

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas



Tesis para la obtención del título de Doctora en Ciencias Biológicas

“Ajustes biológicos de crustáceos de la familia Aeglidae (Decapoda, Anomura) en distintos ambientes de la Argentina”

Lic. Valeria Paola Diawol

Director de Tesis: Federico Giri

Co-director de Tesis: Pablo Collins

Lugar de realización: Laboratorio de Macrocrustáceos-Instituto

Nacional de Limnología (CONICET-UNL)

-2018-

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral, sede del Doctorado en Ciencias Biológicas

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por la beca otorgada, la cual me ha permitido realizar el doctorado

Al Instituto Nacional de Limnología

A Pablo y Fede directores de esta tesis, por haberme dado la oportunidad, por confiar en mí, por acompañarme nuevamente, por su paciencia, por enseñarme y guiarme durante todo el proceso, por las charlas, los consejos y por su cariño

A Leandro, Eloisa y Georgina por ser guías, profes, compañeros y por su cálida compañía y amistad

A Gabi, por recorrer juntas el doctorado, por las campañas, los días de ensayos y procesado, los cursos, por las incertidumbres y certezas acerca de nuestro doctorado, por su compañía y amistad

A Viky, Debo, Flor, Gabi, Vero, Fede, Leo, Geo, Juan y Nati, por los debates laborales, las charlas, los consejos, los mates, los almuerzos, los cursos, los congresos, las campañas, la compañía, la ayuda, por estar siempre dispuestos a dar una mano, por compartir la alegría de cada logro y también por estar en los momentos difíciles, por ser más que compañeros.....

A becarios, investigadores y personal de apoyo del Instituto Nacional de Limnología

A Néstor por sus largas charlas telefónicas y por compartir su historia

A las amigas de la facultad y amigas de la secundaria por las peñas, las tardes de mates y por su amistad

A mi familia, por estar siempre a mi lado, por acompañarme, ayudarme y ser parte de cada etapa de mi vida

A Leandro, por ser mi compañero de vida, por apoyarme y ser parte de cada nuevo proyecto

A Ámbar, por llegar a nuestras vidas, a mi vida, por acompañarme desde un principio y por formar parte de esta etapa

A Kuma y Juanito por su compañía incondicional

A todas las personas que me acompañaron en esta etapa de aprendizaje y formación, que invirtieron su tiempo y conocimientos para ayudarme

PUBLICACIONES

VP Diawol, F Giri, PA Collins (2015) Shape and size variations of *Aegla uruguayana* (Anomura, Aeglidae) under laboratory conditions: A geometric morphometric approach to the growth. *Iheringia, Série Zoologia* 105 (1):76-83.

VP Diawol, MV Torres, PA Collins (2016) Field evaluation of oxygen consumption by two freshwater decapod morphotypes (Trichodactylidae and Aeglidae); the effect of different times of the day, body weight and sex. *Mar Freshwater Behav Physiol* 49 (4):251-263.

GE Musin, A Rossi, VP Diawol, PA. Collins, V Williner (2017) Dynamic metabolic pattern of *Aegla uruguayana* (Schmitt, 1942) (Decapoda: Anomura: Aeglidae): responses to seasonality and ontogeny in a temperate freshwater environment. *J Crust Biol* 37 (4):436-444.

INDICE

<u>AGRADECIMIENTOS</u>	1
<u>PUBLICACIONES</u>	3
<u>ÍNDICE</u>	4
<u>ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS</u>	9
<u>RESUMEN</u>	10
<u>ABSTRACT</u>	13
<u>INTRODUCCIÓN</u>	16
Crustáceos decápodos	17
Colonización del agua dulce y adaptaciones	18
Decápodos dulceacuícolas de América del Sur	20
Características de <i>Aegla</i>	20
Origen del grupo	22
Área de distribución	23
Posición trófica	24
Estado de conservación	24
Aspectos reproductivos, metabólicos, de crecimiento y biología poblacional	24
Aéglidos en ambientes argentinos	26
Estructura de la presente investigación	27
<u>OBJETIVOS</u>	28
<u>HIPOTESIS</u>	28

<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	29
Áreas de estudio	30
Experiencias de campo	33
Trabajo en laboratorio	37
<u>CAPÍTULO 1</u>	40
INTRODUCCIÓN	41
MATERIALES Y MÉTODOS	43
Área de estudio y origen de los datos	43
Muestras	47
Proporción de sexos y proporción de estadios ontogenéticos	47
Densidad poblacional, patrón espacial y medida de agregación	48
Período reproductivo	48
Fecundidad y esfuerzo reproductivo	48
Desarrollo gonadal	51
Senescencia	58
Remaduración ovárica	58
Análisis de los datos	58
RESULTADOS	60
Muestras	61
Proporción de estadios ontogenéticos y proporción de sexos	64
Densidad poblacional	68
Patrón espacial	70

Medida de agregación	70
Período reproductivo	71
Fecundidad y esfuerzo reproductivo	74
Desarrollo gonadal	75
Senescencia	87
Remaduración ovárica	88
DISCUSIÓN	91
<u>CAPÍTULO 2</u>	109
INTRODUCCIÓN	110
MATERIALES Y MÉTODOS	113
Área de estudio y captura de organismos	113
Mantenimiento en laboratorio	115
Evaluación de la variación de forma y tamaño durante la ontogenia	115
Obtención de imágenes digitales	115
Selección de <i>landmarks</i>	117
Estudio del error de fotografiado y de colocación de <i>landmarks</i>	119
Análisis de la forma del cefalotórax	120
Evaluación de variación de talla	121
Evaluación del tiempo de intermuda	121
Análisis de los datos	121
RESULTADOS	122

Medida de error: relación entre las imágenes de las fotografías y la localización de los <i>landmarks</i>	122
Variación de forma y talla a lo largo de la ontogenia	122
Tasa de crecimiento en relación con la talla y el sexo	126
Período de intermuda	127
DISCUSIÓN	128
<u>CAPÍTULO 3</u>	134
INTRODUCCIÓN	135
MATERIALES Y MÉTODOS	138
Área de estudio	139
<i>Estudio estacional</i>	139
<i>Estudio diario</i>	139
Parámetros abióticos	140
<i>Estudio estacional</i>	140
<i>Estudio diario</i>	140
Captura de organismos	140
Diseño experimental	141
<i>Estudio Estacional</i>	141
<i>Ensayos en el ambiente</i>	141
<i>Ensayos en el laboratorio</i>	141
Análisis de los datos	143
<i>Estudio diario</i>	145

<i>Ensayos en el ambiente</i>	145
Análisis de los datos	146
RESULTADOS	147
<i>Estudio estacional</i>	146
Parametros abióticos	146
Peso y tamaño corporal entre sitios	147
Consumo de oxígeno entre sitios	149
Tasa metabólica estándar en relación a los parámetros abióticos	150
Normas de Reacción	151
Tasa metabólica estándar en condiciones comunes de laboratorio	156
<i>Estudio Diario</i>	157
Descripción de la tasa metabólica estándar entre sexos y momento de muestreo dentro y entre especies	158
Tasa metabólica estándar en relación al peso	159
Tasa metabólica estándar en relación al peso de los animales	161
DISCUSIÓN	162
<u>CONCLUSIÓN</u>	169
<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	175

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

INALI: Instituto Nacional de Limnología

A°: arroyo

pH: concentración de iones de hidrógeno presentes en determinadas disoluciones

m²: metro cuadrado

°C: grados centígrados

LC: largo de cefalotórax

AC: ancho de cefalotórax

msnm: metros sobre el nivel del mar

mm: milímetros

FRR: fecundidad realizada relativa

RO: esfuerzo reproductivo

VH: volumen de los huevos

EI: huevos tempranos

EII: huevos intermedios

EIII: huevos finales

%: porcentaje

IG: índices gonadosomático

IHP: índice hepatosomático

H₁: hembras con huevos tempranos

H₂: hembras con huevos intermedios

H₃: hembras inmediatamente finalizada la eclosión de los huevos

H₄: hembras un mes luego de la eclosión de los huevos

ANOVA: Análisis de la Varianza

ER: Entre Ríos

SF: Santa Fe

CD: Córdoba

ppm: partes por millón

µc: micrómetros sobre centímetros

SD: desvío estándar

*: diferencias estadísticamente significativas

ind/m²: número de individuos por metros cuadrado

huevos/mm: número de huevos por milímetro

mm³: milímetros cúbicos

MG: Morfometría Geométrica

LM: *landmarks*

DR: Deformaciones Relativas

PCA: Análisis de Componentes Principales

DS: dimorfismo sexual

PHT: peso húmedo total

MLG: modelo lineal generalizado

TME: tasa metabólica estándar

NR: Normas de Reacción

RESUMEN

Los crustáceos son un grupo diverso que se encuentra en una amplia gama de hábitats. Diferentes condiciones y sitios (por ejemplo, altitud y latitud) influyen en la variabilidad de los factores abióticos a través de los entornos, así como los patrones de variación a lo largo del día y las estaciones. La presencia de crustáceos en tan diversos ambientes sugiere el desarrollo de diferentes estrategias de vida, las cuales les habrían permitido su expansión y colonización. Algunas de estas modificaciones se encuentran relacionadas con aspectos reproductivos, metabólicos, de crecimiento y de biología poblacional. Para ello, los organismos debieron sincronizar sus ciclos a las condiciones del ambiente a través de ajustes biológicos y ecofisiológicos.

En varios estudios se ha observado que, en Argentina, los cursos de agua dulce presentan condiciones abióticas muy diferentes entre sí, proponiéndose la existencia de estrategias diferenciales a nivel individual y poblacional de las especies de crustáceos presentes. En nuestro país, representantes del grupo taxonómico *Aegla* han sido registrados en una gran variedad de ambientes, muchos de los cuales constituyen hábitats dinámicos y cambiantes (temporal y espacialmente) en lo que respecta a sus características abióticas. Lo cual permite reconocer que algunas de las especies de la familia Aeglidae se habrían adaptado a los diferentes factores abióticos desarrollando posiblemente ajustes biológicos y ecofisiológicos de acuerdo con las presiones selectivas que estos ambientes dulceacuícolas les imponen. Esto deja al descubierto muchas preguntas sobre cómo estos cangrejos pueden vivir y desarrollarse en los diversos ambientes que habitan.

El objetivo de la presente Tesis Doctoral fue estudiar ajustes biológicos y ecofisiológicos de los aeglidos que les permiten vivir y desarrollarse en ambientes con diferentes características abióticas. Para tal fin, el manuscrito se organiza en dos áreas temáticas. Por un lado, se analizan aspectos referidos a la ecología y biología poblacional, mientras que por otro lado se abordan aspectos fisiológicos. A su vez, el contenido de estas temáticas se organiza en tres capítulos, a lo largo de los cuales se estudian ajustes biológicos y ecofisiológicos de los aeglidos a través de ensayos y observaciones realizadas en el ambiente y laboratorio, abordando diferentes escalas temporales (ciclo anual, estacional, mensual y diario) y espaciales (local y regional).

En la Introducción se presenta el marco conceptual, objetivos e hipótesis de partida, así como una revisión de antecedentes del grupo taxonómico sobre el cual se enfoca la

presente Tesis Doctoral. En Materiales y Métodos se incluye metodología en común. Luego, se desarrollan los tres capítulos. En el primero se describen y comparan ajustes biológicos y ecofisiológicos de tres poblaciones naturales de *A. uruguayana* a lo largo de un gradiente espacial y temporal (Capítulo 1). Para esto, se realizaron muestreos estacionales (otoño, invierno, primavera y verano) en los arroyos “El Espinillo” en Entre Ríos y “Del Chupino” en Santa Fe; y en el río III “Embalse”-2da Usina en Córdoba. En términos generales, la estructura poblacional de los organismos pertenecientes a Entre Ríos, Santa Fe y Córdoba coincidieron con el patrón conocido para los aéglicos, presentando distribución contagiosa, reproducción concentrada en los meses más fríos del año, y liberación de los juveniles en la siguiente temporada. Las similitudes encontradas entre los tres sitios fueron: patrón espacial contagioso, proporción de sexos, fecundidad, esfuerzo reproductivo, relación positiva entre el número de huevos y la talla, mantenimiento del número de huevos durante la embriogénesis, presencia de hembras y machos con gónadas maduras durante todo el año, adultos más abundantes en estaciones más frías y juveniles más abundantes en estaciones más cálidas. Por el contrario, el tamaño máximo de machos y hembras, el dimorfismo sexual, la proporción de estadio ontogenéticos, la densidad poblacional, la agregación, el periodo reproductivo y el volumen de los huevos presentaron diferencias entre las poblaciones estudiadas, relacionándose con la distribución geográfica. Se observó variabilidad interespecífica, y se registraron diferentes patrones en cuanto a las dinámicas poblacionales.

En el segundo capítulo se estudia en *A. uruguayana* ajustes en el crecimiento a través de variaciones en la forma y el tamaño (Capítulo 2). Para ello, se colectaron especímenes de diferentes tallas y ambos sexos, en el arroyo “Las Pencas” (Entre Ríos). Se observó que durante la ontogenia se producen cambios en la forma del cefalotórax (alometría) de los individuos estudiados, además de variaciones en el tamaño. Los cambios en la forma del cefalotórax se relacionaron con las distintas etapas del desarrollo ontogenético (juveniles y adultos) y con el dimorfismo sexual en los adultos. El dimorfismo sexual, se manifestó como una variación en la forma y no en el tamaño del cefalotórax. Las diferencias de forma en los ejemplares se evidenciaron principalmente en el rostro y en la región posterior del cefalotórax. El período intermuda aumentó de manera directamente proporcional al tamaño, y la frecuencia de muda fue similar entre los sexos.

En el tercer capítulo se describen y comparan ajustes en el consumo de oxígeno de tres especies de *Aegla* a través de experimentos y observaciones realizadas en el ambiente

y en el laboratorio, abordando diferentes escalas temporales y espaciales (Capítulo 3). Por un lado, se realizó un análisis estacional (intraespecífico) de la tasa metabólica de tres poblaciones de *A. uruguayana* en diferentes ambientes a lo largo de un gradiente longitudinal (arroyos “El Espinillo” en Entre Ríos y “Del Chupino” en Santa Fe; y río III “Embalse”-2da Usina en Córdoba). Además, en estas mismas poblaciones se estudió el efecto de la variación térmica en el metabolismo mediante Normas de Reacción. Y con el fin de evaluar el efecto del ambiente sobre las repuestas fisiológicas, se midió el consumo de oxígeno en el entorno natural y luego, se repitió la medición para cada población en condiciones de laboratorio en dos temperaturas experimentales ecológicamente relevantes. Por otro lado, se realizó un análisis diario (interespecífico), en el cual se analizó el efecto de tres variables; el momento del día (mediodía y atardecer), el peso corporal y el sexo, sobre la tasa metabólica de los cangrejos *A. singularis* y *A. platensis* en su entorno natural (arroyos “Anchico”, “Itacaruaré”, “Isabel” y “Santa Rita” en Misiones). En todos los ensayos el consumo de oxígeno fue medido en agua por respirometría. A partir del análisis estacional se registraron diferencias estadísticamente significativas entre los pesos de los ejemplares *A. uruguayana* de las tres poblaciones analizadas. Se observó la existencia de dependencia entre el peso y el sitio (variables: pH y temperatura) y el sexo. Los consumos de oxígeno variaron significativamente entre los sitios analizados, siendo los individuos de Entre Ríos los que presentaron el mayor consumo. La tasa metabólica estándar fue directamente proporcional a la temperatura e inversamente proporcional al pH. Bajo condiciones comunes de laboratorio, los consumos de oxígeno de los ejemplares de los tres sitios analizados no revelaron diferencias significativas. El consumo de oxígeno de *A. uruguayana* fue similar entre machos y hembras. A partir del análisis diario se evidenció que *A. singularis* y *A. platensis* no presentan variación diaria en el consumo de oxígeno, presentando ambas especies similar estrategia de regulación del intercambio de gases. La tasa metabólica media fue más alta en *A. singularis*. Se registraron disminuciones en la tasa metabólica asociada con el aumento de peso en ambas especies. El consumo de oxígeno de *A. platensis* y *A. singularis* fue similar entre machos y hembras.

