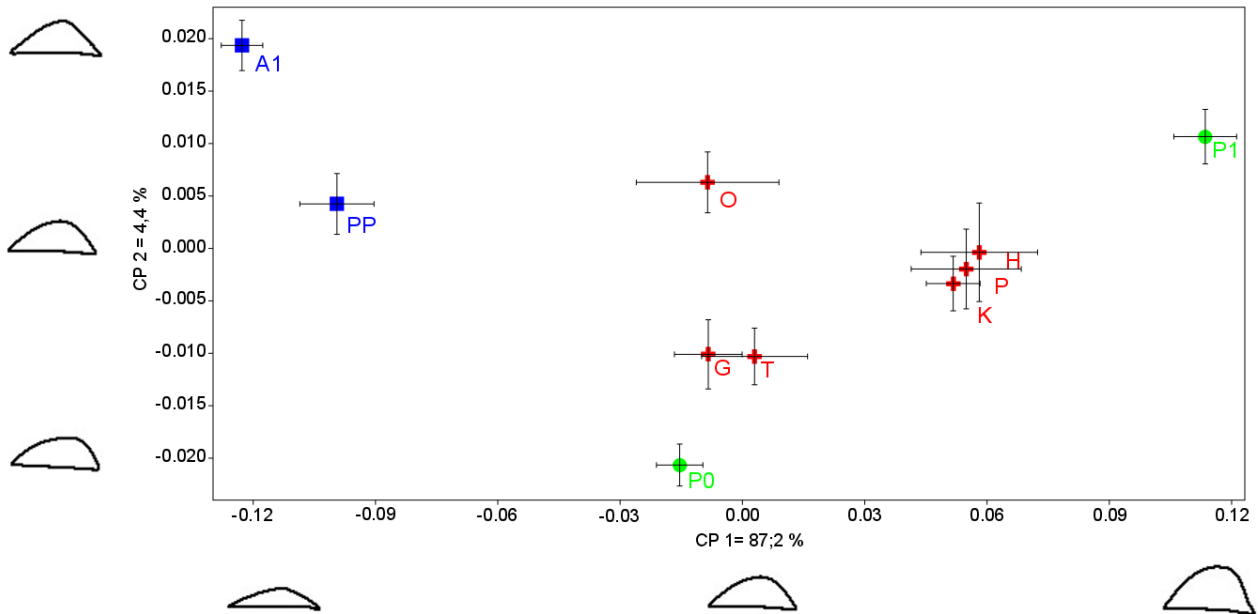


Fig. 16: Plot CP1 vs CP2. Se marcan los valores medios de los grupos litoral, sublitoral y cada basurero individual más sus respectivos errores estándares. Con un círculo verde se marcan los sitios del grupo litoral, con un cuadrado azul los pertenecientes al sublitoral y con cruces rojas los de basureros.

El gráfico de densidad de vista lateral (**Fig. 17**) muestra una marcada superposición en gran parte de sus áreas entre las curvas pertenecientes a los basureros y el litoral, revelando sus picos máximos muy próximos entre sí. Por su parte, la curva perteneciente a las valvas del sublitoral se ubica desplazada hacia el costado izquierdo de la gráfica, mostrando una menor superposición con las demás. La **Tabla 5** resume los valores *P* obtenidos del *test* K-S de las comparaciones de a pares entre los grupos, donde de igual forma que en morfometría tradicional, existen diferencias entre el litoral y el sublitoral, mientras que los basureros se diferencian significativamente del sublitoral, pero no así del litoral.

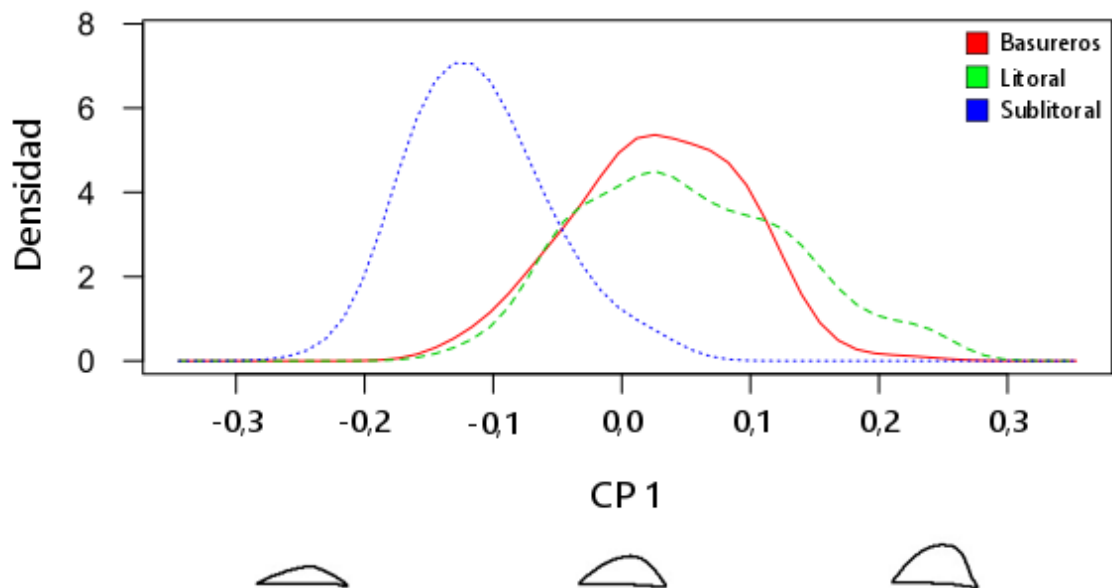


Fig. 17: Gráfico de densidad de vista lateral, empleando el CP 1 como variable



Tabla 5: Valores *P* obtenidos de la comparación de a pares del *test* K-S.

Comparación	B - L	B - SL	L - SL
<i>P</i>	0,024	<0,001 *	<0,001 *

* *P* < 0,05, considerando la corrección de Bonferroni (*P* < 0,0167)

El análisis discriminante de la vista lateral, por medio del procedimiento de validación *Jackknifed*, reasigno el total de las lapas del litoral al mismo grupo. Con respecto a los individuos colectados en el sublitoral, solo seis se asignaron al grupo litoral. El análisis general obtuvo un porcentaje de clasificación correcta del 97,07 %. En relación a los individuos de los basureros, se obtuvo un total 155 lapas clasificadas como pertenecientes al grupo litoral, mientras que solo 4 valvas fueron ubicadas en el grupo sublitoral. Estas últimas pertenecientes al basurero O, lo que representa un 18,19 % del total de individuos de este basurero. La **Fig. 18** resume los resultados obtenidos.

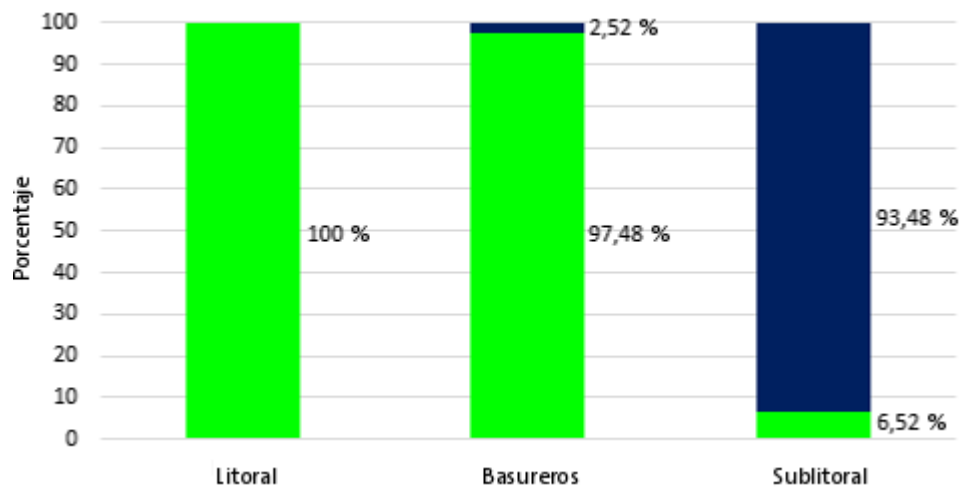


Fig. 18: Gráfico de barras con las proporciones de valvas del litoral, basureros y sublitoral, clasificadas por el análisis discriminante como pertenecientes al grupo litoral en verde y al sublitoral en azul. A la derecha de cada barra se encuentran los porcentajes correspondientes a cada grupo.