Finalmente se postulan las conclusiones generales, donde, a partir de la integración de la información obtenida a lo largo del desarrollo de la presente Tesis Doctoral se concluye que existen ajustes biológicos, ecológicos y fisiológicos de los aeglidos a los diferentes contextos ambientales donde se distribuyen.

ABSTRACT

Crustaceans are a diverse group found in a wide range of habitats. Different conditions and sites (for example, latitude and longitude) influence the variability of abiotic factors across environments, as well as patterns of variation throughout the day and seasons. The presence of crustaceans in such diverse environments suggests the development of different life strategies, which would have allowed their expansion and colonization. Some of these modifications are related to reproductive, metabolic, growth, and population biology aspects. For this, the organisms had to synchronize their cycles to environmental conditions through biological and ecophysiological adjustments.

Several studies had observed that, in Argentina, freshwater courses have very different abiotic conditions, proposing the existence of different strategies of the crustacean species at the individual and population level. In our country, representatives of the *Aegla* taxonomic group have been registered in a wide variety of environments, and several of them constitute dynamic and changing habitats (temporally and spatially) related to their abiotic characteristics. This allows us to recognize that some of the species of Aeglidae family would have adapted to different abiotic factors, possibly developing biological and ecophysiological adjustments according to the selective pressures that these freshwater environments impose on them. This uncovers many questions about how these crabs can live and thrive in the diverse environments they inhabit.

The aim of this Doctoral Thesis, was to study biological and ecophysiological adjustments of the aeglids that allow them to live and develop in environments with different abiotic characteristics. To this end, the manuscript is organized into two thematic areas. On the one hand, aspects related to population ecology and biology are analyzed, while on the other side physiological aspects are addressed. In turn, the content of these topics is organized into three chapters, along which biological and ecophysiological adjustments of the aeglids are studied through samplings and observations made in the environment and laboratory, addressing different time (annual, seasonal, monthly and daily) and spatial (local and regional) scales.

The Introduction presents the conceptual framework, objectives and starting hypothesis, as well as a review of the background of the taxonomic group on which the present Doctoral Thesis is focused. In Materials and Methods, a common methodology is included. Then, the three chapters are developed. The first describes and compares biological and ecophysiological adjustments of three natural populations of *Aegla*

uruguayana along a spatial and temporal gradient (Chapter 1). For this, seasonal sampling (autumn, winter, spring and summer) was carried out in the streams "El Espinillo" in Entre Ríos and "Del Chupino" in Santa Fe; and in the river III "Embalse" -2da Usina in Córdoba. In general terms, the population structure of the organisms belonging to Entre Ríos, Santa Fe and Córdoba coincided with the pattern known for the aeglids, presenting clumped distribution, concentrated reproduction in the coldest months of the year, and release of the juveniles in the following season. The similarities found between the three sites were: clumped spatial pattern, sex ratio, fecundity, reproductive effort, positive relationship between number of eggs and size, maintenance of the number of eggs during embryogenesis, presence of females and males with mature gonads throughout all the year, adults more abundant in colder seasons and juveniles more abundant in warmer seasons. Conversely, the maximum size of males and females, the sexual dimorphism, the proportion of ontogenetic stage, the population density, the aggregation, the reproductive period and the volume of the eggs presented differences among the populations studied, relating to the geographical distribution. Interspecific variability was observed, and different patterns were recorded in terms of population dynamics.

In the second chapter adjustments in growth are studied in *A. uruguayana* through variations in form and size (Chapter 2). For it, specimens of different sizes and both sexes were collected in the stream "Las Pencas" (Entre Ríos). It was observed that during ontogeny there are changes in the shape of the cephalothorax (allometry) of the individuals studied, as well as variations in size. The changes in the shape of the cephalothorax were related to the different stages of ontogenetic development (juveniles and adults) and to the sexual dimorphism in adults. The sexual dimorphism was observed in cephalothorax shape variation and not in size. The differences in shape in the specimens were evidenced mainly in the rostrum and in the posterior region of the cephalothorax. The intermoult period increased directly proportional to size, and the frequency of moult was similar between sexes.

The third chapter describes and compares adjustments in the oxygen consumption of three species of *Aegla* through experiments and observations made in the environment and in the laboratory, addressing different temporal and spatial scales (Chapter 3). On the one hand, a seasonal (intraspecific) analysis of the metabolic rate of three populations of *A. uruguayana* in different environments along a longitudinal gradient was carried out (streams "El Espinillo" in Entre Ríos and "Del Chupino" in Santa Fe and river III "Embalse" -2da Usina

in Córdoba). In addition, in these same populations, the effect of thermal variation on metabolism was studied using Reaction Norm. In order to evaluate the effect of the environment on physiological responses, the oxygen consumption in the natural environment was measured and then, the measurement was repeated for each population under laboratory conditions in two ecologically relevant experimental temperatures. On the other hand, a daily analysis (interspecific) was carried out, in which the effect of the time of day (noon and dusk), body weight and sex on the metabolic rate of the crabs *Aegla singularis* and *Aegla platensis* in their natural environment (streams "Anchico", "Itacaruaré", "Isabel" and "Santa Rita" in Misiones) were studied. In all the experiments the oxygen consumption was measured in water by respirometry. From the seasonal analysis, statistically significant differences were recorded between the weights of the *A. uruguayana* specimens of the three populations analyzed. The existence of dependence between weight and site (variables: pH and temperature) and sex was observed. Oxygen consumption varied significantly among the sites, in which the individuals from Entre Ríos present the highest oxygen consumption. The standard metabolic rate was directly proportional to the temperature and inversely proportional to the pH. Under common laboratory conditions, the oxygen consumption of the samples from the three sites analyzed did not reveal statistically significant differences. The oxygen consumption of *A. uruguayana* was similar between males and females. From the daily analysis, it was evidenced that *A. singularis* and *A. platensis* do not present daily variation in oxygen consumption, both species present a similar regulation strategy for gas exchange. The average metabolic rate was higher in *A. singularis*. There were decreases in the metabolic rate associated with weight gain in both species. The oxygen consumption of *A. platensis* and *A. singularis* was similar between males and females.

Finally, the general conclusions are postulated, where, from the integration of the information obtained throughout the development of this Doctoral Thesis, it is concluded that there are biological, ecological and physiological adjustments of the aeglids to the different environmental contexts where they are distributed.

INTRODUCCIÓN

Los principios de la teoría darwiniana de la evolución involucran dos elementos: la población diversificada y el ambiente con el cual interaccionan. La diversidad de las poblaciones se refiere a sus características morfológicas, etológicas y fisiológicas, mientras que la interacción de un organismo con su ambiente consiste en los intercambios de energía, materia e información entre estos dos sistemas.

El ambiente incluye factores bióticos y abióticos actuando constantemente y los organismos son una parte de esta compleja dinámica. El organismo se caracteriza y distingue del medio por su capacidad de autorregulación, la cual es realizada por medio de la homeostasis, donde el control homeostático representa una ventaja adaptativa, ya que el nivel de influencia externa que un organismo puede tolerar depende de la capacidad de amortiguamiento de sus mecanismos homeostáticos, determinando así la explotación del ambiente [1], [2].

Dentro de este marco, la adaptación se refiere a una variante fenotípica que resulta en el aumento de la aptitud entre un set específico de variantes de un rasgo y un ambiente determinado [3]. Este ajuste representa la respuesta a un conjunto de estímulos ambientales que resulta en la “capacidad mejorada” de ese organismo en hacer frente a su entorno cambiante. Las respuestas de los organismos a los cambios ambientales difieren de acuerdo a su estadio ontogenético, condición nutricional, sexo, ciclo de muda, estacionalidad, entre muchos otros factores que pueden actuar de manera separada o de forma sinérgica [4], [5]. Los diferentes organismos se ajustan o adaptan de diversas maneras: en su estructura, fisiología, genética, locomoción, dispersión, medios de defensa y ataque, comportamiento, reproducción, crecimiento, entre otros aspectos [6].

Crustáceos decápodos

Decápoda incluye aproximadamente 14.866 especies que en su mayoría están restringidas al sistema marino, pero hay una gran variedad de especies semiterrestres, terrestres y otras que colonizaron cuerpos de agua salobre y dulce, encontrándose hoy en sistemas acuáticos continentales de todo el mundo [7], [8], [9].

Colonización del agua dulce y adaptaciones

Los crustáceos decápodos son originarios de los sistemas marinos. Estos sistemas poseen características físicas y químicas diferentes a los sistemas dulceacuícolas, sobre todo en los relacionados con la estabilidad de diferentes factores (temperatura, concentración de oxígeno y sales, entre otros) [10].

Durante la introducción a los sistemas acuáticos continentales, los crustáceos decápodos desarrollaron una serie de adaptaciones que les permitieron habitar los ambientes hipoosmóticos, soportando el estrés causado sobre todo por el desbalance generado por el ambiente dulceacuícola [11]. Así los organismos realizaron ajustes acoplando sus ciclos biológicos a los ambientales. Algunas de las principales modificaciones fueron a nivel de los órganos excretores, y en los procesos de crecimiento y reproducción [12], [11].

El exoesqueleto duro y altamente impermeable de los cangrejos durante el período de intermuda disminuye el ingreso de agua. Sin embargo, durante los períodos de premuda y postmuda el tegumento es más fino y blando, permitiendo el ingreso de agua desde el ambiente. Uno de los mecanismos de adaptación en los cangrejos dulceacuícolas es la extensión de los períodos de intermuda con respecto a los crustáceos marinos, como mecanismo de disminución de los períodos de pre y postmuda y el intercambio de sales relacionado con estas etapas [12]. Otra de las adaptaciones de los crustáceos dulceacuícolas se relaciona con cambios en los órganos o sistemas que regulan activamente las concentraciones de sales en las excreciones [11]. El tipo de elemento que se excreta resulta un mecanismo necesario de vida [12], [13].

Los decápodos dulceacuícolas no solamente tuvieron que producir adaptaciones que permitan la vida sino que también a nivel de los procesos reproductivos sufrieron modificaciones que les permitieron desarrollarse con éxito en estos sistemas. En estos organismos, para que se produzca el intercambio de material genético se requiere en todos los casos el apareamiento directo entre los progenitores (cópula) [14], [15]. De este modo, las gametas masculinas son traspasadas a la zona ventral del cefalotórax de la hembra, en una región cercana a los gonóporos de variadas maneras dependiendo de la taxa. Una vez que los ovocitos están desarrollados y que los estímulos ambientales son los adecuados se produce la ovipostura, proceso a través del cual los ovocitos son exteriorizados a través de los gonóporos [15]. Durante este proceso (ovipostura) se produce la fertilización de los huevos, ocurriendo inmediatamente luego de la cópula, en el transcurso de horas o luego

de días e incluso meses, de acuerdo a los diferentes grupos [16], [17], [15]. Una vez en el exterior, los huevos quedan adheridos a las setas de la madre dentro de la cavidad conformada por el cefalotórax y el abdomen [15]. Estos huevos son acarreados por la hembra en su abdomen hasta el momento de la eclosión, lo cual entorpece sus movimientos y la convierte en una presa potencialmente más vulnerable o fácil de ser capturada [18].

En cuanto a la membrana de los huevos, esta en los decápodos dulceacuícolas es más gruesa que la de los decápodos marinos, aumentando el aislamiento de los embriones en desarrollo, y protegiéndolos contra la pérdida de agua y estrés osmótico. De este modo, los embriones están aislados del medio en el cual la madre vive mediante una o incluso más de una membrana [19].

Los ambientes dulceacuícolas presentan fuertes desafíos fisiológicos a los estadios inmaduros de los crustáceos, especialmente relacionados con la capacidad de balancear concentraciones de iones y cationes y de agua. Las larvas de cangrejo poseen rudimentarios mecanismos de regulación de agua e iones, los cuales no les posibilitan la supervivencia y desarrollo en este tipo de medio [11]. Entre las principales estrategias utilizadas por los decápodos netamente dulceacuícolas que les permiten sortear este inconveniente se encuentran las relacionadas con la reducción e incluso desaparición de los estadios larvales de vida libre, eclosionando como juveniles totalmente desarrollados y con forma similar a la de los adultos (desarrollo directo) [11], [20], [21]. La reducción de los estadios larvales libres provoca que esas etapas de desarrollo se produzcan dentro del huevo, aumentando el tiempo de incubación. De este modo, al pasar mayor tiempo dentro del huevo, los embriones necesitan mayores cantidades de vitelo (reservas energéticas), lo cual se encuentra relacionado con el aumento en el tamaño de los huevos en los cangrejos dulceacuícolas. Esto requiere también una mayor inversión energética por parte de las hembras. El aumento de tamaño reduce el número de huevos que una hembra puede producir o cargar luego de la ovipostura [11].

A medida que el embrión va pasando por los distintos estadios de desarrollo dentro del huevo, el corion disminuye su espesor, lo que facilita la eclosión [19]. Una vez fuera del huevo, los neonatos no son directamente liberados a la zona pelágica, como ocurre en los decápodos marinos con estadios larvales libres, sino que existe cuidado parental extendido. Los neonatos permanecen relacionados al cuerpo de la madre durante un tiempo, luego la abandonan y comienzan el periodo de vida libre. Los juveniles atraviesan en general una

etapa lecitotrófica, alimentándose durante un tiempo de las reservas de vitelo que poseen e independizándose de la alimentación exógena [22], [23], [20], [21].

Decápodos dulceacuícolas de América del Sur

En América del Sur se encuentra una variada fauna de crustáceos decápodos dulceacuícolas agrupadas en siete familias [24], [25], [26], disminuyendo a cinco en los ambientes fluviales argentinos. Estas se agrupan en cuatro grupos morfológicos: camarones (Sergestidae y Palaemonidae), langostas (Parastacidae), cangrejos verdaderos (Trichodactylidae) y los llamados pseudo-cangrejos o cangrejos (Aeglidae), siendo muchos endémicos de esta región a nivel de especie, género y familia [27], [28], [17]. La evolución conjunta de las poblaciones de decápodos en sus ambientes, y el ajuste a nuevas condiciones abióticas determinan su diversidad y sus densidades en estos sistemas [29], [30], [31]. Una de estas familias de decápodos, Aeglidae, ha logrado colonizar diversos hábitats a partir de su ingreso desde el ambiente marino, característica la cual permite estudiar los ajustes biológicos y ecofisiológicos de estos al medio.

Características de *Aegla*

Los cangrejos de la familia Aeglidae Dana, 1952 (superfamilia Galattheoidea) presentan particulares caracteres, que la convierten en un fascinante grupo de estudio. Según Martin y Abele [32]: “Los aeglidos son únicos ecológicamente, por ser la única familia de anomuros de ambientes dulceacuícolas, biogeográficamente, por ser endémicos de sitios templados de Sudamérica y, morfológicamente, porque poseen caracteres particulares en el cefalotórax y las branquias”. Esta familia de anomuros incluye tres géneros, dos de los cuales están extintos: *Haumuriaegla* hallado en rocas marinas de la etapa Haumurian (Maastrichtiano) en el norte de Canterbury, Nueva Zelanda, y *Protaegla* del sur del Estado de Puebla, México [33], [34]. *Aegla* es el único género de Aeglidae existente en la actualidad y el único taxón del infraorden Anomura enteramente restringido a hábitats dulceacuícolas [35] (Figura 1).