Al igual que en trabajos previos, ambos morfotipos se caracterizaron con sus formas consenso (de Aranzamendi et al. 2010; González-Wevar et al. 2011), teniendo las lapas del litoral una contextura más alta y globosa, mientras que las lapas del sublitoral se muestran más achatadas. Es importante destacar que, en ambas zonas, los individuos muestran una tendencia a presentar el ápice hacia anterior de la valva. También se obtuvo la forma consenso de las valvas provenientes de los basureros, la cual, visualmente, se asemeja bastante a la forma consenso del litoral (**Fig. 19**).

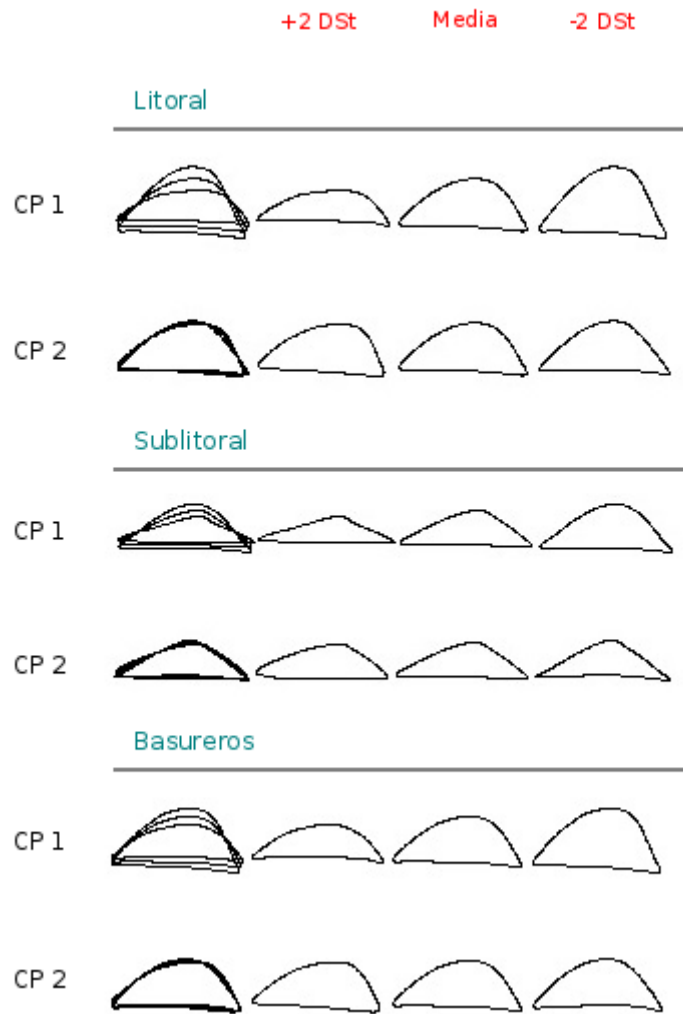


Fig. 19: Forma consenso del CP 1 y CP 2, + 2 desvíos estándar y -2 desvíos estándar de los grupos litoral, sublitoral y basureros.

Vista dorsal

El análisis de PERMANOVA para la vista dorsal entre el grupo litoral y el sublitoral encontró diferencias un bajo nivel de significación entre ambos grupos ($F = 5,033$; $P = 0,013$; $\alpha = 0,05$).

El ACP arrojó siete CP significativos, los cuales absorben en conjunto el 86,78 % de la variación de los datos (CP 1 = 65,49 %, CP 2 = 7,21 %, CP 3 = 3,78 %, CP 4 = 3,57 %, CP 5 = 2,66 %, CP 6 = 2,09 % y CP 7 = 1,98 %). El error asociado al CP 1 fue del 0,20 %. En la **Fig. 20** se observa un *plot* del CP 1 vs. el CP 2. Se marcan las elipses del 95 % para los grupos litoral y sublitoral. Al costado de los ejes se encuentran las formas consenso media, más y menos dos desvíos para cada CP. La **Fig. 21** resume las proporciones de valvas del litoral, sublitoral y basureros ubicadas en cada una de las zonas delimitadas por las elipses y las que se encuentran por fuera. En este caso, los tres grupos poseen proporciones muy similares, encontrándose la mayoría de los individuos ubicados en la zona de confluencia. La principal diferencia radica en una cantidad mayor de individuos de los basureros en comparación con el litoral y el sublitoral, ubicados por fuera de las zonas delimitadas, la mayoría de ellos, desplazados negativamente sobre el eje del CP 2.

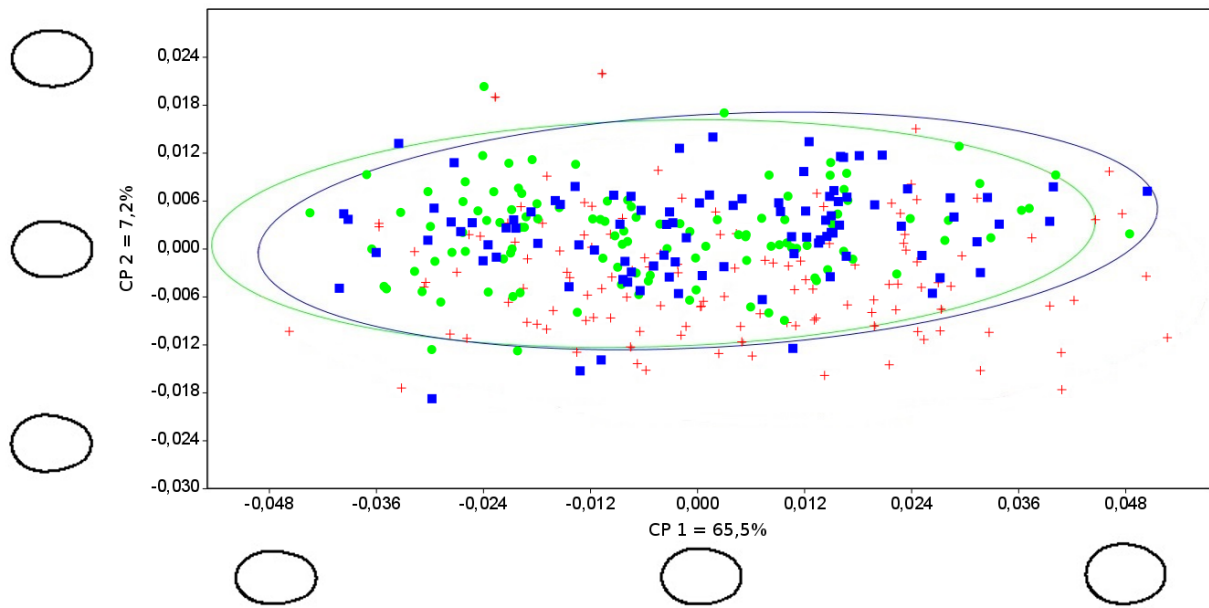


Fig. 20: *Plot* CP1 vs. CP2. En círculos verdes se marcan los individuos del litoral, en cuadrados azules los provenientes del sublitoral y con cruces rojas los de basureros. Al costado de los ejes se encuentran las formas consenso media, más dos y menos dos desvíos del consenso de los individuos.