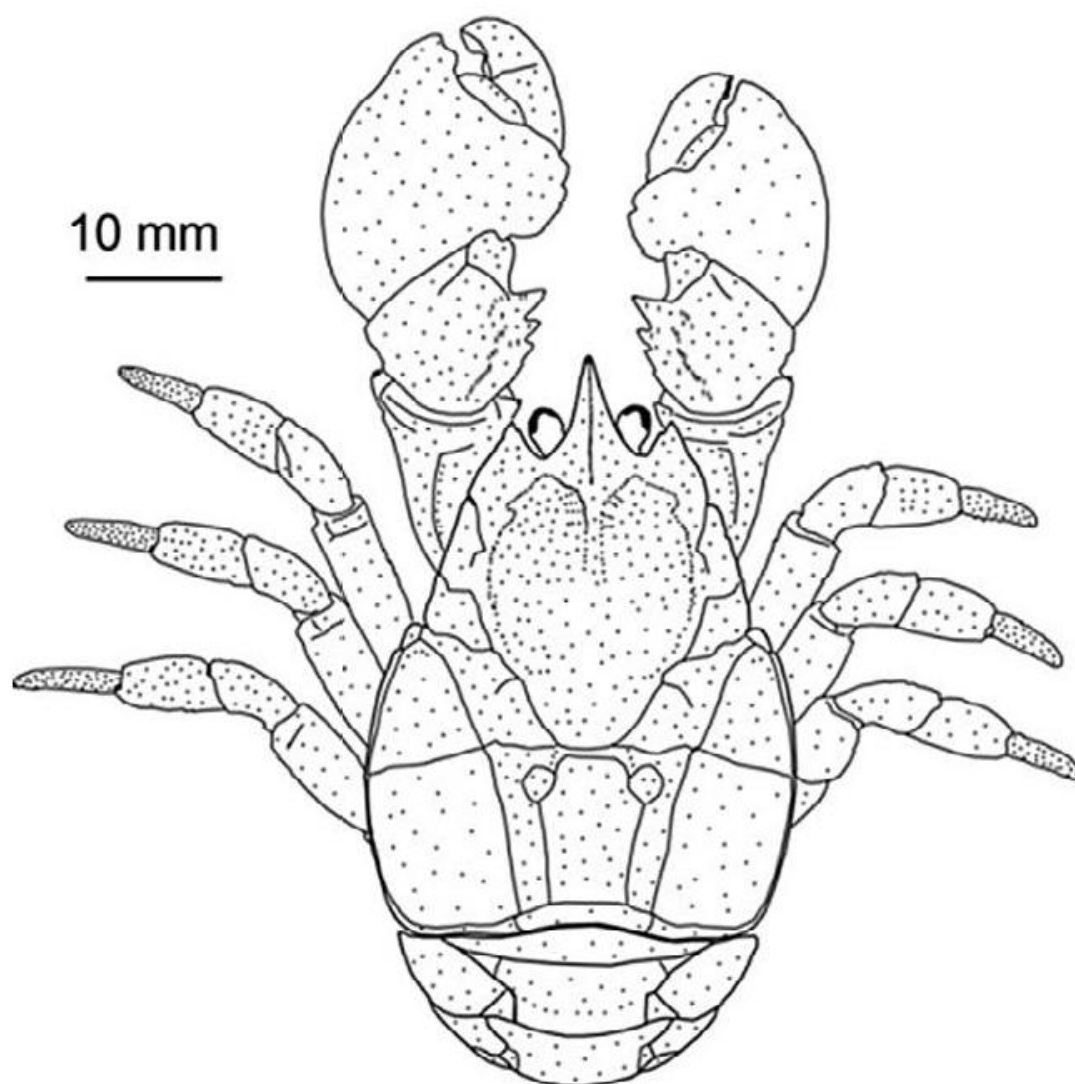


Figura 1. Ejemplar de *Aegla* sp.

El género *Aegla* incluye aproximadamente 85 especies y subespecies cuyas relaciones sistemáticas y filogenéticas actualmente son poco claras [32], [32], [36], [35], [37], [38], [39], [40], [41], [42]. Esto es debido a que en los últimos años se continúan describiendo nuevas entidades y expansiones en la distribución de las especies conocidas [37], [43]. Pérez Lozada y col., [44] han propuesto la creación de la superfamilia Aegloidea partiendo del análisis de nucleótidos del gen ribosomal 18S, mostrando separación de esta

familia de las del resto de la superfamilia Galattheoidea. Además, los análisis filogenéticos moleculares realizados con los representantes de la familia plantean diversos caminos en la definición de las especies originales y la ubicación del grupo [45].

Origen del grupo

América del Sur ha presentado desde el Mioceno diversos eventos que modelaron el paisaje y las condiciones físico – químicas de los ambientes acuáticos continentales. Estos cambios en los hábitats provocados principalmente por intrusiones marinas y glaciaciones determinaron la estructura del paisaje y afectaron de diversas maneras a las especies que habitaban en ellos [46]. Bajo este escenario geoclimático los sistemas acuáticos originarios se fueron conformando de manera dinámica, permitiendo que diversos hábitats fueran colonizados por varios grupos de crustáceos decápodos, entre ellos *Aegla*. Estos, bajo diversas presiones selectivas ejercidas por el ambiente, se habrían adaptado a las nuevas condiciones de los sistemas acuáticos [47].

Al considerar el origen de este grupo se presentan varias hipótesis. Por un lado, se postula un ingreso a través de la costa Atlántica de América del Sur, y por otro lado, a través del Pacífico a los ambientes dulceacuícolas que hoy corresponde al territorio chileno. En cuanto a la primera hipótesis, Schmitt [48] sugirió que los ejemplares con características más primitivas (morfología menos ornamentada) ingresaron por el Océano Atlántico. Según esta postura, los organismos se habrían dispersado desde el noroeste argentino (centro de distribución) hacia Brasil y Chile. Esta hipótesis fue sustentada por análisis biogeográficos realizados por Morrone y Lopretto [27]. Sin embargo, las especulaciones fueron elaboradas en ausencia de fósiles, las cuales al encontrarse modificaron esta postura. En cuanto a la segunda hipótesis, Feldmann [49] describió registros fósiles de una nueva especie del Cretácico tardío hallado en Nueva Zelanda, clasificado como el representante conocido más antiguo de la familia Aeglidae [33], aportando evidencia a favor del posible ingreso de este grupo a través del Pacífico. Ortmann [50] sugirió que los organismos ingresaron a partir del Océano Pacífico por las costas chilenas y se dispersaron hacia el norte de Argentina y el sur de Brasil. Según este autor, la dispersión fue debida a las glaciaciones o a conexiones entre los cuerpos de agua. Tal evento se habría manifestado cuando la cordillera aún no había surgido. Esta hipótesis se sustenta en la distribución de *Aegla sp.* y de *Parastacus sp.* sugiriendo que, si ambas presentan una distribución similar, la historia común también lo sería. Pérez Lozada y col., [36], a través de análisis moleculares, consideran viable que

el ancestro de *Aegla* hubiera habido colonizado por primera vez cuerpos de agua continentales durante una transgresión marina de la costa del Océano Pacífico hace aproximadamente 70 millones de años. Estos autores postulan a *A. papudo* [48] como la especie más antigua. Análisis de relaciones evolutivas a través de secuencias de ADN mostraron que las especies de esta familia sufrieron una reciente especiación [51].

A pesar de los resultados obtenidos en las mencionadas investigaciones, todavía no está claro cuál fue la historia evolutiva y cuáles fueron los “camino” que siguieron estos cangrejos hasta alcanzar su distribución actual.

Área de distribución

Actualmente, el área de distribución de estos cangrejos comprende la zona austral de América del Sur, siendo hallados en Bolivia, Paraguay, Chile, Brasil, Uruguay y Argentina [48], [52], [36]. Dentro de estas áreas, los aeglidos han sido encontrados en una gran variedad de ambientes; desde los ~4500 m de altura en el noroeste de la cordillera argentino-chilena, hasta lagos, ríos y arroyos en Chile a 320 m de profundidad [52]. En estos últimos ambientes, algunas especies son troglobias (ej. *A. cavernicola* y *A. leptochela*) o troglófilas (ej. *A. schmitti* y *A. rostrata*), resultando extremadamente endémicas [53], [54]. Sin embargo, esta familia de acuerdo con algunos autores [55], [56], [57], [58], [59], se encuentra preferentemente en ambientes con altas concentraciones de oxígeno disuelto en agua.

Por lo general, las especies de *Aegla* presentan áreas de distribución relativamente pequeñas, restringidas a una única o unas pocas cuencas de drenaje adyacentes, mostrando algunas especies altos niveles de endemismo. Algunos ejemplos que denotan la endemidad de estos anomuros son: *A. ringueleti* que solo se ha registrado en la localidad de Cachi, provincia de Salta y *A. sanlorenzo* que solo se ha observado en el río San Lorenzo, provincia de Jujuy, Argentina [52]. Sin embargo, algunos otros taxones presentan rasgos distribucionales más amplios, siendo *A. uruguayana*, *A. platensis* y *A. neuquensis* las que están en un área mayor [60], [38].

En Argentina se encuentran aproximadamente 15 especies de aeglidos distribuidas en ambientes de variadas características [61], [62], [63]. De estas especies, *A. jujuyana*, *A. humahuaca*, *A. intercalata*, *A. sanlorenzo*, *A. scamosa*, *A. neuquensis* y *A. singularis* solo

pertenecen a la carcinofauna argentina. El resto de las especies de *Aegla* también habitan ambientes en otros países [52].

Posición trófica

Como integrantes de la fauna acuática continental, los aeglidos constituyen un componente importante de las redes tróficas de aquellos ambientes en el que se encuentran, debido a su funcionalidad como alimento de peces, aves, lobito de río patagónico, ranas y jacarés, además de ser eficaces predadores de larvas acuáticas de insectos y otros invertebrados [8], [64]. El hecho de ocupar una posición intermedia en las redes tróficas, transformar celulosa en proteínas al alimentarse de material vegetal, devolver materia y energía proveniente de organismos muertos y conectar los sistemas acuáticos y terrestres los convierte en un componente clave en la dinámica de los ecosistemas acuáticos [17].

Estado de conservación

Algunas de las especies de la familia Aeglidae han sido consideradas en peligro de extinción en el ambiente natural y otras han sido catalogadas en categorías con problemas de conservación [65], [44]. Esta situación ocurre principalmente debido a su estrecha distribución y rápida degradación de los hábitats dulceacuícolas donde se distribuyen. Jara y col., [66] señalan la necesidad de aumentar los esfuerzos para ampliar el conocimiento sobre estos particulares anomuros, sistematizando la información con el objetivo de implementar planes de manejo para preservar poblaciones remanentes que han sido afectadas. Con la excepción de Bond-Buckup y col., [35], Bueno y col., [38], Tumini [43] hay escasa información sobre el estado de conservación de *Aegla* en Argentina.

Aspectos reproductivos, metabólicos, de crecimiento y biología poblacional

La presencia de crustáceos en diversos ambientes sugiere el desarrollo de diferentes estrategias de vida, las cuales les habrían permitido su expansión y colonización. Algunas de estas modificaciones se encuentran relacionadas con aspectos reproductivos, metabólicos, de crecimiento y de biología poblacional [67]. Para ello, los organismos debieron acoplar sus ciclos a las condiciones del ambiente a través de ajustes biológicos y ecofisiológicos.

Los organismos interaccionan con su ambiente a través de intercambios de materia, energía e información. Las propiedades de tales intercambios (velocidad, eficiencia, entre otros) se encuentran relacionadas a las transformaciones de materia y energía de cada individuo, las cuales constituyen su metabolismo. Los crustáceos decápodos son organismos aeróbicos, que necesitan del oxígeno molecular en los procesos de oxidación y obtención de energía. La cantidad de oxígeno consumido durante la respiración, así como del dióxido de carbono eliminado como producto de la oxidación, está íntimamente relacionada con la actividad metabólica del individuo [13], [68]. Así, la medición del consumo de oxígeno puede ser utilizada como un buen indicador de la tasa metabólica de las especies. El metabolismo puede variar debido a diferentes factores internos y externos, tales como el tamaño corporal, sexo, actividad, etapa del ciclo de muda, condiciones ambientales (temperatura, fotoperiodo, etc.) entre otros [69]. Números estudios sobre el consumo de oxígeno se han llevado a cabo en diferentes crustáceos. Sin embargo, a pesar de la importancia que tienen los anomuros dulceacuícolas en los ecosistemas acuáticos, hay poca información sobre aspectos fisiológicos en general y sobre el consumo de oxígeno en particular. En el caso de *Aegla*, los estudios sobre consumo de oxígeno son prácticamente inexistentes, a excepción de Dalosto y Santos [70] que evaluaron el consumo de oxígeno en *A. longirostri* en experimentos de laboratorio bajo condiciones de disponibilidad constante y limitada de oxígeno.

En cuanto a la estructura y dinámica de las poblaciones, diversas investigaciones sugieren la existencia de sincronización entre algunos de los procesos biológicos y la dinámica de los cuerpos de agua [71], [72], [73], [74]. Al respecto, las condiciones ambientales y los procesos poblacionales pueden determinar la presencia, abundancia y distribución de las especies. Birge [75] encuentra que los hábitats acuáticos afectan la distribución de organismos, ya que pueden ser muy variables en diferentes factores tales como luz, temperatura y oxígeno. En sistemas con llanura aluvial, comúnmente, la temperatura coincide con el ciclo hídrico del agua. Estos ciclos podrían estar asociados con los ciclos biológicos de los decápodos, por ejemplo, el momento y duración de su ciclo reproductivo [16], [76]. Si bien desde la ecología se plantea la necesidad de un abordaje sistémico de los parámetros biológicos a partir de escalas temporales y espaciales, los estudios sobre la estructura y dinámica poblacional llevados a cabo en el ambiente en *Aeglas* son pocos, siendo estas investigaciones casi en su totalidad referentes a la fauna brasileña y/o chilena [56], [77], [78], [79], [80], [81], [82], [83], [84], [85], [86], siendo preciso

comenzar por aportar datos sobre otras especies y áreas geográficas que no han sido suficientemente indagados por la literatura existente.

En relación a la biología reproductiva, este proceso en los decápodos varía ampliamente en las distintas especies [87], [88], [89], [90], [91], [92]. Así, una población puede tener una respuesta de su genotipo a un ambiente determinado y tener una reproducción continua o ser discontinua expresándose dicha actividad en un período determinado del año [88], [93]. Esta expresión representa una característica de cada especie o población y resulta de las interacciones de los factores endógenos y exógenos existentes que modelan el ciclo [87], [88], [92]. Los componentes endógenos, tales como las características genotípicas e historia evolutiva, determinan características reproductivas particulares en cada especie. Éstos son modelados por los factores exógenos y están representados por las relaciones entre la densidad de especies, disponibilidad y abundancia de recursos y diferentes factores ambientales, tales como condiciones climáticas locales [94], [95], [96], [97], así como presiones selectivas. En varias especies de *Aegla* se han estudiado aspectos relacionados a la biología reproductiva, muchos de los cuales presentaron estrecha relación y sincronización con algunas de las características ambientales de los sitios bajo estudio (por ejemplo: temperatura, precipitaciones, velocidad de la corriente, entre otras) [98], [78], [99], [100], [101], [82], [84].

En cuanto al crecimiento, este es un proceso que ocurre de manera discontinua en los crustáceos, debido a la exocutícula rígida que se elimina en cada proceso de muda. Hay dos componentes básicos en este fenómeno, el aumento de tamaño durante cada muda y el período de intermuda, ambos regulados por factores exógenos y endógenos (entre los cuales se encuentran la edad, sexo, aspectos ambientales, entre otros). El cambio de exocutícula ocurre por medio de mudas críticas [102] hasta llegar a la muda puberal cuando adquieren su madurez e indican el inicio de la maduración de las gónadas, dando comienzo una nueva etapa en su ciclo vital. Aunque se han descrito muchas especies de aeglidos (y continúan describiéndose), los estudios sobre el crecimiento de estos organismos son escasos [103], [55], [56], [58], [59], [104], [105], [106], [107], [84], [86].

Aéglidos en ambientes argentinos

El sur de América del Sur está caracterizado por la presencia de varias cuencas hídricas que abarcan una extensa área geográfica, como lo es por ejemplo, la cuenca del Plata, la

cual a lo largo de su extensión presenta una alta diversidad de ambientes loticos y leníticos que varían en sus características físicas y químicas [108]. Además, numerosas cuencas menores desembocan al mar y otras tantas “desaparecen” dentro del continente conformando el entrelazado hídrico continental que incluye a la Argentina. Estas cuencas presentan historias dinámicas de actividades orogénicas y climáticas en las que los crustáceos decápodos han evolucionado [109], [36], [47], [110]. En varios estudios se ha manifestado que en nuestro país, los cursos de agua dulce presentan condiciones abióticas muy diferentes entre sí, proponiéndose la existencia de estrategias diferenciales a nivel individual y poblacional de las especies de crustáceos presentes [111], [112], [113], [114], [47], [76]. En Argentina, representantes del grupo taxonómico *Aegla* han sido registrados en una gran variedad de ambientes (llanura, montaña, entre otros), muchos de los cuales constituyen hábitats dinámicos y cambiantes (temporal y espacialmente) en lo que respecta a sus características abióticas. Lo cual permite reconocer que algunas de las especies de la familia Aeglididae se habrían adaptado a los diferentes factores abióticos desarrollando posiblemente ajustes biológicos y ecofisiológicos de acuerdo con las presiones selectivas que estos ambientes dulceacuícolas les imponen. Esto deja al descubierto muchas preguntas sobre cómo estos cangrejos pueden vivir y desarrollarse en los diversos ambientes que habitan [29], [16], [47], [76].