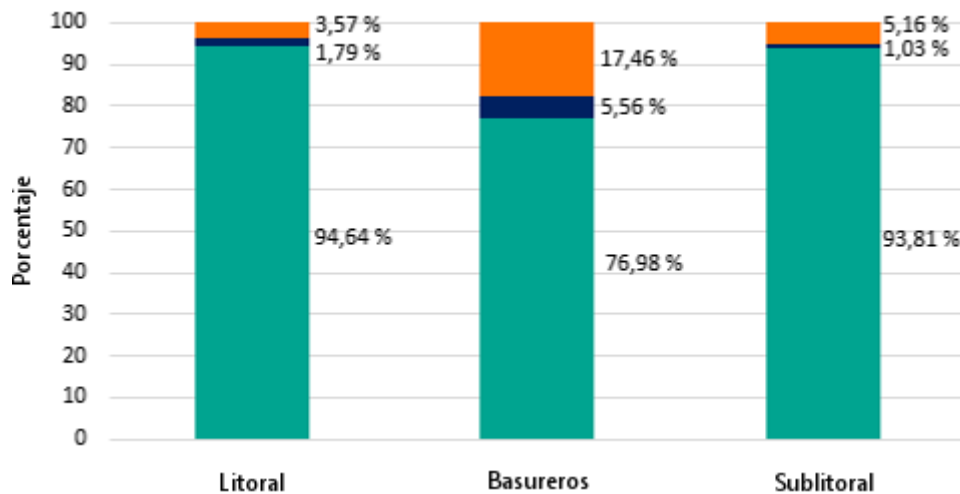


Fig. 21: Gráfico de barra con las proporciones de valvas de los grupos litoral; basureros y sublitoral, ubicadas en las zonas delimitadas por las elipses del 95 % de la población en el *plot* PC 1 vs. PC 2 de análisis de contorno dorsal. En verde azulado, zona de confluencia; azul, zona exclusiva del sublitoral; naranja, por fuera de las elipses. A la derecha de cada barra se encuentran los porcentajes correspondientes a cada zona.

Los valores promedios de los CP de los sitios del litoral, sublitoral y los basureros individuales se ven graficados en la **Fig. 22**. En este *plot*, puede observarse que los basureros se encuentran ubicados sobre la zona negativa del eje del CP 2, la que se caracteriza por una forma más aperada, mientras que los sitios del litoral y el sublitoral se encuentran sobre la sección positiva, caracterizada con una forma más ovalada.

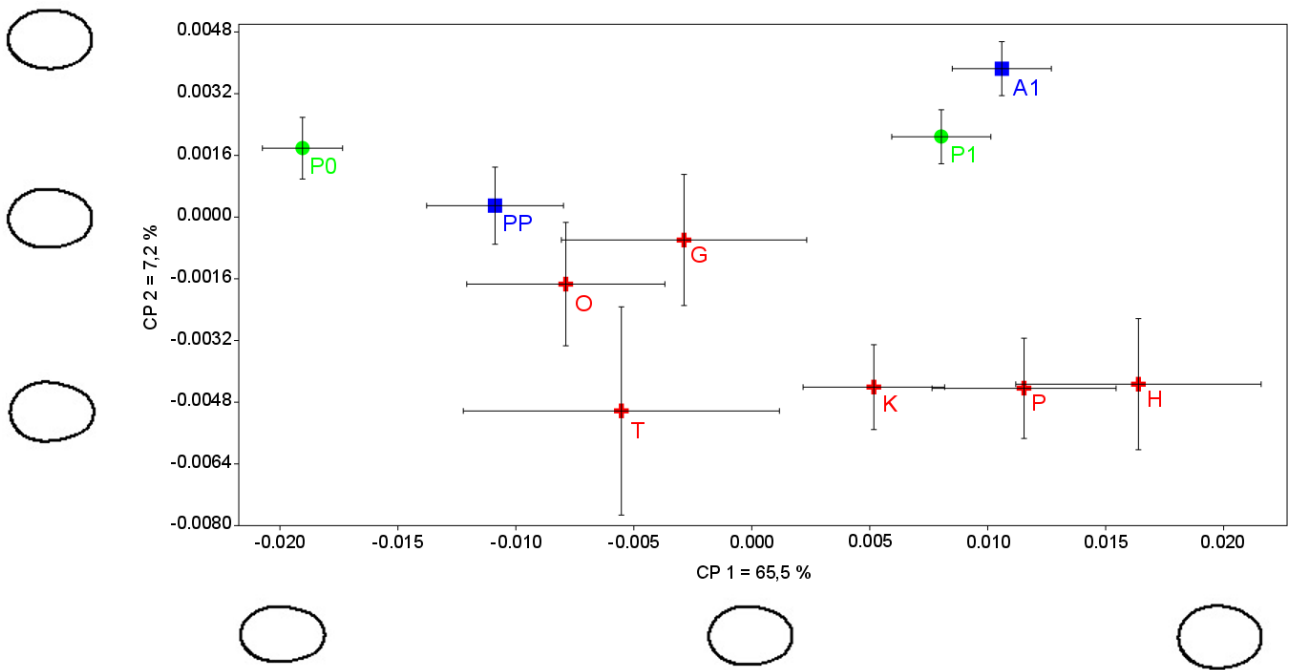


Fig. 22: Plot CP1 vs CP2. Se marcan los valores medios de los grupos litoral, sublitoral y cada basurero individual más sus respectivos errores estándares. En círculos verdes se marcan los grupos del litoral, en cuadrados azules los provenientes del sublitoral y con cruces rojas los de basureros.

El gráfico de densidad del CP 1 de la vista lateral (**Fig. 23**), muestra una marcada superposición en gran parte de sus áreas entre las curvas pertenecientes a los tres grupos. La **Tabla 6** resume los valores *P* obtenidos del *test* K-S de las comparaciones de a pares entre los grupos, donde puede verse que los únicos grupos que se diferencian con un bajo nivel de significancia, son los basureros y el litoral.

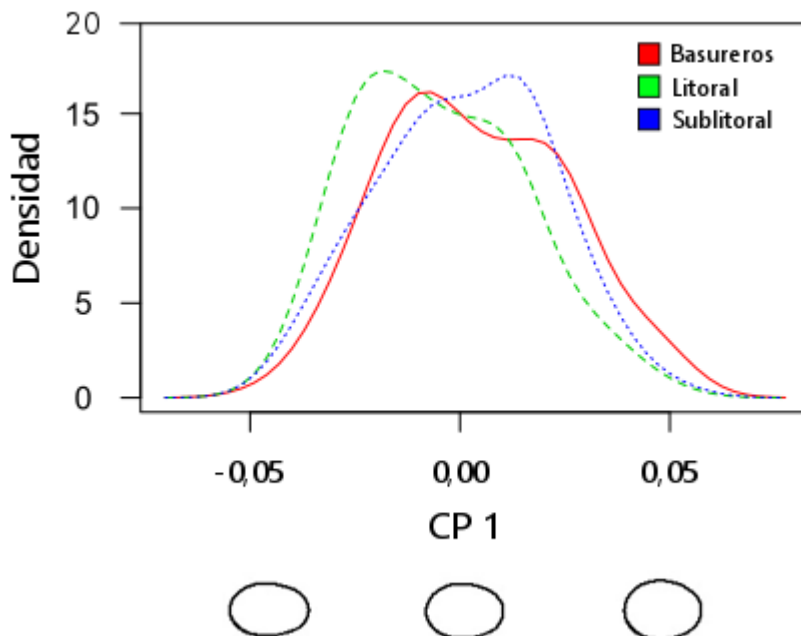


Fig. 23: Gráfico de densidad de la vista dorsal, empleando el CP 1 como variable.

Tabla 6: Valores *P* obtenidos de la comparación de a pares del *test* K-S.

Comparación	B - L	B - SL	L - SL
<i>P</i>	0,012 *	0,257	0,060

* *P* < 0,05, considerando la corrección de Bonferroni (*P* < 0,0167).



La **Fig. 24** muestra el gráfico de densidad del CP 2 (7,21% de la variación dorsal), el cual cobra relevancia ya que este componente estaría explicando en mayor medida un continuo de variación entre una forma ovalada a una aperada. La **Tabla 7** expone los valores P obtenidos del *test* K-S para las comparaciones de a pares entre los grupos, donde los basureros se diferencian significativamente tanto del litoral como del sublitoral, mientras que no se encuentran diferencias entre estos dos grupos.

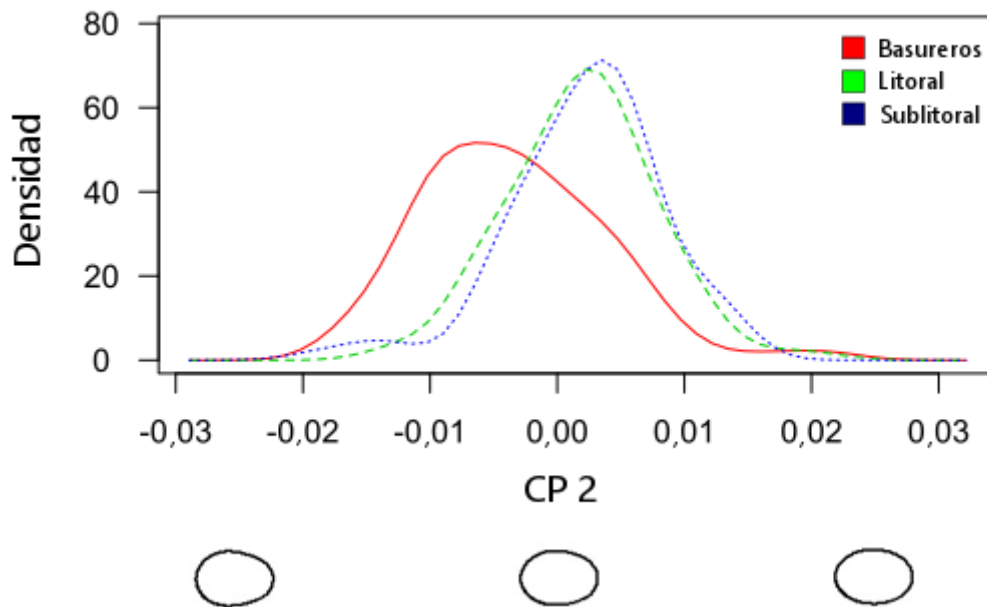


Fig. 24: Gráfico de densidad de la vista dorsal, empleando el CP 2 como variable.

Tabla 7: Valores P obtenidos de la comparación de a pares del *test* K-S.

Comparación	B - L	B - SL	L - SL
P	<0,001 *	<0,001 *	0,826

* $P < 0,05$, considerando la corrección de Bonferroni ($P < 0,0167$).

El análisis discriminante mediante la validación *Jackknifed* asignó de los 112 individuos del litoral, 33 en el grupo sublitoral. Con respecto al grupo del sublitoral, 37 de un total de 97 fueron reasignadas en el grupo litoral. Se obtuvo un porcentaje de clasificación correcta del 63,64 %, menor valor que los obtenidos para la vista lateral y la morfometría tradicional. Con respecto a las valvas de los basureros, un total de 82 lapas fueron clasificadas como propias del grupo litoral, mientras que 44 fueron indicadas como pertenecientes al sublitoral. La **Fig. 25** resume los resultados obtenidos por este análisis.

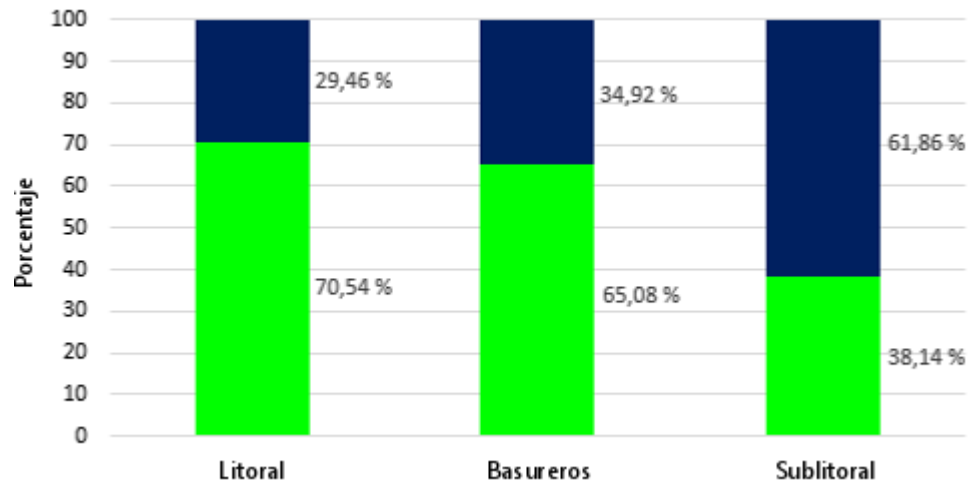


Fig. 25: Gráfico de barras con las proporciones de valvas del litoral, basureros y sublitoral, clasificadas por el análisis discriminante como pertenecientes al grupo litoral en verde y al sublitoral en azul. A la derecha de cada barra se encuentran los porcentajes correspondientes a cada grupo.

Las formas consenso de la vista dorsal no denotan una diferenciación visual tan marcada como las de vista lateral dentro de cada componente y en comparación entre los grupos, sin embargo se puede observar que el CP 1 muestra una variación en el ancho general de la forma, viéndose de manera muy similar las medias de los tres grupos, mientras que el CP 2 estaría explicando un continuo entre una forma aperada hacia una elíptica, donde la forma media de los basureros es más aperada que las del litoral y sublitoral (**Fig. 26**).