Estructura de la presente investigación

La presente Tesis Doctoral se organiza en tres capítulos. En el Capítulo 1 se describen y comparan ajustes biológicos y ecofisiológicos de tres poblaciones de *A. uruguayana* a lo largo de un gradiente espacial y temporal. En el Capítulo 2 se estudian en *A. uruguayana* ajustes en el crecimiento a través de variaciones en la forma y el tamaño. En este capítulo se amplían los resultados (en cuanto análisis, interpretación y discusión de resultados) obtenidos en el trabajo de investigación de la tesina de grado que ya fueron publicados (Capítulo 2). En el Capítulo 3 se describen y comparan ajustes en el consumo de oxígeno mediante análisis estacional en *A. uruguayana*; y a través de análisis diario en *A. platensis* y *A. singularis* (Capítulo 3). Finalmente se postulan las conclusiones globales, y se presentan algunos de los interrogantes que surgieron durante el desarrollo de la presente Tesis Doctoral y que podrían guiar futuras investigaciones.

Por lo tanto, a continuación se plantean los objetivos e hipótesis que han servido de guía de la presente Tesis Doctoral.

OBJETIVOS

GENERAL:

- Estudiar ajustes biológicos y ecofisiológicos de los aéglicos que les permiten vivir y desarrollarse en ambientes con diferentes características abióticas.

ESPECÍFICOS:

- Identificar y evaluar la ecología de poblaciones de aéglicos sujetos a ambientes con diferentes características abióticas.
- Caracterizar y examinar las posibles diferencias fisiológicas de especies de aéglicos que habitan en ambientes con diferentes características abióticas.

HIPOTESIS

- La ecología de las poblaciones en aéglicos se correlaciona con las condiciones abióticas de cada ambiente.
- La fisiología de aéglicos varía en relación con las condiciones abióticas de cada ambiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Áreas de estudio

La información sobre los ajustes biológicos y ecofisiológicos de *Aegla* fueron obtenidos a partir de experiencias de campo llevados a cabo en diferentes ambientes del territorio argentino entre los años 2011 y 2017.

De acuerdo con el planteo biogeográfico de Morrone [61], [115] el territorio argentino está surcado por dos reinos: el Holotropical y el Austral. En el primero de ellos se encuentra la región Neotropical y dentro de esta región se ubica la subregión Chaqueña (provincia Chaqueña en la que se distribuyen *A. uruguayana*, *A. scamosa*, *A. platensis* y *A. affinis*) y la subregión Paraná (provincia Paranaense en la que se encuentra *A. parana*, *A. singularis*, *A. platensis*). Por otro lado, en el reino Austral se ubica la región Andina, con la subregión Páramo-Puna (provincia de la Puna donde habitan *A. humahuaca*, *A. jujuyana*, *A. intercalata*, *A. ringueleti*, *A. sanlorenzo* y *A. septentrionalis*) y la subregión Patagónica (provincia de la Patagonia con registros de *A. riolimayana* y *A. neuquensis*).

El área de estudio del presente trabajo de investigación comprendió cuerpos de agua de las provincias de Entre Ríos, Santa Fe, Córdoba (subregión Chaqueña) y Misiones (subregión Paraná). En las diferentes provincias, los sitios muestreados presentaron similitudes y diferencias en lo que respecta a las características abióticas de los cuerpos de agua; ríos y arroyos; con o sin vegetación; fondos de arena, clastos psefíticos y psamíticos y/o rocas, entre otras [116], [117].

Subregión Chaqueña

Esta zona está caracterizada por un territorio llano o ligeramente ondulado, con clima templado-cálido, lluvias durante todo el año que disminuyen de norte a sur y de este a oeste. La temperatura media anual oscila entre 13 y 17 °C. Respecto a la flora, existen comunidades edáficas formadas por especies provenientes de la provincia Paranaense, selvas ribereñas y algunos sectores xerófilos con influencias del espinal. La vegetación dominante es la estepa o pseudoestepa de gramíneas que forman matas entre las cuales crecen herbáceas y algunos arbustos [116], [117] (Figura 2).

Subregión Paranaense

Esta área presenta un territorio montañoso con serranías de poca altura que van elevándose hacia el este. La precipitación anual varía entre 1500 y 2000 mm y presenta una estación más seca en invierno y abundantes lluvias en verano. La vegetación dominante es la selva subtropical, con un estrato de árboles de 20 a 30 m de altura, otro de árboles menores y un denso sotobosque. Los cursos de agua de esta zona se adecuan a las características del sistema del Alto Paraná. La temperatura de esta región varía entre 15 y 33°C con una media de 24°C [116], [117] (Figura 3).

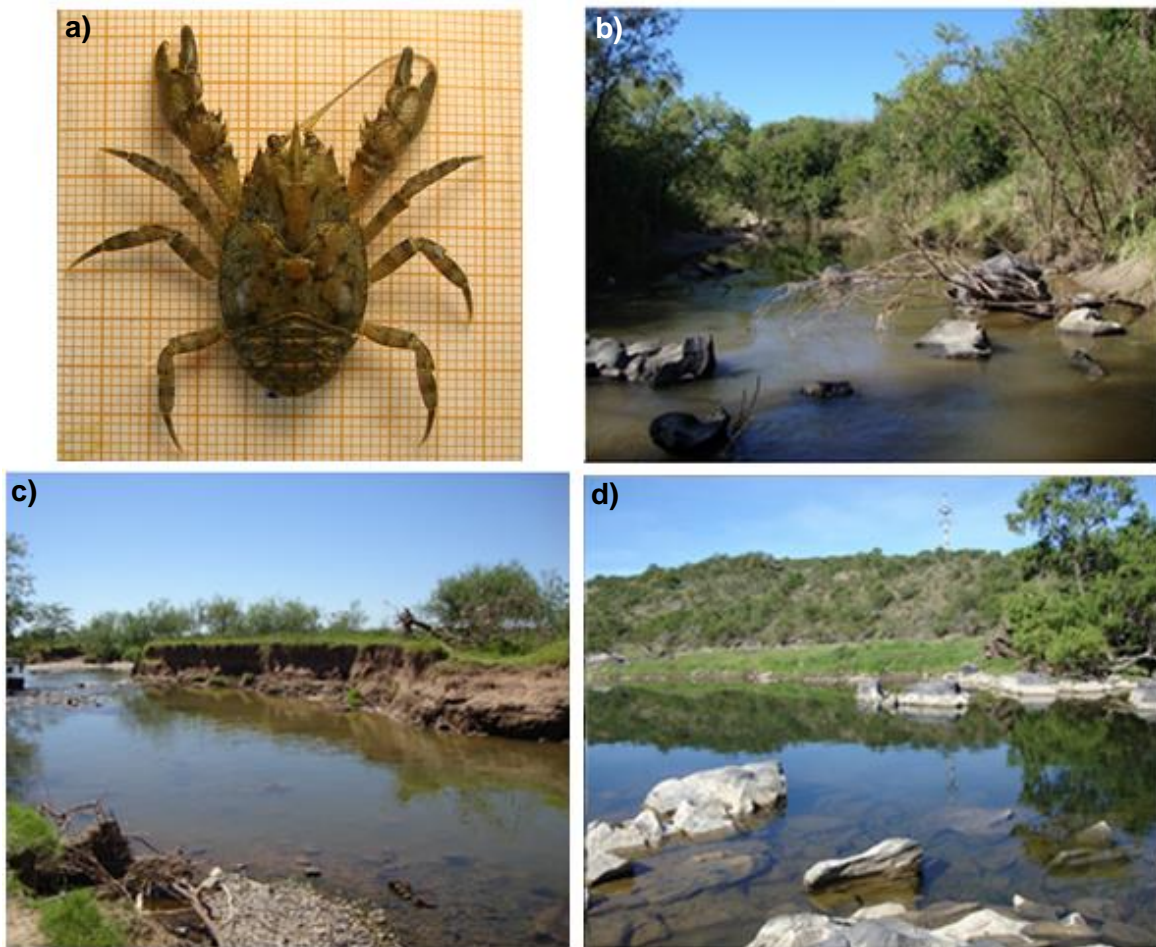


Figura 2. a) Fotografía de *Aegla uruguayana*. Cuerpos de agua muestreados en: b) Entre Ríos, c) Santa Fe y d) Córdoba



Figura 3. Fotografías de: a) *Aegla platensis* y b) *Aegla singularis*. c) Cuerpos de agua muestreados en la Provincia de Misiones

Experiencias de campo

Recolección de ejemplares

El arte de captura de los ejemplares incluyó red D (copo de mano) de 60 cm de diámetro, con una abertura de malla de 1 mm, el cual fue posicionado a favor de la corriente de modo que, al remover el sustrato los especímenes fueran arrastrados hacia su interior. Además, se implementó la recolección manual, a través de la remoción de rocas, troncos, vegetación u otros elementos que estos cangrejos utilizan como refugio [58], [64]. Cada una de estas artes fue utilizada de acuerdo a las características ambientales y de accesibilidad al sitio de recolección (Figura 4).

En cada ambiente se establecieron zonas de muestreo ubicadas a lo largo del cuerpo de agua (de aquí en adelante serán denominadas transectas). Los detalles de cada experiencia se especifican en los posteriores capítulos de esta Tesis Doctoral.



Figura 4. Artes de muestreo utilizados en la recolección de aéglicos en diferentes cuerpos de agua de Argentina

Registro de parámetros abióticos

Los datos de coordenadas geográficas y altitud (msnm) de los sitios de muestreo fueron obtenidos mediante el uso de un equipo digital Garmin Dakota 20, Kansas City, Missouri, U.S.A. En cada muestreo se realizó la medición de parámetros abióticos del cuerpo de agua, que incluyeron temperatura ($^{\circ}\text{C}$), pH y conductividad ($\mu\text{s cm}^{-1}$), oxígeno (ppm), sólidos disueltos (ppm). Estos fueron obtenidos mediante sensores digitales (pHmetro y conductímetro Hanna HI 98129, Oxímetro Hanna HI 9146 Woonsocket, RI, U.S.A). También se obtuvieron fotos de los diferentes ambientes con una cámara digital SONY Cyber-shot® (Figura 5).



Figura 5. Medición en campo de algunos parámetros abióticos de los cuerpos de agua muestreados en Argentina

Traslado de ejemplares

En cada campaña, excepto en las realizadas en Misiones (metodología detallada en el capítulo 3 de esta Tesis Doctoral), los cangrejos capturados fueron transportados vivos al laboratorio de Macrocrustáceos del Instituto Nacional de Limnología (INALI-CONICET-UNL). El traslado se realizó en recipientes plástico, junto con agua del sitio de muestreo, vegetación acuática y rocas de la zona. Las hembras ovígeras fueron trasladadas de la misma forma, pero individualmente. Los ejemplares capturados se utilizaron para todos los análisis y ensayos (biología poblacional, crecimiento y consumo de oxígeno), los cuales se incluyen y detallan en los siguientes capítulos de la presente Tesis Doctoral.

Trabajo en laboratorio

Mantenimiento de ejemplares

Una vez en el INALI, estos recipientes plásticos fueron llevados a la sala de aclimatación y cría del instituto (Sala de bioensayos II). Esta sala cuenta con sistemas de control de temperatura (acondicionadores de aire frío - calor) y fotoperíodo (relación luz – oscuridad 12–12 horas, luz fluorescente), tanques con agua, acuarios de diferentes dimensiones, red eléctrica, agua de red de clorinada y mobiliario necesario (mesadas, alacenas, estanterías, entre otros). Los individuos fueron colocados en los acuarios previamente acomodados para tal fin. Estos acuarios fueron llenados con la misma agua en que los cangrejos fueron trasladados (del sitio de muestreo), incluyendo aireadores eléctricos, refugio, especies animales acompañantes (moluscos, microcrustáceos, entre otros), y plantas (flotantes o sumergidas) propias del sitio de proveniencia de los ejemplares. Las hembras ovígeras, fueron mantenidas individualmente de la misma manera.

En todos los casos, excepto en el experimento de consumo de oxígeno en laboratorio (metodología detallada en el capítulo 3 de esta Tesis Doctoral), los animales fueron mantenidos a la misma temperatura y fotoperíodo del momento de recolección, y sacrificados en un tiempo no mayor a los tres días posterior al traslado.

Identificación de especies, medición y pesado de los ejemplares

Los organismos fueron examinados en su morfología externa mediante la clave para la identificación de las especies de *Aegla* [52] y la descripción hecha por Bond-Buckup y col.,

[37]. De acuerdo con la necesidad del detalle, los cangrejos fueron observados con lupa binocular y/o microscopio estereoscópico.

Los ejemplares fueron críoanesteciados en agua a 1-3°C durante 10 minutos, con el fin de disminuir su estrés durante la toma de datos. La determinación del sexo se basó en el criterio propuesto por Martin y Abele [118]. A partir del cual se registran caracteres sexuales secundarios, como el poro genital en la coxa del tercer par de pereiópodos en las hembras y presencia (hembras) o ausencia (machos) de pleópodos.

El estadio de los aeglidos se determinó de acuerdo con la estimación de madurez sexual morfológica realizada por Viau y col., [99], a partir de la cual el largo del cefalotórax se utiliza como medida de referencia para diferenciar adultos de juveniles. Bajo este criterio, machos y hembras con un largo de cefalotórax (LC) mayor a 11,5 mm fueron considerados adultos, y aquellos que presentaron LC menor a 11,5 mm fueron reconocidos como juveniles. Además los ejemplares con LC menor a 8 mm se clasificaron como reclutas.

Los cangrejos fueron pesados (peso húmedo total = PT) en balanza electrónica Mini Digital Scale (precisión 0,001 gr) y medidos con calibre digital Schwyz (0,01 mm de precisión) con el que se registraron las siguientes medidas: el largo del cefalotórax (LC) medido desde el extremo del rostro hasta extremo centro-posterior del cefalotórax [100]; el ancho del cefalotórax (AC), medido desde la unión entre la línea branquial y hasta la parte posterior de la "*línea aeglica lateralis*" (Figura 6).



Figura 6. Vista dorsal del cefalotórax de *Aegla uruguayana*. Dimensiones corporales medidas en los ejemplares: LC: largo del cefalotórax y AC: ancho de cefalotórax

Durante la elaboración de la presente Tesis Doctoral se realizaron diferentes determinaciones (disección y pesado de gónadas y hepatopáncreas, entre otras) y evaluaciones (mediante estudio de forma y tamaño, y medición de consumo de oxígeno), cada una de la cuales respondió a una metodología específica (detalladas en posteriores capítulos de la presente Tesis Doctoral) de acuerdo a objetivos puntuales.

Finalmente, el material fue fijado con alcohol (96%) y almacenado en frascos debidamente rotulados.

CAPÍTULO 1

Biología poblacional: ajustes biológicos y ecofisiológicos de *Aegla uruguayana* en diferentes ambientes

INTRODUCCIÓN

Los estudios sobre ecología de poblaciones aportan información útil para la comprensión de las estrategias biológicas y ecológicas utilizadas por los diferentes organismos en cada ecosistema. A su vez, el conocimiento de los rasgos básicos de la biología de los organismos es importante porque proporciona material esencial para una amplia gama de estudios [119], [120], [121].