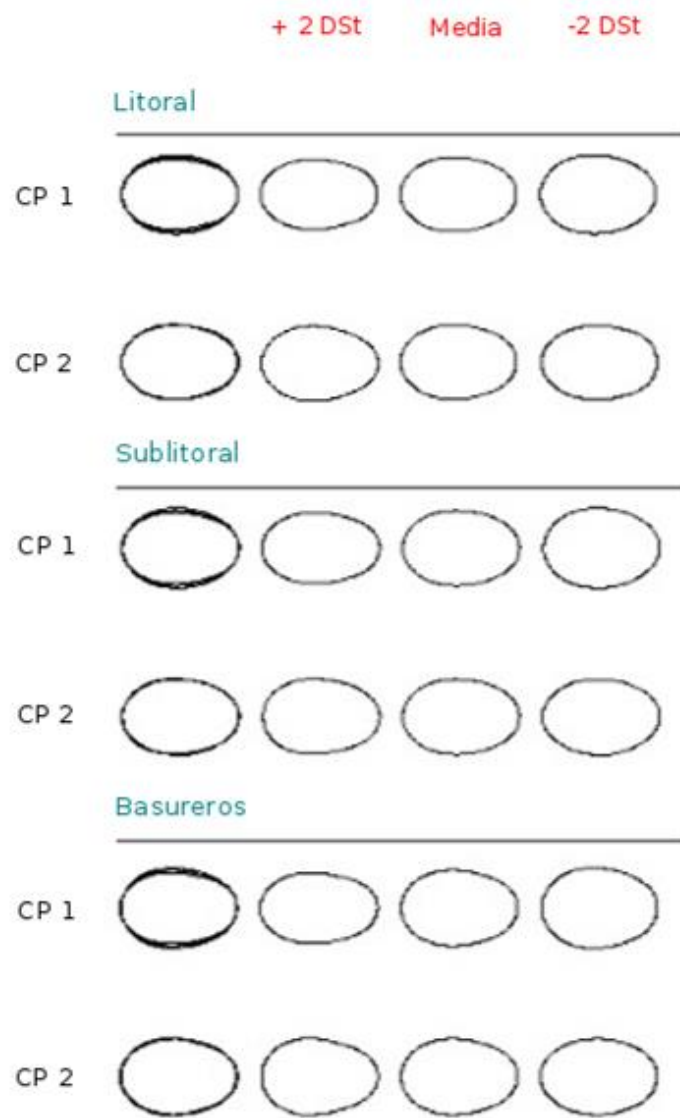


Fig. 26: Forma consenso del CP1 y CP2, + 2 desvíos estándar y -2 desvíos estándar de los grupos litoral, sublitoral y basureros.



Discusión

Variación morfológica

Los resultados obtenidos de morfometría tradicional y EFA de la vista lateral de las valvas apoyan la existencia de diferencias morfológicas entre los individuos de la lapa *N. concinna* del litoral y del sublitoral marino. Esto coincide con lo ya observado en trabajos anteriores llevados a cabo en diferentes islas o bahías de Antártida, como por ejemplo Isla Signy en Islas Orcadas del Sur (Nolan 1991); Caleta Potter, Bahía Paraíso, Isla Renaud (de Aranzamendi et al. 2010); Bahía Almirantazgo y Bahía Fildes (González-Wevar et al. 2011). Esta diferencia radica principalmente en el ALM de las valvas, los individuos del grupo litoral presentan una mayor altura en comparación con los del sublitoral. La relación entre el LM y el AnM de los individuos presenta una gran similitud entre los grupos, pudiendo observarse una marcada superposición entre las líneas de tendencia de cada uno. Al pertenecer estas dos variables al contorno de la vista dorsal de los individuos, se entiende por qué el EFA dorsal encuentra diferencia a un nivel de significación muy bajo entre el grupo litoral y sublitoral. Esto se ve reflejado en el *plot* del ACP, donde a una escala más chica que en la vista lateral, las elipses de ambos grupos se encuentran prácticamente superpuestas, ubicándose la mayoría de los individuos en zona de confluencia. Por su parte, también se encuentra una marcada superposición entre las curvas del litoral y el sublitoral en los gráficos de densidad del CP 1 y del CP 2 y el análisis K-S no encontró diferencias entre ellos en ambos casos. De esta manera, comprobamos que el EFA de la vista dorsal no aporta demasiada información de utilidad para distinguir entre los grupos del litoral y el sublitoral.

En este trabajo se tomó el peso de la valva como una medida indirecta del espesor, pero al tener principalmente los individuos del sublitoral un alto porcentaje de epibiosis, se decidió no incluirlo en los análisis. Sin embargo, en un futuro sería interesante eliminar mediante algún proceso mecánico estos epibiontes para poder incorporar esta variable tan importante en los análisis de morfometría tradicional. En trabajos previos se observó que las valvas del morfotipo L son más pesadas que las del SL (Hoffman et al. 2010), lo que podría ayudar a identificar la procedencia de las lapas depredadas encontradas de los basureros.

Los ACP tanto el de morfometría tradicional como el del EFA lateral, no mostraron en sus *plots* individuos colectados en el litoral dentro de la porción exclusiva de la elipse del 95 % correspondiente al morfotipo SL. Además, el análisis discriminante realizado con los datos de morfometría tradicional reubicó solo un 2,65 % de las lapas colectadas en el litoral en el grupo SL. Mientras que para el EFA lateral, no encontró lapas del litoral que pudiera reubicarlas con el grupo del SL. Estos resultados nos indican que, de existir en la zona del litoral individuos con las características del morfotipo SL, su cantidad en comparación con los del morfotipo L es sumamente baja.

En la zona de confluencia entre las elipses de ambos grupos en el gráfico del ACP, se encontró del total de lapas colectadas en el litoral, un 48,67 % según morfometría tradicional y un 10,69 % según EFA lateral. Mientras que, de los individuos colectados en el sublitoral, un 23,53 % y un 16,3 % según cada técnica se ubicaron en esta zona. Estos resultados podrían estar mostrando la existencia de un continuo en la variación de la forma en esta lapa. Este planteo es apoyado por Hoffman y colaboradores (2010), donde se argumenta que no existirían dos morfotipos en la



especie, sino una clina continua de cambio morfológico desde el litoral hasta los 25 m de profundidad. Sin embargo, otros autores como de Aranzamendi y colaboradores (2010) defienden la separación de los dos morfotipos avalada por una diferenciación genética baja, pero significativa entre éstos (de Aranzamendi et al. 2008). Esto se basa en que, si existiera una clina de cambio morfológico en esta lapa, las “formas intermedias” como las que se encuentran en la zona de confluencia en estos ACP, deberían aparecer en profundidades “intermedias” y no en litoral y sublitoral 15 m. Entonces, si la forma de los individuos es resultante de adaptación al ambiente por plasticidad fenotípica, pero con un componente genético (es decir, con dos grupos morfológicos separados espacialmente en el momento de la reproducción y con un flujo génico medio a bajo entre sí) podría existir una heredabilidad de la forma menor a uno (como se planteó por de Aranzamendi et al. 2008 para el del comportamiento de migratorio), lo que generaría una variación de la forma dentro de un rango, algo que de por sí es muy común entre moluscos, en general, y lapas en particular (de Aranzamendi et al. 2009, 2014). En cuanto a los porcentajes superiores de individuos ubicados en la zona de confluencia de ambos grupos obtenidos con el ACP de morfometría tradicional en comparación al EFA lateral, estos podrían estar influenciados por el menor poder estadístico que presenta la primera técnica; además, de no tener en cuenta el contorno de la valva como si lo hace el EFA lo que, inevitablemente, resta precisión a los resultados.

Por su lado, las lapas provenientes de basureros mostraron porcentajes similares a los obtenidos para las proporciones de los morfotipos en el litoral. El ACP ubicó exclusivamente dentro de la elipse del sublitoral, aunque muy próximos a la zona de confluencia, solamente a un 3,27 % del total en morfometría tradicional y un 2,51 % del total de los individuos según el EFA. Dentro de la zona de confluencia, donde encontraríamos individuos de características intermedias, se ubicaron el 43,79 % y el 24,53 % respectivamente según cada técnica. En cuanto al análisis discriminante, un 8,5 % de lapas de basureros fueron clasificadas como pertenecientes al grupo sublitoral para morfometría tradicional, mientras que solo un 2,52 % para el EFA lateral. Estos bajos porcentajes de lapas depredadas pertenecientes al morfotipo SL, podrían deberse al bajo porcentaje de este morfo en la zona del litoral o a individuos que se encuentran en la zona del sublitoral somero, pero que son capturados por la gaviota cocinera durante las mareas bajas diarias o extraordinarias. Al igual que anteriormente, los mayores porcentajes de individuos clasificados como propios del morfotipo SL y en zona de confluencia obtenidos en morfometría tradicional, en comparación con el EFA lateral, podrían explicarse por el menor poder estadístico y la no evaluación de todo el contorno lateral de la valva, donde se expone marcadamente la diferencia entre los morfotipos.