En varios grupos de decápodos, las poblaciones han sido estudiadas mediante diferentes parámetros, entre los que se encuentran la proporción de sexos, distribución de individuos dentro de las clases de tamaño, períodos reproductivos y de reclutamiento, dispersión, tasas de natalidad, mortalidad y crecimiento, densidad de la población, entre otros [122], [123], [124], [125], [126], [127], [128], [129]. En el caso de los aeglidos, existen numerosas investigaciones sobre aspectos de su biología, muchas de los cuales se refieren a la estructura y dinámica poblacional de especies altamente endémicas, como así también otras estudiaron especies con amplia distribución [56], [77], [78], [79], [80], [81], [82], [83], [84], [85], [86]. Además de evaluar estos parámetros, otros autores centraron sus estudios en aspectos referidos a la biología reproductiva de uno o ambos sexos, tales como la dinámica de desarrollo gonadal, talla de madurez sexual, períodos reproductivos, fecundidad, esfuerzo reproductivo, entre otros [98], [130], [53], [100], [86].

En estos anomuros, la mayor parte de las investigaciones se focalizaron únicamente en la dinámica poblacional de una especie y en un sitio de su distribución [131], [77], [80], [101], [121]. Sin embargo, en otros crustáceos dulceacuícolas, tales como las langostas (*Cherax cainii*, *C. destructor*, *Euastacus bispinosus*), las cuales comparten algunas similitudes ecológicas y biológicas con los aeglidos [52], [132], [133], [134] se estudiaron parámetros biológicos en diferentes poblaciones de una misma especie [135], [136], [137], [138]. En estas investigaciones se registró plasticidad ecológica y variación entre algunos de los parámetros poblacionales evaluados. Esta plasticidad y las variaciones interpoblacionales han sido atribuidas a la variabilidad genética [136], [139], ambiental [140], [137], [138] o variabilidad debido a la presencia de especies introducidas [141], [142].

En los últimos años, se han adoptado nuevos enfoques en los estudios poblacionales, tales como la estimación del tamaño de la población [143], [82], o la investigación de estructuras genéticas y morfológicas (mediante métodos cuali-cuantitativos de morfometría geométrica) de poblaciones próximas, pero geográficamente aisladas [144], [43]. Sin embargo, debido a la relevancia de su aporte, en la actualidad las

técnicas tradicionales no han sido abandonadas. Utilizándose como única metodología de análisis, y/o como complemento de otros enfoques [80], [79].

A diferencia de la mayoría de los aéglicos, *Aegla uruguayana* tiene una amplia distribución y poblaciones relativamente grandes [48], [145], [52], [146], [147]. Esta especie se registra en Paraguay, Uruguay, Brasil y Argentina [8], donde se sitúa en las ecorregiones del Delta e Islas del Paraná, Pampa, Espinal y Chaco seco [60]. En Argentina, López Greco y col., [148] realizaron los primeros aportes del conocimiento de la biología reproductiva del taxón. Luego, Viau y col., [99] analizaron el periodo reproductivo y talla de madurez sexual morfológica, gonadal y funcional de esta especie. Otro aspecto estudiado fue la variación de la forma y sus implicancias ecológicas y evolutivas a través de morfometría geométrica por Giri y Collins [147]. También se analizó la madurez sexual y las variaciones ontogenéticas en la forma de este anomuro [149]. Como así también se evaluó el cambio de forma del cefalotórax a lo largo de toda su distribución por Giri y Collins [150]; y las variaciones de forma y tamaño durante el crecimiento [151].

En *Aegla*, la mayor parte de los aportes sobre biología poblacional, o también llamada en algunos casos “historia de vida”, han sido realizados sobre especies de la fauna brasileña y chilena. En Argentina, a pesar de la diversidad de las investigaciones desarrolladas con este grupo taxonómico, actualmente no se ha realizado un estudio integral que incluya el análisis de diferentes parámetros poblacionales. Investigar sobre esta cuestión es de suma importancia, ya que los estudios poblacionales proporcionan información la cual permite conocer la estabilidad ecológica de las especies en un ecosistema determinado y pueden revelar las estrategias y/o los ajustes biológicos y ecológicos utilizados por los organismos frente a su entorno. Teniendo en cuenta estos antecedentes, en el presente capítulo se estudiaron diferentes aspectos biológicos y ecofisiológicos (proporción de sexos, estructura poblacional, periodos de reproducción y reclutamiento, dinámica de desarrollo gonadal, tipo de distribución espacial y densidad poblacional, entre otros) de tres poblaciones naturales de *A. uruguayana*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y origen de los datos

Los ejemplares fueron recolectados en tres ambientes de la cuenca del Plata considerando un gradiente longitudinal y altitudinal. Los sitios muestreados fueron: arroyo "El Espinillo" (31°47'09,16" S y 60°18'57,46" O) provincia de Entre Ríos, arroyo "Del Chupino" (32°30'56,4" S, 60°21'9,4" O) en San Genaro, provincia de Santa Fe y río III "Embalse"-2da Usina (32°13'17,4" S, 64°26'47,2" O) provincia de Córdoba. La altitud de estos sitios fue: 30 msnm en Entre Ríos, 47 msnm en Santa Fe y 661 msnm en Córdoba. Los tres cuerpos de agua a lo largo de su sección longitudinal alternan sitios con velocidad de corriente intensa y zonas de remanso; en estas áreas la profundidad también cambia de acuerdo con el caudal. El caudal fluctúa principalmente por las precipitaciones. Los fondos de los cuerpos de agua se componen de diferentes sustratos, encontrándose la alternancia de rocas y grava de diversos tamaños, y arena (Figura 7).





Figura 7. a) Imagen satelital de los tres sitios de muestreo y detalle de las características de los cuerpos de agua. b) A° El Espinillo. c) A° Del Chupino. d) Río III Embalse

Los parámetros abióticos evaluados fueron: temperatura del agua, oxígeno disuelto, pH, conductividad y altitud. La obtención de los mismos fue realizada en cada sitio mediante sensores digitales (HANNA instruments, Woonsocket, RI, USA). La información sobre las precipitaciones (medias estacionales) de cada región fue extraída de la base de datos “Datos Climáticos Mundiales” [152] (Tabla 1).

Los cangrejos fueron recolectados en cada uno de los sitios mencionados en campañas realizadas por estación (otoño, invierno, primavera y verano), hasta completar un ciclo anual de muestreo.

La metodología de muestreo consistió en el trazado de transectas paralelas a la costa del cuerpo de agua de 50 metros de largo cada una. En cada transecta fue establecido un punto de partida y fue arrojado un cuadrado de 1m² cada 10 metros hasta completar los 50 metros de cada transecta. Cada cuadrado (1m²) fue ubicado aproximadamente a 50 cm de la costa. En cada uno de estos puntos de muestreo (1m²) fue realizada una búsqueda intensiva de cangrejos mediante colecta manual y la utilización de red D (Figura 8).



Figura 8. Cuadrado (1m²) utilizado para muestrear y red D utilizada para capturar los cangrejos en cada ambiente

El número de transectas trazadas en cada sitio de muestreo dependió de las características geomorfológicas y de accesibilidad al cuerpo de agua. De este modo, en Entre Ríos y Córdoba, tres transectas fueron trazadas muestreándose quince puntos en total. En Santa Fe fue realizada una transecta, muestreándose cinco puntos en total.

Los ejemplares capturados en cada campaña fueron transportados vivos a la sala de bioensayos II del INALI, donde fueron mantenidos hasta ser procesados (más detalle en sección “Materiales y Métodos” de esta Tesis de Doctoral).

Muestras

En laboratorio, los cangrejos fueron anestesiados en agua a 1-3°C. Una vez que no mostraban reacción ante estímulos, los individuos fueron rotulados, medidos y pesados (Para más detalle ver “Materiales y Métodos” de esta Tesis Doctoral). Para cada muestreo fue registrado: número de ejemplares (totales y por cuadrado), estadio ontogenético (juveniles y adultos), sexo, estado reproductivo (hembras sin o con huevos), grado de desarrollo gonadal (en adultos de ambos sexos) y se identificó la especie.

Proporción de sexos y proporción de estadios ontogenéticos

La proporción de sexos y estadio ontogenético (juvenil-adulto) fue calculada como el número de machos sobre el número de hembras, y el número de juveniles sobre número de adultos; los valores mayores a 1 indican la proporción de sexos sesgado hacia los machos, y la proporción de estadios sesgada hacia los adultos; por lo contrario, los valores menores a 1 indican la proporción de sexos sesgado hacia las hembras, y la proporción de estadio sesgada hacia los juveniles. La proporción de sexos y estadios fue temporalmente calculada, con el objetivo de dilucidar la actividad de machos-hembras, adultos-juveniles en diferentes periodos (por ejemplo: antes y durante los eventos reproductivos).

Densidad poblacional, patrón espacial y medida de agregación

La densidad poblacional fue estimada como el número de individuos presentes por metro cuadrado. Para determinar el arreglo espacial de la población fue realizado un análisis preliminar utilizando el índice de dispersión, de acuerdo a la siguiente formula:

$$\frac{s^2}{x}$$

En donde: s^2 representa la varianza del número de individuos por metro cuadrado y x representa la media del número de individuos por metro cuadrado [153]. A partir de este resultado la distribución espacial fue analizada mediante distribución Binomial Negativa, de acuerdo a la siguiente formula [153]:

$$\log_e \left(\frac{N}{n_0} \right) = k \log_e \left(1 + \frac{x}{k} \right)$$

En donde: N representa el número total de cuadrados contados, n_0 representa el número de cuadrados con cero individuos, x representa la media del número de individuos por metro cuadrado y k representa el estimador del exponente binomial negativo. El parámetro k es una medida de agregación, y se considera que mientras menor es su valor, mayor será la agregación de los individuos.

Período reproductivo

El período reproductivo fue determinado mediante la observación de hembras ovígeras (hembras con huevos en el interior del abdomen) en la población durante las estaciones muestreadas, mientras que el reclutamiento fue evaluado a través de la observación de especímenes con un LC menor a 8 mm en la población durante las estaciones muestreadas [100], [101], [121].

Fecundidad y esfuerzo reproductivo

Las estimaciones de fecundidad y esfuerzo reproductivo fueron realizadas en base a las hembras ovígeras recolectadas durante el ciclo anual de muestreo. Cada hembra ovígera

fue medida (LC) y pesada (para más detalle ver la sección “Materiales y Métodos” de esta Tesis Doctoral). Los huevos fueron cuidadosamente retirados del abdomen de cada hembra con pincel y colocados en cápsula de Petri de 50 mm, para luego ser contados. Llodra [154] definió la fecundidad como el número total de los descendientes (ovocitos, huevos, embriones, larvas o juveniles) producido por una hembra durante un cierto período de tiempo. En el presente estudio la fecundidad fue calculada como fecundidad realizada relativa (FRR) obtenida como la relación del número de huevos por desove sobre la talla (LC) de la hembra.

Luego de la extracción de los huevos, la masa ovígera y la hembra fueron pesadas para calcular la inversión reproductiva, la cual puede obtenerse de diversas formas. Según López y col., [155] el verdadero esfuerzo reproductivo es usualmente definido como la fracción de energía total orientada a la reproducción. Dada la dificultad de medir esto, la forma habitual de medir la inversión es el esfuerzo reproductivo (RO), el cual fue obtenido como la relación del peso húmedo de la masa ovígera sobre el peso húmedo de la hembra sin huevos, multiplicado por 100, de acuerdo a la siguiente ecuación [156]:

$$RO = \left(\frac{\text{peso húmedo masa ovígera}}{\text{peso húmedo hembra sin huevos}} \right) \times 100$$

Posteriormente, diez huevos por cada hembra fueron aislados aleatoriamente y fotografiados con cámara fotográfica digital (Canon EOS rebel t2i) adherida a una lupa utilizando escala milimétrica (Figura 9). Los largos del eje mayor y menor de cada huevo fueron medidos con el programa TpsDig2 [157] (Figura 10). El volumen de los huevos (VH) fue calculado de acuerdo a la siguiente formula:

$$VH = \frac{1}{6(a \times b \times \pi)}$$

Donde; *a* - representa al eje menor y *b* - al eje mayor del huevo [158].

Los huevos fueron clasificados de acuerdo al estadio de desarrollo embrionario. Esta determinación fue realizada en base a una adaptación del criterio de clasificación propuesto por Bueno y Shimizu [100], el cual abarca tres estadios de desarrollo embrionario: El) huevos tempranos: vitelo uniforme que ocupa más del 80% del volumen del huevo. Embrión

sin desarrollo de ojos compuestos; EII) huevos intermedios: vitelo que ocupa del 50% - 80% del volumen del huevo. Embrión con desarrollo de ojos compuestos, esbozos de pleópodos y corazón bombeando; y EIII) huevos finales: vitelo que ocupa menos del 50% del volumen del huevo, con embriones claramente reconocibles (se observa abdomen y pleópodos segmentados) (Figura 11).

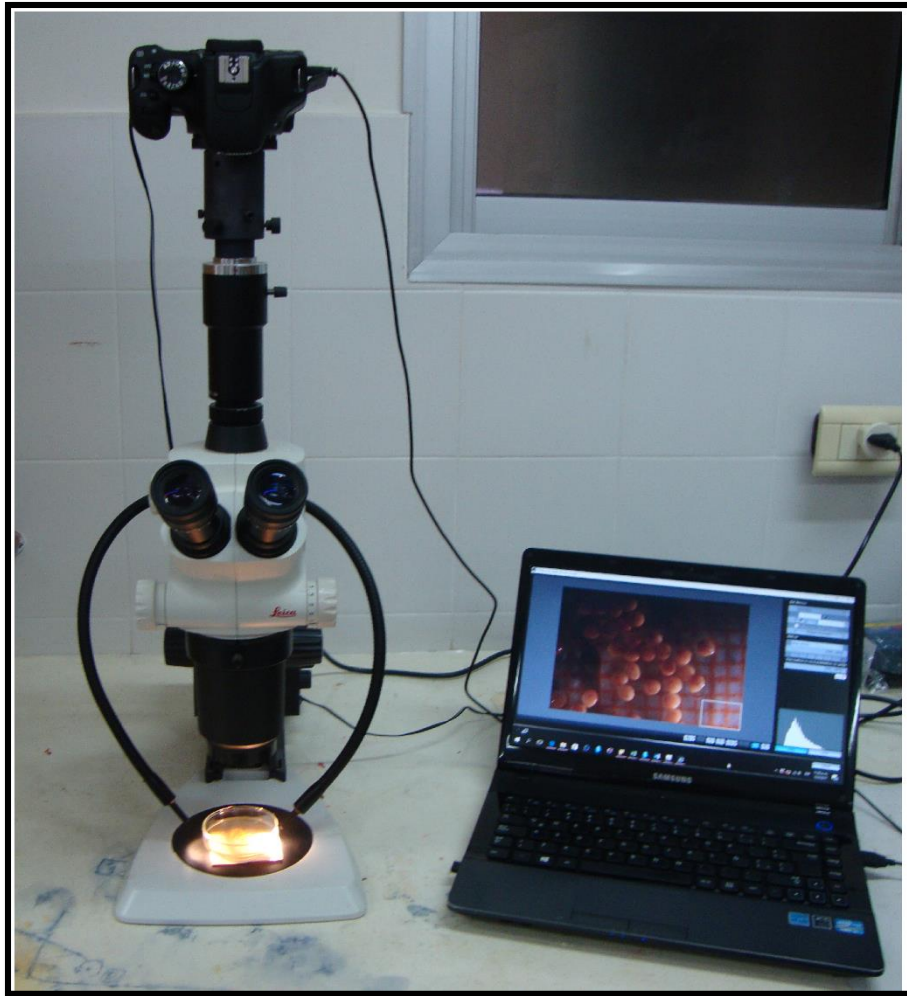


Figura 9. Toma de fotografías de huevos de *Aegla uruguayana*



Figura 10. Dimensiones medidas en huevos de *Aegla uruguayana*: *a.* eje menor y *b.* eje mayor

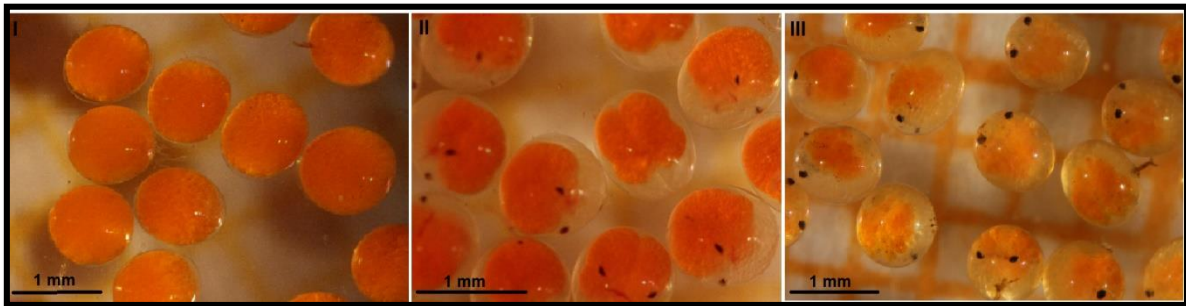


Figura 11. Estadios de desarrollo embrionario en *Aegla uruguayana*: EI) huevos tempranos, EII) huevos intermedios y EIII) huevos finales

Desarrollo gonadal

La dinámica de desarrollo gonadal del sistema reproductor de las hembras y machos, fue evaluada mediante dos procedimientos: 1) observación y clasificación macroscópica de las gónadas, y 2) cálculo de índices gonadosomático y hepatosomático. Para ello, diez individuos adultos de cada sexo fueron seleccionados al azar en cada muestreo, a excepción de las estaciones en que no se llegó a capturar esa cantidad de machos y hembras. En esos casos, fueron analizados todos los adultos muestreados. Las hembras ovígeras no fueron incluidas en estos análisis. Luego de la toma de datos (talla, peso, sexo)

los cangrejos anestesiados fueron disecados mediante la remoción del cefalotórax y apoyados sobre un campo de hielo molido en placa de Petri de 50 mm. La gónada fue evaluada mediante observación directa elaborando una caracterización macroscópica. Luego, el sistema reproductor completo (ovarios o testículos y vasos deferentes) y el hepatopáncreas fueron suavemente extraídos y pesados. Los índices gonadosomático (IG) y hepatosomático (IHP) fueron calculados de acuerdo a la fórmula $ITS = (\text{peso húmedo del tejido} / \text{peso húmedo total}) \times 100$ [159], [160]. Es decir,

$$IG = \frac{\text{peso húmedo gónada}}{\text{peso húmedo total}} \times 100$$

$$IHP = \frac{\text{peso húmedo hepatopáncreas}}{\text{peso húmedo total}} \times 100$$

El sistema reproductor de los cangrejos fue observado y caracterizado macroscópicamente de acuerdo a una adaptación de la propuestas de Sokolowicz y col., [161] y Bueno y Shimizu [100]. Para ello se tuvo en cuenta la presencia, color, tamaño y ubicación de las gónadas.

Sistema reproductor de las hembras

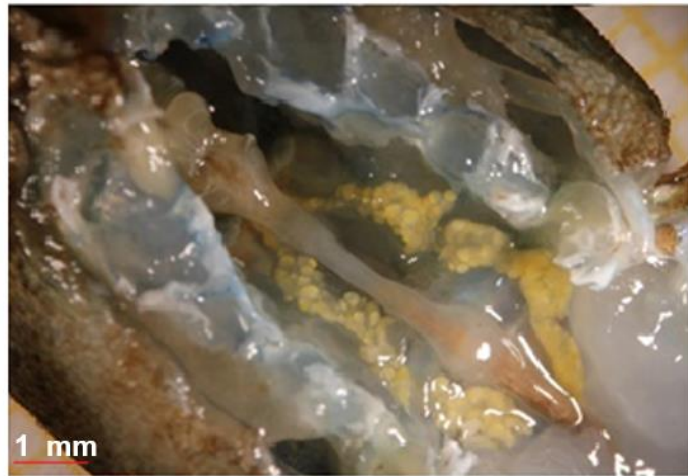
En las hembras, primero fue observado y fotografiado (Canon EOS rebel t2i) el ovario mediante observación directa en la región ventral. Luego bajo lupa, mediante disección de la región ventral. El grado de desarrollo ovárico fue determinado de acuerdo a una adaptación de la propuesta de Bueno y Shimizu [100], la cual se basa principalmente en la extensión, tamaño y color de los lóbulos posteriores del ovario en relación con el correspondiente par de pleópodos abdominales como referencia visual. Cuando los lóbulos del ovario difirieron en su extensión fue considerado el lado más desarrollado. Las hembras con gónadas maduras fueron identificadas como aquellas que presentaron estadios de desarrollo gonadal II, III y IV (ver a continuación). El estadio I según Bueno y Shimizu [100] indica que esas hembras no se están reproduciendo. De este modo, las gónadas de las hembras fueron clasificadas en 4 estadios de desarrollo macroscópico, a saber (Figura 12):

-ESTADIO I: Comienzan a observarse los lóbulos (débilmente visible uno o ambos lóbulos en la porción proximal del pleon), pequeños, color beige/naranja pálido. Los lóbulos anteriores se encuentran en el centro del cefalotórax y los lóbulos posteriores llegan al primer par de pleópodos abdominales (no llegan al 2 par).

-ESTADIO II: Los lóbulos son visibles, de color naranja/amarillento (diferentes gamas). Los lóbulos anteriores se sientan detrás del estómago y los lóbulos posteriores, llegan al primer/segundo par de pleópodos abdominales.

-ESTADIO III: Los lóbulos son bien visibles, de color naranja (diferentes gamas). Los lóbulos anteriores surgen desde atrás del estómago y los posteriores a menudo son más amplios que los anteriores llegando al primer/segundo/tercer par de pleópodos. Es común encontrar ovarios de remaduración, que se caracterizan por presentar el tejido desorganizado y reabsorción celular.

-ESTADIO IV: Los lóbulos son bien visibles de color naranja intenso/rojo (diferentes gamas). Los lóbulos son más anchos que en los estadios anteriores y pueden llegar hasta el tercer/o más par de pleópodos. Se observan oocitos en la última etapa de desarrollo (células grandes, con citoplasma lleno de vitelo, lo que le da una coloración intensa). La ovoposición es inminente.



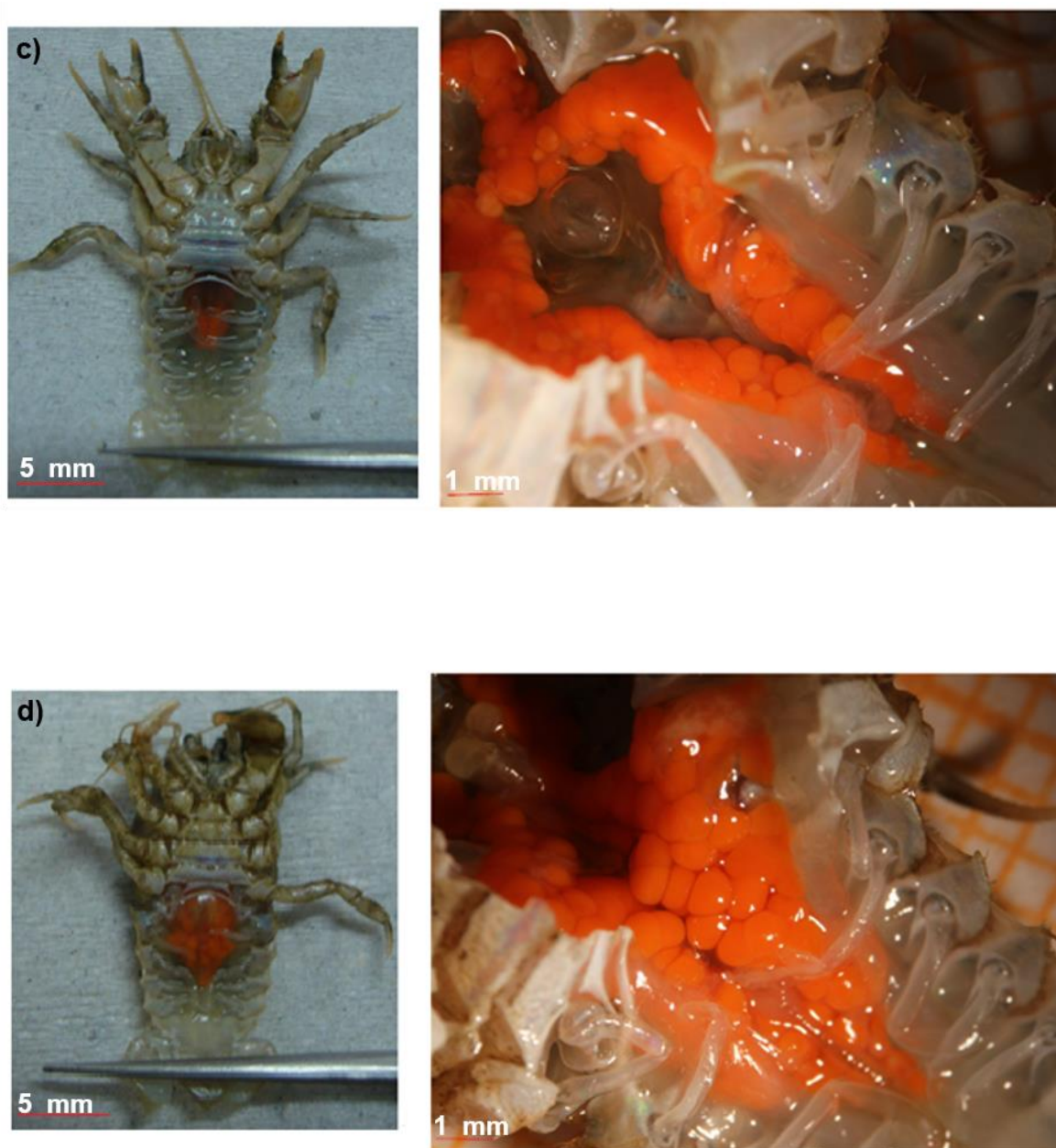


Figura 12. Estadios de desarrollo macroscópico de los ovarios de *Aegla uruguayana*. Las imágenes de la izquierda son fotografías de la región ventral (observación directa) y las imágenes de la derecha son fotografías de la región ventral (bajo lupa) de los mismos organismos disecados. a) Estadio I; b) Estadio II; c) Estadio III; d) Estadio IV

Sistema reproductor de los machos

En los machos fue observado y esquematizado el sistema reproductor completo. La etapa de desarrollo gonadal fue determinada de acuerdo a una adaptación de las propuestas de Sokolowicz y col., [161] y Bueno y Shimizu [100], las cuales se basan principalmente en el grado de diferenciación entre testículo (T) y vaso deferente (VD), y el tamaño y grado de dilatación entre las partes del vaso deferente. De este modo, según el grado de desarrollo macroscópico, las gónadas de los machos fueron clasificadas en 3 tipos, a saber (Figura 13):

- TIPO I: Los testículos apenas se pueden distinguir del vaso deferente, ambas estructuras tienen el mismo ancho y la misma textura. El lobulado testicular y el vaso deferente están poco desarrollados.

- TIPO II: Los testículos se diferencian del vaso deferente (por el ancho y la textura). El lobulado testicular se encuentra un poco más desarrollado, y son visibles las diferentes partes del vaso deferente, el cual nunca se encuentra dentro del pleón, sino que se encuentra restringido al cefalotórax.

- TIPO III: Se distingue bien el testículo del vaso deferente (por el ancho y la textura), siendo este último mucho más ancho. Son bien visibles las partes del vaso deferente (anterior, medio y posterior), presentando estrangulaciones (partes visiblemente más delgadas) entre las diferentes secciones. La parte media del vaso deferente puede estar mucho más dilatada (gran hinchazón) que el resto. Parte del vaso deferente puede encontrarse dentro del pleón.

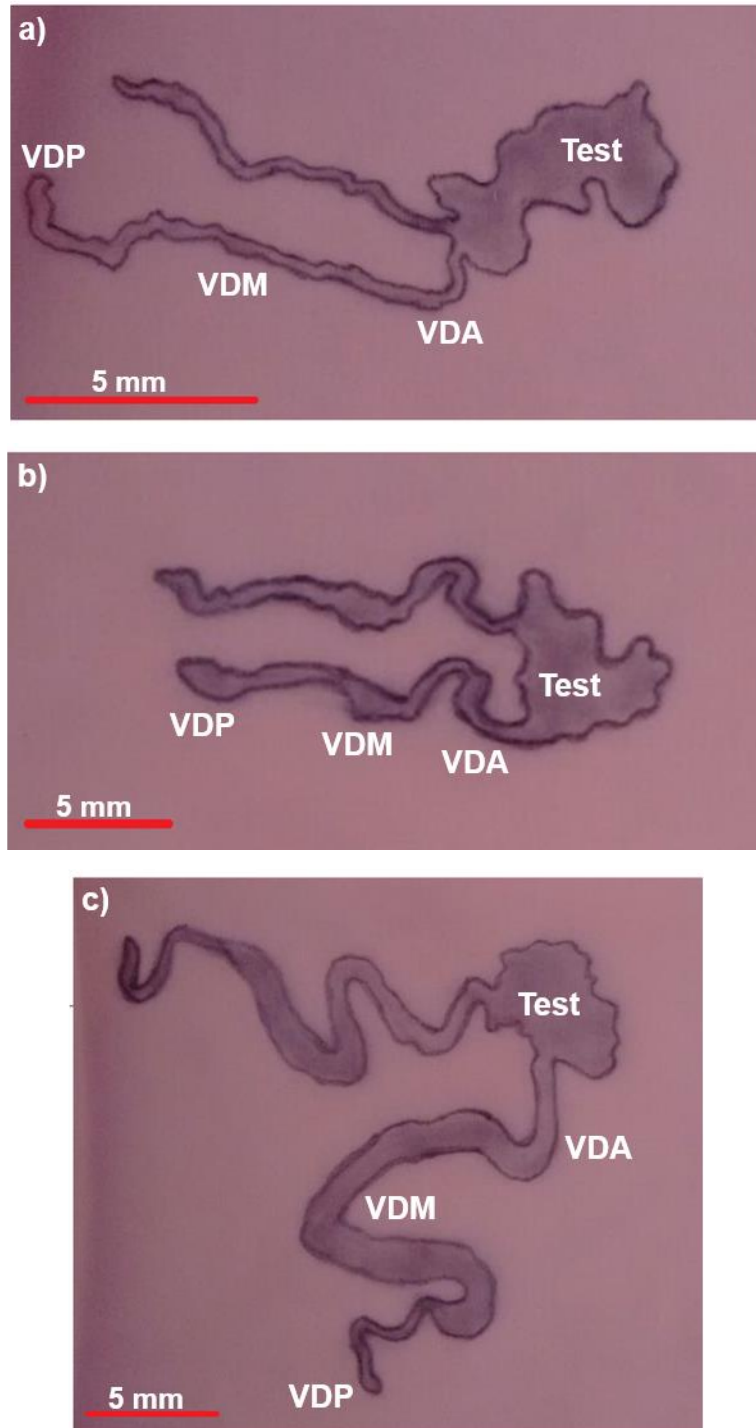


Figura 13. Esquema ilustrativo de los diferentes tipos de desarrollo macroscópicos de las gónadas de machos de *Aegla uruguayana*: a) Tipo I; b) Tipo II; c) Tipo 3. En las cuales: Test (testículos), VDA (vaso deferente anterior), VDM (vaso deferente medio) y VDP (vaso deferente posterior) (Esquema modificado de Sokolowicz y col., 2007)

Senescencia

La disminución del rendimiento reproductivo con el aumento de la edad en hembras (senescencia) [162] fue evaluada mediante un análisis exploratorio de gráficos con hembras ovígeras y hembras con gónadas bien desarrolladas (estadios II, III y IV) distribuidas por clases de tamaño (LC). Después de la primera reproducción, puede haber un patrón de cambios degenerativos, por ejemplo: modificaciones en la estructura, fisiología y comportamiento [163]. Estos cambios pueden estar relacionados con las estructuras somáticas y/o la acumulación de mutaciones, lo cual puede reflejarse en la fisiología de la reproducción [162], [163].