Con respecto a los basureros individuales, en el *plot* de valores medios de CP 1 vs. CP 2 del EFA lateral, se observa a los puntos de los basureros ubicados entre los puntos de ambas áreas del litoral (P0 y P1). En contraposición, los puntos medios de ambos sitios del sublitoral (PP y A1) se encuentran alejados tanto de los sitios del litoral como de los basureros. A pesar de esto, despierta particular atención el alto porcentaje de valvas del basurero O que en los distintos análisis se clasifican como propias del grupo sublitoral. En los análisis de morfometría tradicional, el ACP ubicó un 60 % de las valvas de este basurero en zona exclusiva del sublitoral o de confluencia. En el caso del análisis discriminante, teniendo en cuenta todos los basureros, solo clasificó valvas propias del basurero O como pertenecientes al grupo sublitoral, las que representan un 20 % del total de sus individuos. Por su parte el EFA lateral mostró resultados similares, los cuatro individuos ubicados por el ACP en zona del sublitoral pertenecen al basurero O, representando un 18,18 % del total de sus individuos, a lo que sumándole los ejemplares ubicados en la zona de confluencia se obtiene un 59,09 % del basurero. De igual manera, todos los individuos clasificados como pertenecientes al grupo sublitoral por el análisis discriminante son propios del basurero O. Si bien no se conoce la



distancia que las gaviotas recorren transportando las lapas desde donde son apresadas hasta el basurero, se sabe de la presencia de *N. concinna* en el litoral rocoso de isla O (Oscar González, comunicación personal). Una posible explicación a esta diferencia entre el basurero O y el resto es que el primero no constituía un gran basurero. Es decir, se tomaron muestras de valvas amontonadas y superpuestas, pero no constituía un cúmulo de metros de diámetro como sí ocurrió con el resto. Quizás, algunas de estas valvas podrían haber sido arrastradas por el viento o la marea y no depredadas por gaviotas.

A modo de apreciación sobre ambas técnicas empleadas para el estudio del cambio de forma entre los morfotipos, las dos mostraron resultados similares, pero con diferente precisión. Como ya se dijo anteriormente, la relación entre el LM y el AnM presenta una gran similitud entre los grupos, por lo que la principal diferencia radica en el AIM de los individuos. El plano en dos dimensiones del EFA lateral, está definido por el AIM y el LM, medidas tomadas en cuenta por la morfometría tradicional, a lo que además se agrega los puntos intermedios que forman el contorno. Como ejemplo de esto, se puede observar en las formas consenso del EFA lateral, que las lapas del sublitoral poseen una forma triangular, mientras que las del litoral poseen bordes más redondeados. Esta diferencia entre ambos grupos pasa inadvertida cuando se toman solo las medidas lineales. Considerando lo anteriormente expuesto, se observa como una generalidad en el EFA lateral una menor proporción de individuos propios del morfotipo SL en el litoral y en los basureros de alimentación de gaviota, en comparación con morfometría tradicional. Es por esta razón, que el EFA lateral se presenta como la metodología más completa para diferenciar entre morfotipos, aunque la morfometría tradicional también se muestra de manera confiable.

¿Existe una presión de depredación diferencial?

La capacidad del vuelo, ha conllevado a que la vista sea en las aves el sentido de mayor preponderancia (Perrins 2006). Al igual que los seres humanos, poseen una visión cromática que les permite distinguir con precisión los distintos colores que se presentan en el mundo natural. Por otro lado, se ha observado dentro de algunos grupos como por ejemplo la familia Laridae, la capacidad de detectar la luz ultravioleta, lo que amplía aún más sus posibilidades visuales (Ödeen y Håstad 2003). Teniendo en cuenta esto, el sentido de la vista juega un papel clave en la obtención del alimento. Distintos estudios revelan la existencia de presión de depredación diferencial de las aves sobre algún carácter visualmente distinguible en lapas u otros moluscos, como por ejemplo el color (Giesel 1970; Branch 1985), el tamaño (Silva et al. 1999; Fortes y Denis 2013) o la forma (Hockey y Branch 1983). En el caso particular de *L. dominicanus* sobre *N. concinna*, la depredación selectiva sobre la forma aperada de la lapa fue propuesta por Nolan (1991) como una de las posibles fuerzas que contribuyen con la diferenciación de ambos morfotipos. Esta observación se centra en la diferencia encontrada entre las valvas del litoral, las cuales denotaban una forma más elíptica y las de los basureros, más aperadas, al igual que las del sublitoral. Más adelante, Hoffman y colaboradores (2010) encuentran estas mismas sutiles diferencias en el contorno de la vista dorsal de individuos del litoral y sublitoral. En nuestro estudio, el PERMANOVA sobre el EFA de vista dorsal muestra diferencias a un bajo nivel de significación estadística entre los grupos del litoral y el sublitoral. Al observar las formas consenso, resulta muy difícil poder encontrar y caracterizar estas diferencias entre ambos grupos, mientras que los *test* K-S tanto del CP 1 como del CP 2 no diferenciaron el litoral del sublitoral. Sin embargo, con respecto a los basureros si es posible distinguir formas más aperadas. Si se examinan las formas consenso, el CP 1 parece estar



explicando en mayor medida el ancho general de las valvas (donde existen diferencias entre los basureros y el litoral según el *test* K-S, aunque sus curvas se muestran muy superpuestas en el gráfico de densidad), mientras que el CP 2 denota un continuo entre una forma aperada a una elíptica. En este sentido, los basureros se encuentran en los distintos análisis desplazados sobre el CP 2 hacia esta forma aperada, separándose del litoral y sublitoral, los cuales no se diferencian entre ellos. Esto queda muy expuesto en el gráfico de valores promedios de la vista dorsal, donde todos los basureros individuales se encuentran sobre la sección negativa del eje del CP 2; la cual corresponde a una forma aperada, mientras que los sitios del litoral y sublitoral sobre la sección positiva, denotando una forma más elíptica. De igual manera, puede observarse un patrón similar en el gráfico de densidad del CP 2, en el cual se marca una separación significativa entre basureros con litoral y sublitoral. Aunque el CP 2, representa solamente el 7,2 % de la variabilidad, esto podría estar hablando de una preferencia hacia esa forma por parte de *L. dominicanus* como se había propuesto por Nolan (1991). Trabajos previos encuentran que poblaciones libres de la exposición a depredadores selectivos en cuanto a algún carácter morfológico de la presa, presentan diferencias con respecto a las que no lo están. Particularmente, Hockey y Branch (1983) encontraron en la lapa *Scutellastra granularis*, individuos con morfología más aperada en una población libre de la influencia de ostreros, que en otra donde estas aves están presentes. De manera similar, Langerhans y colaboradores (2004) observaron en peces diferencias en cuanto a la morfología de los individuos en zonas libres y expuestas a depredadores. En este sentido, si las lapas del litoral y las del sublitoral conformaran dos poblaciones aisladas sin flujo génico, se podría esperar que existieran diferencias entre ellas, sin embargo, esto no se observa en nuestros resultados. El hecho de que solamente el 10 % al 14 % de la mortalidad anual de las lapas sea causado por la depredación de *L. dominicanus* (Favero et al. 1997), sumado a la posibilidad de existencia de un bajo flujo génico entre los individuos del litoral y sublitoral como proponen de Aranzamendi y colaboradores (2008), podrían explicar las razones por las cuales en nuestro trabajo no se observaron diferencias entre el litoral y el sublitoral en cuanto a una forma más o menos aperada; aunque otros autores si encontraron estas diferencias (Nolan 1991; Hoffman et al. 2010).