Remaduración ovárica

La remaduración ovárica fue evaluada a través de un análisis exploratorio realizado durante un periodo reproductivo con hembras ovígeras de Entre Ríos. Estas hembras fueron capturadas en muestreos adicionales realizados en junio y julio, y trasladadas vivas al INALI. En cada ejemplar fue identificado el grado de desarrollo embrionario de la masa ovígera, algunos de los cuales fueron mantenidos en laboratorio hasta alcanzar un determinado estadio. De este modo, las hembras fueron clasificadas en cuatro estadios: H₁ (con huevos tempranos), H₂ (con huevos intermedios), H₃ (inmediatamente finalizada la eclosión) y H₄ (un mes luego de la eclosión). Los huevos que se encontraban en el estadio H₁ y H₂ fueron retirados del abdomen de las hembras, y colocados cápsula de Petri de 50 mm para ser contados y pesados. Diez huevos por cada hembra fueron aislados aleatoriamente y fotografiados. Finalmente, las hembras (de todos los estadios) fueron críoanesteciadas, medidas, pesadas, disecadas y fotografiado el ovario (más detalle en párrafos anteriores).

La fecundidad (FRR), el esfuerzo reproductivo (RO), y el volumen de los huevos (VH) fueron calculados para los estadios H₁ y H₂ (más detalle en párrafos anteriores donde se detallan estos procedimientos).

Análisis de los datos

Los parámetros poblacionales fueron analizados teniendo en cuenta diferentes criterios de agrupación, entre los cuales se consideraron: el total de los cangrejos capturados durante el ciclo anual y/o por estación; y/o según el estadio ontogenético (juveniles-adultos), y/o el sexo (machos-hembras).

La homogeneidad y normalidad de los datos fueron determinadas mediante análisis exploratorios de Shapiro-Wilk y Levene. Considerando los resultados en la prueba de los supuestos se realizaron analisis estadisticos parametricos o no parametricos de acuerdo a la aceptacion o rechazo de los supuestos.

Inicialmente, el tamaño mínimo, máximo, medio y desvió estándar del LC de los animales capturados fue determinado. Seguidamente, los valores medios de LC de machos y hembras fueron comparados intrapoblacionalmente mediante una prueba de Mann-Whitney. Los valores medios de LC de machos, hembras y juveniles fueron comparados interpoblacionalmente a través de ANOVA con posttest de Tukey-Kramer, y mediante análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis con posttest de Duun.

Para contrastar si las proporciones observadas de sexos y estadio ontogenético diferían de las proporciones esperadas de 1: 1 fue realizada una prueba de Chi- Cuadrado.

El período reproductivo y el reclutamiento fueron estimados cualitativamente a través de la proporción de hembras ovígeras y reclutas. Posteriormente fueron comparados intrapoblacionalmente mediante una prueba de Chi-Cuadrado.

La fecundidad y el esfuerzo reproductivo fueron comparados intrapoblacionalmente e interpoblacionalmente a través de ANOVA. En estos análisis fueron utilizadas las hembras que contenían huevos en estadio EI y EII de desarrollo embrionario, debido a que los crustáceos tienden a perder huevos durante el proceso de incubación [100], [164]. Para los análisis posteriores, fueron utilizadas las hembras que contenían huevos en los tres estadios de desarrollo embrionario. La relación entre el largo del cefalotórax y la fecundidad y fertilidad fue analizada mediante regresiones. La pérdida potencial de huevos durante el periodo de incubación fue evaluada mediante ANOVA. Los valores medios del volumen de los huevos de los diferentes estadios de desarrollo embrionario fueron comparados intrapoblacionalmente mediante análisis no paramétrico de Man-Whitney y Kruskal-Wallis con posttest de Dunn. Las comparaciones interpoblacionales fueron realizadas a través de ANOVA con posttest de Tukey-Kramer, y mediante análisis no paramétrico de Man-Whitney.

Los valores de los índices gonadosomático (IG) y hepatosomático (IHP) de machos y hembras fueron comparados mediante ANOVA con posttest de Tukey-Kramer, y a través de análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis con posttest de Duun. En todos los casos, ya sea para los análisis intrapoblacionales o interpoblacionales, los valores de IG y IHP fueron evaluados por separado.

En la evaluación del grado de desarrollo gonadal en función del IG y el IHP las hembras y los machos de los tres sitios de muestreo fueron agrupados. Los valores de IG y IHP fueron comparados mediante ANOVA y a través de análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis con posttest de Duun.

El análisis estadístico fue realizado con el software R [165]. En todos los casos, el valor $p < 0,05$ fue utilizado como criterio de significancia estadística [166].

RESULTADOS

Durante el ciclo anual de muestreo, el rango de temperatura del agua en Entre Ríos fue estrecho (2,6 °C), mientras que en los otros sitios analizados fue amplio (11,2 °C Santa Fe y 15,9 °C Córdoba). La concentración de oxígeno disuelto fue más alta durante el invierno en Córdoba y el otoño en Entre Ríos y Santa Fe, mientras que los valores más bajos se registraron en verano en Córdoba, y primavera en Entre Ríos y Santa Fe. En los tres sitios los valores de pH se mantuvieron relativamente estables en general, mientras que la conductividad varió sin un patrón regular. En cuanto a las precipitaciones, los tres sitios presentaron el mismo patrón: un periodo más seco (otoño e invierno) y un periodo más húmedo (primavera y verano). El resto de los parámetros analizados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Valores estacionales de los parámetros abióticos tomados en campo en cada sitio de muestreo: Entre Ríos (ER), Santa Fe (SF) y Córdoba (CD). Los valores de las precipitaciones corresponden a las medias estacionales (mm) de los datos históricos de cada sitio

ESTACIÓN DEL AÑO	Sitio	Precipitación mm	Temp. °C	pH	Cond. µS/cm	Oxig. Dis. ppm
Otoño	ER	63,67	21,40	8,80	355	7,89
	SF	55,67	9,80	8,50	5000	9,74
	CD	26,00	15,50	7,47	474	11,80
Invierno	ER	44,00	21,10	9,35	1069	12,12
	SF	36,00	8,60	9,15	5000	12,01
	CD	16,00	11,00	9,89	350	9,94
Primavera	ER	96,67	22,10	9,38	574	4,30
	SF	102,00	19,80	7,06	5000	6,78
	CD	92,33	11,00	9,89	350	9,94
Verano	ER	125,67	24,00	8,41	1011	7,19
	SF	125,00	19,80	7,00	623	8,47
	CD	89,00	26,90	7,30	312,4	8,22

Muestras

Durante el ciclo anual de muestreo, el total de cangrejos capturados en Entre Ríos fue 188; de los cuales 137 fueron juveniles, 30 hembras y 21 machos (Tabla 2) (Figura 14). El rango de LC de los machos fue de 11,60 y 25,45 mm, mientras que el de las hembras fue de 12,29 a 18,06 mm, por último el de los juveniles fue de 3,30 a 11,30 mm (Tabla 3). Mientras que en Santa Fe, el total de cangrejos estudiados fue de 215; de los cuales 152 fueron juveniles, 28 hembras y 35 machos (Tabla 4) (Figura 14). El rango de LC de los machos fue de 11,75 y 20,63 mm, mientras que el de las hembras fue de 11,70 a 16,54 mm, por último el de los juveniles fue de 2,37 a 11,43 mm (Tabla 3). En Córdoba, el total de cangrejos capturados fue de 402; de los cuales 126 fueron juveniles, 128 hembras y 148 machos (Tabla 5) (Figura 14). El rango de LC de los machos fue de 11,56 y 32,60 mm, mientras que el de las hembras

oscilo de 11,56 a 23,07 mm, por último el de los juveniles fue de 3,48 a 11,44 mm (Tabla 3).

Los cangrejos adultos (machos y hembras) de mayor tamaño fueron encontrados en Córdoba, seguidos por los de Entre Ríos y los de menor tamaño se encontraron en Santa Fe. El LC medio de los adultos fue significativamente diferente entre los sitios (ER-SF y CD-SF; $p < 0,05$) (Tabla 3). Los cangrejos juveniles de mayor tamaño fueron encontrados en Córdoba, seguidos por los de Santa Fe y los de menor tamaño en Entre Ríos. Los LC medios de los juveniles fue significativamente diferente entre los sitios (CD-ER y CD-SF; $p < 0,05$) (Tabla 3).

Tabla 2. Número de cangrejos machos, hembras y juveniles *Aegla uruguayana* capturados en cada estación del año en el arroyo “El Espinillo” en Entre Ríos

ESTACIÓN DEL AÑO	ESTADIO Y SEXO			
	Machos	Hembras	Juveniles	TOTAL
Otoño	8	23	22	53
Invierno	8	2	4	14
Primavera	2	3	25	30
Verano	3	2	86	91
TOTAL	21	30	137	188

Tabla 4. Número de cangrejos machos, hembras y juveniles *Aegla uruguayana* capturados en cada estación del año en el arroyo “Del Chupino” en Santa Fe

ESTACIÓN DEL AÑO	ESTADIO Y SEXO			
	Machos	Hembras	Juveniles	TOTAL
Otoño	15	5	16	36
Invierno	13	13	4	30
Primavera	4	5	102	111
Verano	3	5	30	38
TOTAL	35	28	152	215

Tabla 5. Número de cangrejos machos, hembras y juveniles *Aegla uruguayana* capturados en cada estación del año en el río III “Embalse” en Córdoba

ESTACIÓN DEL AÑO	ESTADIO Y SEXO			
	Machos	Hembras	Juveniles	TOTAL
Otoño	59	52	34	145
Invierno	15	18	8	41
Primavera	51	46	15	112
Verano	23	12	69	104
TOTAL	148	128	126	402

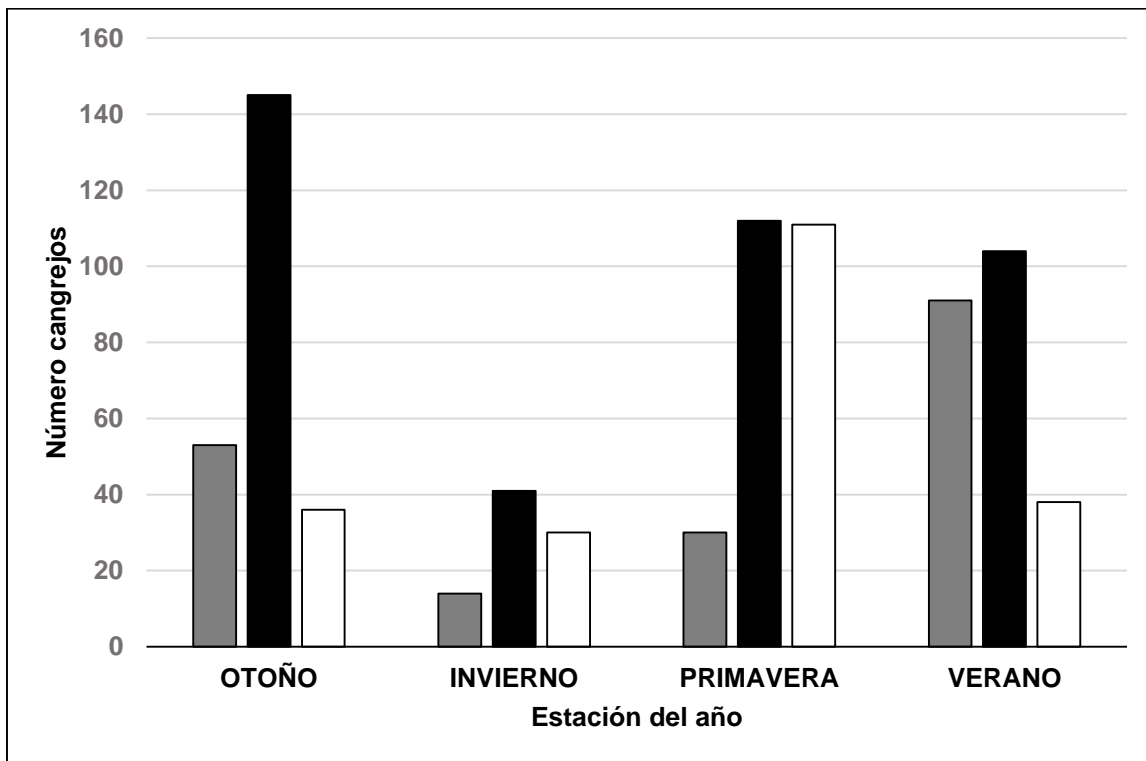


Figura 14. Número de cangrejos *Aegla uruguayana* capturados en cada estación del año en los tres cuerpos de agua; Entre Ríos (gris), Santa Fe (negro) y Córdoba (blanco)

Tabla 3. Medidas descriptivas (mínimo, máximo, media y desvió estándar del LC) de machos, hembras y juveniles de *Aegla uruguayana* capturados durante el ciclo anual en cada uno de los sitios analizados: Entre Ríos (ER), Santa Fe (SF) y Córdoba (CD). Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el LC de los cangrejos. Las letras mayúsculas se refieren a comparaciones intrapoblacionales del LC de machos y hembras, y las letras en minúscula se refieren a comparaciones interpoblacionales del LC de machos, hembras y juveniles

Sitio	Sexo/estadio	Media \pm SD LC (mm)	Mínimo LC (mm)	Máximo LC (mm)
ER	Macho	16,81 \pm 4,20Aa	11,61	25,45
	Hembra	14,83 \pm 1,70Aa	12,29	18,06
	Juvenil	6,92 \pm 2,35a	3,30	11,30
SF	Macho	14,36 \pm 2,15Ab	11,75	20,63
	Hembra	13,38 \pm 1,30Bb	11,70	16,54
	Juvenil	6,30 \pm 2,32a	2,37	11,43
CD	Macho	17,23 \pm 4,09Aa	11,56	32,60
	Hembra	16,07 \pm 2,79Ba	11,56	23,07
	Juvenil	7,64 \pm 2,61b	3,48	11,44

Proporción de estadios ontogenéticos y proporción de sexos

La proporción anual entre juvenil-adulto fue de 1:0,37, 1:0,41 y 1:2,19 en Entre Ríos, Santa Fe y Córdoba respectivamente. En los tres sitios esta proporción presentó diferencias estadísticamente significativas (Chi-cuadrado, $p > 0,05$), estando sesgada hacia los juveniles en Entre Ríos y Santa Fe, mientras que en Córdoba el sesgo fue hacia los adultos.

La proporción anual entre los sexos fue de 0,70:1 machos por cada hembra en Entre Ríos, 1,25:1 machos por cada hembra en Santa Fe y 1,16:1 machos por cada hembra en Córdoba. En los tres sitios analizados la proporción de sexos no presento diferencias estadísticamente significativas (Chi-cuadrado, $p > 0,05$).

En Entre Ríos la proporción entre adulto-juvenil fue significativa (Chi-cuadrado, $p < 0,05$) en primavera y verano, estando sesgada hacia los juveniles. En Santa Fe la proporción entre adulto-juvenil fue significativa (Chi-cuadrado, $p < 0,05$) estando sesgada hacia los juveniles en primavera y verano; y en invierno hacia los adultos. En Córdoba la proporción entre adulto-juvenil fue significativa (Chi-cuadrado, $p < 0,05$) en todas las estaciones, estando sesgada hacia los adultos en otoño, invierno y primavera; y hacia los juveniles en verano (Figura 15).

En Entre Ríos la proporción de sexos fue significativa (Chi-cuadrado, $p < 0,05$) en otoño estando sesgada hacia las hembras, y en invierno estando sesgada hacia los machos. En el resto de las estaciones no se observaron diferencias significativas (Chi-cuadrado, $p > 0,05$). En Santa Fe la proporción de sexos fue significativa (Chi-cuadrado, $p < 0,05$) en otoño estando sesgada hacia los machos y en verano, estando sesgada hacia las hembras. En el resto de las estaciones no se observaron diferencias significativas (Chi-cuadrado, $p > 0,05$). En Córdoba la proporción de sexos no presentó diferencias significativas (Chi-cuadrado, $p > 0,05$) en ninguna de las estaciones (Figura 16).