Con respecto a la vista lateral de los individuos, donde se plasman marcadamente las diferencias ya conocidas entre los morfotipos, los basureros muestran una clara similitud con las valvas del litoral. Si se analizan las formas consenso del EFA lateral, puede apreciarse una contextura alta y globosa entre los individuos depredados por las gaviotas, lo cual es característico del morfotipo L, mientras que las propias del SL poseen una forma triangular y achatada. De esta misma manera, los gráficos de densidad tanto de morfometría tradicional (que considera el alto de los individuos), como del EFA lateral, muestran una marcada superposición entre las curvas del litoral y de los basureros, incluso en la ubicación de sus picos máximos, lo que estaría hablando de distribuciones muy similares entre ellas y diferenciándose del sublitoral. Pese a que existen casos de individuos de los basureros clasificados por alguna de las técnicas como propios del morfotipo SL (principalmente en isla O), los porcentajes generales son sumamente bajos y algunos de esos individuos presentan su ápice con cierto grado de desgaste, lo cual podría distorsionar levemente el resultado obtenido para el individuo.

Según lo obtenido en nuestros resultados, con respecto a lo indicado por Nolan (1991) acerca de la preferencia de las gaviotas sobre el contorno periforme en las lapas, encontramos la misma tendencia. Las gaviotas efectivamente estarían generando una presión de selección sobre individuos con forma aperada. La posibilidad de distinguir anterior de posterior para atacar por detrás a la presa y así obtener mayor éxito en los ataques (Hockey y Branch 1983), o el hecho de que una forma irregular ofrece sectores más vulnerables con menor superficie de músculo para



aferrarse al sustrato, podrían ser algunas de las razones que expliquen esta preferencia. Por otro lado, como se dijo anteriormente, tanto la morfometría tradicional como el EFA lateral confirman que los individuos depredados corresponden principalmente al morfotipo L, sin diferenciarse marcadamente de lo disponible en el litoral, por lo cual, se corrobora que la presión selectiva sobre la forma aperada se ejerce sobre este morfotipo. Sin embargo, no encontramos diferencias en esta característica entre los dos morfotipos, más bien existe un continuo en la variación morfológica de los individuos sin distinción del morfotipo. Este hecho nos lleva a proponer la conclusión de que la presión generada por las gaviotas sobre la forma de las lapas no es lo suficientemente fuerte para inducir cambios que diferencien los grupos, ya que si la forma aperada estuviera determinada genéticamente, se debería producir un cambio en las frecuencias alélicas de las lapas del litoral, que determinaría individuos de un fenotipo más elíptico. Por lo que parece indicar un origen plástico de la forma aperada. De esta manera, descartamos a este factor como una de las posibles causas biológicas de la diferenciación de los dos morfotipos en esta lapa. Resulta imprescindible para seguir avanzando en el conocimiento sobre la variación morfológica de esta especie, continuar con los estudios genético poblacionales, así como de los distintos factores ambientales propuestos, como por ejemplo el impacto del hielo, el cual actúa tanto sobre el litoral como sobre todo el rango de profundidad del sublitoral y ya ha sido indicado como un agente clave en otros aspectos de la biología de *N. concinna* como su dominancia ecológica en términos de abundancia (Poulin et al. 2002) o incluso en la diferencia de grosor y altura de los morfotipos (Morley et al. 2010).

A modo de consideración final, la realización de esta Tesina de grado nos deja como proyección a futuro seguir indagando acerca de la diferenciación morfológica en *N. concinna*. Realizar estudios complementarios en otras localidades con mayor presión de depredación de *L. dominicanus*, así como en sitios donde no se registre su presencia, podrían aportar información de utilidad para enriquecer esta discusión. Por otro lado, la presencia de distintos organismos epibiontes como algas, poliquetos y briozoos en las valvas podría aportar información sobre la historia de vida de los individuos. Esto resultaría útil tanto para enriquecer la discusión sobre el papel de la depredación de *L. dominicanus*, así como para aportar al esclarecimiento de interrogantes como el patrón migratorio en la lapa.



Bibliografía

- Abele D, Burlando B, Viarengo A, Pörtner HO (1998) Exposure to elevated temperatures and hydrogen peroxide elicits oxidative stress and antioxidant response in the Antarctic intertidal limpet *Nacella concinna*. *Comp Biochem Physiol - B Biochem Mol Biol* 120:425–435. doi: 10.1016/S0305-0491(98)10028-7
- Barbieri E (2008) Diversidade da dieta e do comportamento do Gaivotão Antártico (*Larus dominicanus*) na Península Keller, Ilha Rei George, Shetland do Sul. *O Mundo da Saúde* 32:302–307
- Beaumont AR, Wei JHC (1991) Morphological and genetic variation in the antarctic limpet *Nacella concinna* (strebel, 1908). *J Molluscan Stud* 57:443–450. doi: 10.1093/mollus/57.4.443
- Bertellotti M, Yorio P (1999) Spatial and temporal patterns in the diet of the Kelp Gull in Patagonia. *Condor* 101:790–798. doi: 10.2307/1370066
- Branch GM (1985) The impact of predation by Kelp Gulls *Larus dominicanus* on the sub-Antarctic limpet *Nacella delesserti*. *Polar Biol* 4:171–177. doi: 10.1007/BF00263880
- Brêthes, J. C.; Ferreyra, G.; De La Vega S (1994) Distribution, growth and reproduction of the limpet *Nacella (Patinigera) concinna* (Strebel 1908) in relation to potential food availability, in Esperanza Bay (Antarctic Peninsula). *Polar Biol* 14:161–170
- Chwedorzewaska KJ, Korczak M, Bednarek PT, Markowska-Potocka M (2010) Low genetic differentiation between two morphotypes of the gastropod *Nacella concinna* from Admiralty Bay, Antarctica. *Polish Polar Res* 31:195–200. doi: 10.4202/ppres.2010.11
- Clark MS, Peck LS (2009) Triggers of the HSP70 stress response: Environmental responses and laboratory manipulation in an Antarctic marine invertebrate (*Nacella concinna*). *Cell Stress Chaperones* 14:649–660. doi: 10.1007/s12192-009-0117-x
- Crampton JS (1995) Elliptic Fourier shape analysis of fossil bivalves: some practical considerations. *Lethaia* 28:179–186. doi: 10.1111/j.1502-3931.1995.tb01611.x
- de Aranzamendi MC, Bastida R, Gardenal CN (2014) Genetic population structure in *Nacella magellanica*: Evidence of rapid range expansion throughout the entire species distribution on the Atlantic coast. *J Exp Mar Bio Ecol* 460:53–61. doi: 10.1016/j.jembe.2014.06.008
- de Aranzamendi MC, Gardenal CN, Martin JP, Bastida R (2009) Limpets of the genus *Nacella* (Patellogastropoda) from the southwestern Atlantic: Species identification based on molecular data. *J Molluscan Stud* 75:241–251. doi: 10.1093/mollus/eyp025
- de Aranzamendi MC, Martínez JJ, Sahade R (2010) Shape differentiation and characterization in the two morphotypes of the Antarctic limpet *Nacella concinna* using Elliptic Fourier analysis of shells. *Polar Biol* 33:1163–1170. doi: 10.1007/s00300-010-0803-2
- de Aranzamendi MC, Sahade R, Tatián M, Chiappero MB (2008) Genetic differentiation between morphotypes in the Antarctic limpet *Nacella concinna* as revealed by inter-simple sequence repeat markers. *Mar Biol* 154:875–885. doi: 10.1007/s00227-008-0980-5
- Favero, M.; Silva, P.; Ferreyra G (1997) Trophic relationships between the kelp gull and the Antarctic limpet at King George Island (South Shetland Islands, Antarctica) during the breeding season. *Polar Biol* 431–436
- Favero M, Silva MP (1997) How important are pelagic preys for the kelp gull during chick-rearing at the South Shetland Islands? *Polar Biol* 19:32–36. doi: 10.1007/s003000050213
- Fortes H, Denis D (2013) Tamaños de los moluscos consumidos por el Gavilán Caracolero



(*Rhostramus sociabilis*) en el Gran Humedal del Norte de Ciego de Ávila, Cuba. *J Carib Ornithol* 26:8–11

- Giesel JT (1970) On the Maintenance of a Shell Pattern and Behavior Polymorphism in *Acmaea digitalis*, a Limpet. *Evolution* (N Y) 24:98. doi: 10.2307/2406717
- González-Wevar CA, David B, Poulin E (2011) Phylogeography and demographic inference in *Nacella (Patinigera) concinna* (Strebel, 1908) in the western Antarctic Peninsula. *Deep Res Part II Top Stud Oceanogr* 58:220–229. doi: 10.1016/j.dsr2.2010.05.026
- Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD (2001) PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontol Electron* 4(1):1–9. doi: 10.1016/j.bcp.2008.05.025
- Hockey PAR, Branch GM (1983) Do oystercatchers influence limpet shell shape? *Veliger* 26:139–141
- Hoffman JI, Peck LS, Hillyard G, et al (2010) No evidence for genetic differentiation between Antarctic limpet *Nacella concinna* morphotypes. *Mar Biol* 157:765–778. doi: 10.1007/s00227-009-1360-5
- Iwata, H; Ukai Y (2002) SHAPE: A Computer Program Package for Quantitative Evaluation of Biological Shapes Based on Elliptic Fourier Descriptors. *J Hered* 93:384–385. doi: 10.1093/jhered/93.5.384
- Kuhl FP, Giardina CR (1982) Elliptic Fourier features of a closed contour. *Comput Graph Image Process* 18:236–258. doi: 10.1016/0146-664X(82)90034-X
- Langerhans RB, Layman CA, Shokrollahi AM, Dewitt TJ (2004) Predator-driven phenotypic diversification in *Gambusia affinis*. *Evolution* (N Y) 58:2305–2318
- Lee WY, Kim H-C, Han Y-D, et al (2017) Breeding records of kelp gulls in areas newly exposed by glacier retreat on King George Island, Antarctica. *J Ethol* 35:131–135. doi: 10.1007/s10164-016-0500-x
- Markowska M, Kidawa A (2007) Encounters between Antarctic limpets, *Nacella concinna*, and predatory sea stars, *Lysasterias* sp., in laboratory and field experiments. *Mar Biol* 151:1959–1966. doi: 10.1007/s00227-007-0633-0
- Morley SA, Clark MS, Peck LS (2010) Depth gradients in shell morphology correlate with thermal limits for activity and ice disturbance in Antarctic limpets. *J Exp Mar Bio Ecol* 390:1–5. doi: 10.1016/j.jembe.2010.04.040
- Nolan CP (1991) Size, Shape and Shell Morphology in the Antarctic Limpet *Nacella concinna* at Signy Island, South Orkney Islands. *J Molluscan Stud* 57:225–238. doi: 10.1093/mollus/57.2.225
- Ödeen A, Håstad O (2003) Complex distribution of avian color vision systems revealed by sequencing the SWS1 opsin from total DNA. *Mol Biol Evol* 20:855–861. doi: 10.1093/molbev/msg108
- Peck LS, Heiser S, Clark MS (2016) Very slow embryonic and larval development in the Antarctic limpet *Nacella polaris*. *Polar Biol* 39:2273–2280. doi: 10.1007/s00300-016-1894-1
- Perrins CM (2006) La gran enciclopedia de las aves. LIBSA
- Picken GB (1980) The distribution, growth, and reproduction of the Antarctic limpet *Nacella (Patinigera) concinna* (Strebel, 1908). *J Exp Mar Bio Ecol* 42:71–85. doi: 10.1016/0022-0981(80)90167-7
- Poulin E, Palma AT, Féral JP (2002) Evolutionary versus ecological success in Antarctic benthic invertebrates. *Trends Ecol. Evol.* 17:218–222



- Quartino ML, Deregibus D, Campana GL, et al (2013) Evidence of Macroalgal Colonization on Newly Ice-Free Areas following Glacial Retreat in Potter Cove (South Shetland Islands), Antarctica. PLoS One. doi: 10.1371/journal.pone.0058223
- Rohlf FJ, Archie JW (1984) A Comparison of Fourier Methods for the Description of Wing Shape in Mosquitoes (Diptera: Culicidae). Syst Zool 33:302. doi: 10.2307/2413076
- Ruppert E, Barnes R (1996) Zoología de los Invertebrados, 6ª edición. McGraw-Hill
- Sahade R, Lager C, Torre L, et al (2015) Climate change and glacier retreat drive shifts in an Antarctic benthic ecosystem. Sci Adv 1:e1500050–e1500050. doi: 10.1126/sciadv.1500050
- Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW (2012) NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. Nat Methods 9:671–675. doi: 10.1038/nmeth.2089
- Shabica SV (1976) The natural history of the Antarctic limpet *Patinigera polaris* (Hombron & Jacquinot)
- Silva-Costa A, Bugoni L (2013) Feeding ecology of Kelp Gulls (*Larus dominicanus*) in marine and limnetic environments. Aquat Ecol 47:211–224. doi: 10.1007/s10452-013-9436-1
- Silva MP, Bastida R, Darrieu C (2000) Dieta de la gaviota cocinera (*Larus dominicanus*) en zonas costeras de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Ornitol Neotrop 11:331–339
- Silva MP, Favero M, Martínez MM (1999) Prey size selectivity by kelp gulls on Antarctic limpets at King George Island, Antarctica. Polar Biol 21:397–400
- Walker AJM (1972) Introduction to the ecology of the Antarctic limpet *Patinigera polaris* (Hombron and Jacquinot) at Signy Island, South Orkney Islands. Br. Antarct. Surv. Bull. 28:49–71
- Weihe E, Abele D (2008) Differences in the physiological response of inter- and subtidal Antarctic limpets *Nacella concinna* to aerial exposure. Aquat Biol 4:155–166. doi: 10.3354/ab00103
- Weihe E, Kriews M, Abele D (2010) Differences in heavy metal concentrations and in the response of the antioxidant system to hypoxia and air exposure in the Antarctic limpet *Nacella concinna*. Mar Environ Res 69:127–135. doi: 10.1016/j.marenvres.2009.09.003
- Yezerinac SM, Loughheed SC, Handford P (1992) Measurement Error and Morphometric Studies: Statistical Power and Observer Experience. Syst Biol 41:471. doi: 10.2307/2992588
- Zelditch M, Fink W, Swiderski D, Lundrigan B (1998) On applications of geometric morphometrics to studies of ontogeny and phylogeny: a reply to Rohlf. Syst Biol. doi: 10.1080/106351598261094