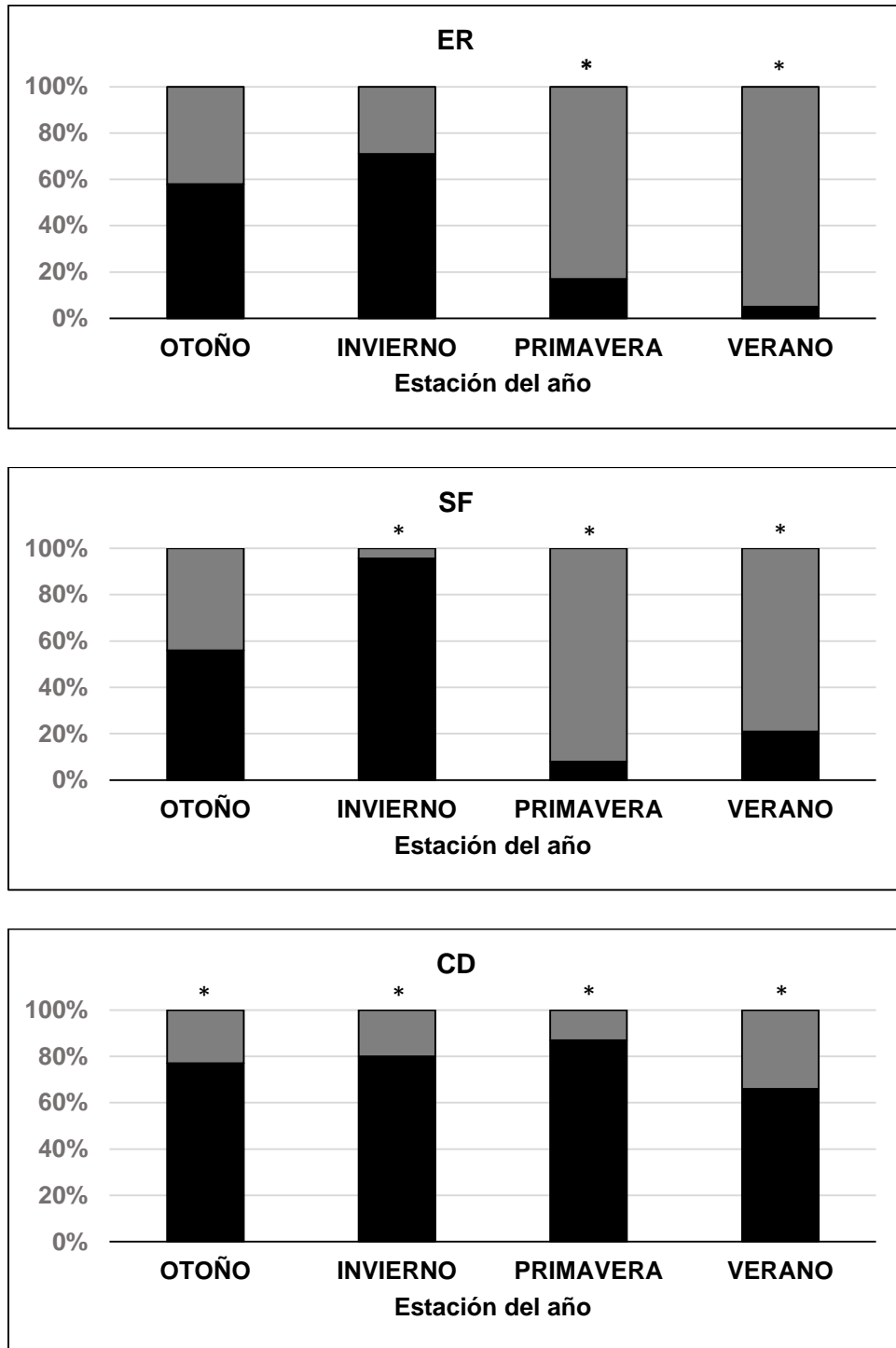


Figura 15. Frecuencia relativa estacional de juveniles (gris) y adultos (negro) *Aegla uruguayana* de los sitios analizados: Entre Ríos (ER), Santa Fe (SF) y Córdoba (CD). Los asteriscos (*) indican diferencias estadísticamente significativas (Chi-cuadrado, $p < 0,05$) entre los estadios ontogenéticos

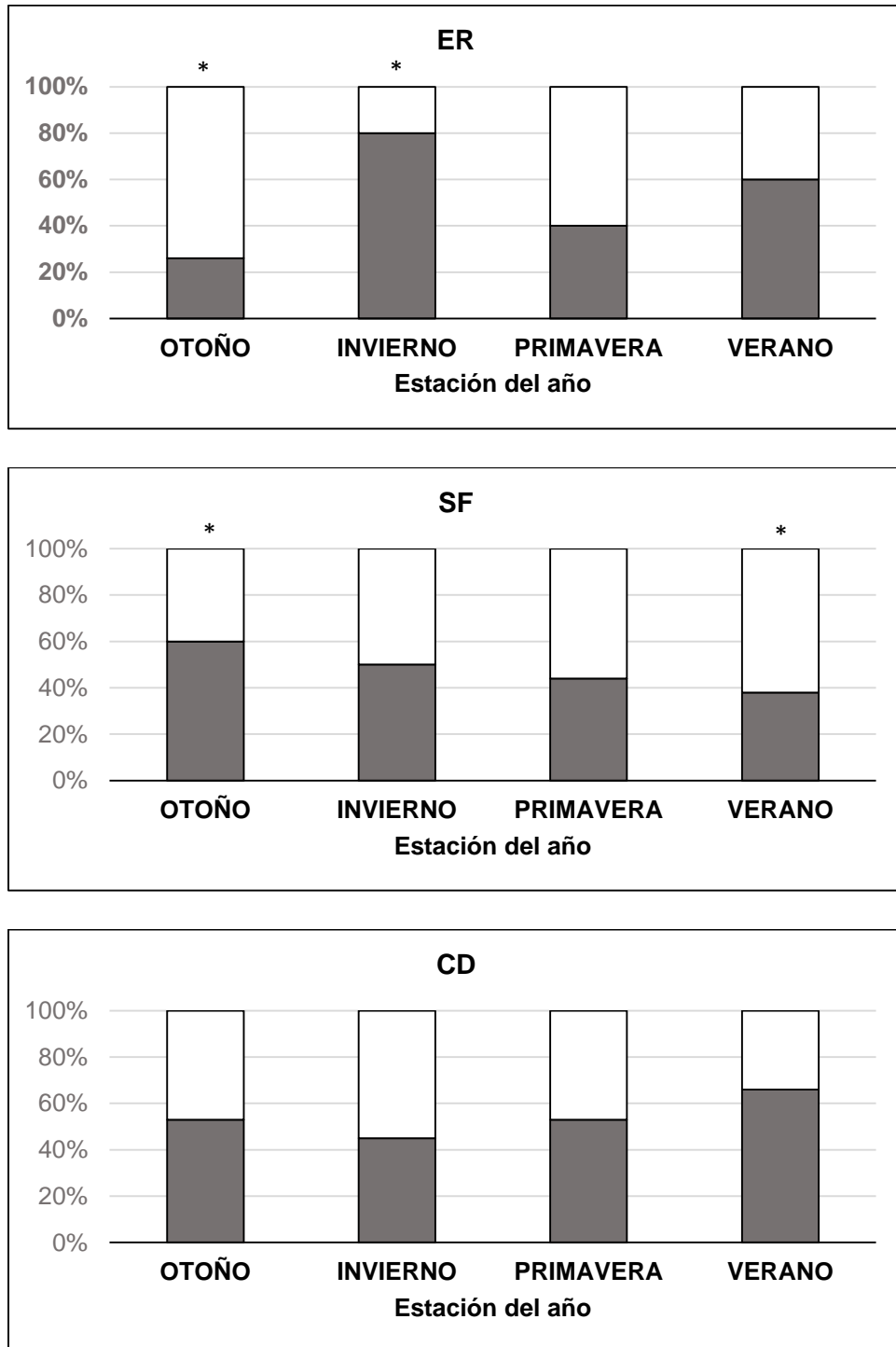


Figura 16. Frecuencia relativa estacional de machos (gris) y hembras (blanco) *Aegla uruguayana* de los sitios analizados: Entre Ríos (ER), Santa Fe (SF) y Córdoba (CD). Los asteriscos (*) indican diferencias estadísticamente significativas (Chi-cuadrado, $p < 0,05$) entre los sexos

Densidad poblacional

La densidad poblacional total, en la cual fueron incluidos todos los cangrejos (adultos de ambos sexos y juveniles) capturados durante el ciclo anual fue de: 3,13 ind/m², 10,75 ind/m² 6,70 ind/m² en Entre Ríos, Santa Fe y Córdoba respectivamente (Tabla 6). La población de Entre Ríos tuvo la mayor densidad en verano, mientras que en Santa Fe y Cordoba los mayores valores correspondieron al otoño y primavera respectivamente (Figura 17).

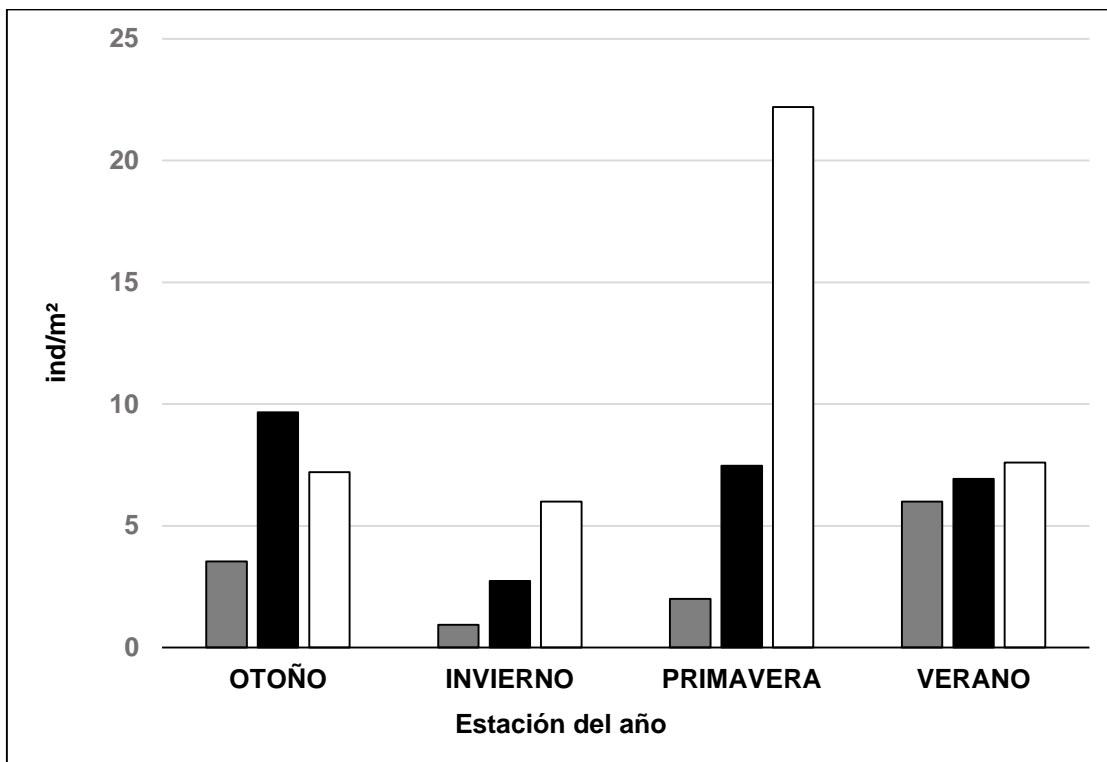


Figura 17. Densidad de cangrejos (ind/m²) *Aegla uruguayana* capturados en cada estación del año en los tres cuerpos de agua analizados: Entre Ríos (gris), Santa Fe (negro) y Córdoba (blanco)

Tabla 6. Número de cangrejos (ind/m²) *Aegla uruguayana* juveniles y adultos (ambos sexos) capturados por estación del año en cada uno de las tres poblaciones analizadas: a) Entre Ríos, b) Santa Fe y c) Córdoba

a) ESTADIO Y SEXO	Ind/m ² EN CADA ESTACIÓN DEL AÑO			
	OTOÑO	INVIERNO	PRIMAVERA	VERANO
HEMBRA	1,53	0,13	0,20	0,13
MACHO	0,53	0,53	0,13	0,20
JUVENIL	1,46	0,27	1,66	5,73

b) ESTADIO Y SEXO	Ind/m ² EN CADA ESTACIÓN DEL AÑO			
	OTOÑO	INVIERNO	PRIMAVERA	VERANO
HEMBRA	1,00	2,60	1,00	1,00
MACHO	1,00	2,60	0,80	0,60
JUVENIL	3,20	0,80	20,40	6,00

c) ESTADIO Y SEXO	Ind/m ² EN CADA ESTACIÓN DEL AÑO			
	OTOÑO	INVIERNO	PRIMAVERA	VERANO
HEMBRA	3,47	1,2	3,07	0,8
MACHO	3,93	1,00	3,40	1,53
JUVENIL	2,27	0,53	1,00	4,60

Patrón espacial

En las cuatro estaciones del año, las tres poblaciones de *A. uruguayana* presentaron un patrón espacial de tipo contagioso. En todos los casos el valor del índice fue mayor a uno, en tanto que la probabilidad de encontrar un individuo cercano a otro es alta (Tabla 7).

Tabla 7. Valor estacional del índice de dispersión (s^2/x) en cada población analizada: Entre Ríos (ER), Santa Fe (SF) y Córdoba (CD)

Estación del año	Índice de dispersión (S^2/x) en cada población		
	ER	SF	CD
OTOÑO	17,48	3,08	4,47
INVIERNO	5,58	2,75	5,20
PRIMAVERA	15,92	20,21	2,66
VERANO	28,19	5,83	21,60

Medida de agregación

La mayor agregación ocurrió en primavera en las poblaciones de Entre Ríos y Santa Fe, mientras que en Córdoba los mayores valores de agregación correspondieron al invierno (Tabla 8).

Tabla 8. Valor estacional del parámetro K en cada población analizada: Entre Ríos (ER), Santa Fe (SF) y Córdoba (CD)

Estación del año	Parámetro K en cada población		
	ER	SF	CD
OTOÑO	1,08	0,66	0,60
INVIERNO	0,11	0,80	0,11
PRIMAVERA	0,03	0,42	0,82
VERANO	0,05	0,70	0,57

Período reproductivo

En Entre Ríos, del total de hembras capturadas (30) seis fueron ovígeras (20%), las cuales portaban huevos en estadios intermedio (EII) y finales (EIII). Las ovígeras se registraron en otoño e invierno, con mayor ocurrencia en otoño, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). La hembra ovígera de menor tamaño tuvo un LC de 15,05 mm y portaba 38 huevos, mientras que la de mayor talla 19,04 mm tuvo 178 huevos (Figura 18). Los reclutas estuvieron presentes en tres estaciones del año, con el número más alto encontrado en verano. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas entre las estaciones ($p < 0,05$) (Figura 19).

En Santa Fe, del total de hembras capturadas (28) nueve fueron ovígeras (32,14%), las cuales portaban huevos en estadios iniciales (EI) e intermedios (EII). Los nueve eventos se registraron en otoño e invierno, con mayor ocurrencia en esta última estación. Estas diferencias no fueron significativas ($p > 0,05$). La hembra ovígera de menor tamaño tuvo un LC de 11,31 mm y portaba 143 huevos, mientras que la de mayor talla 14,61 mm tuvo 198 huevos (Figura 18). Los reclutas estuvieron presentes en tres estaciones del año, con el número más alto encontrado en primavera. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas entre las estaciones ($p < 0,05$) (Figura 19).

En Córdoba del total de hembras capturadas (128) diecisiete fueron ovígeras (13,28%), las cuales llevaban huevos en estadios temprano (EI), intermedios (EII) y finales (EIII). Las ovígeras se registraron durante todas las estaciones del año, con mayor ocurrencia en otoño y primavera, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). La hembra ovígera de menor tamaño tuvo un LC de 14,73 mm y portaba 186 huevos, mientras que la de mayor talla 22,18 mm tuvo 549 huevos (Figura 18). Los reclutas estuvieron presentes en todas las estaciones del año, con el número más alto encontrado en verano. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas entre las estaciones ($p < 0,05$) (Figura 19).

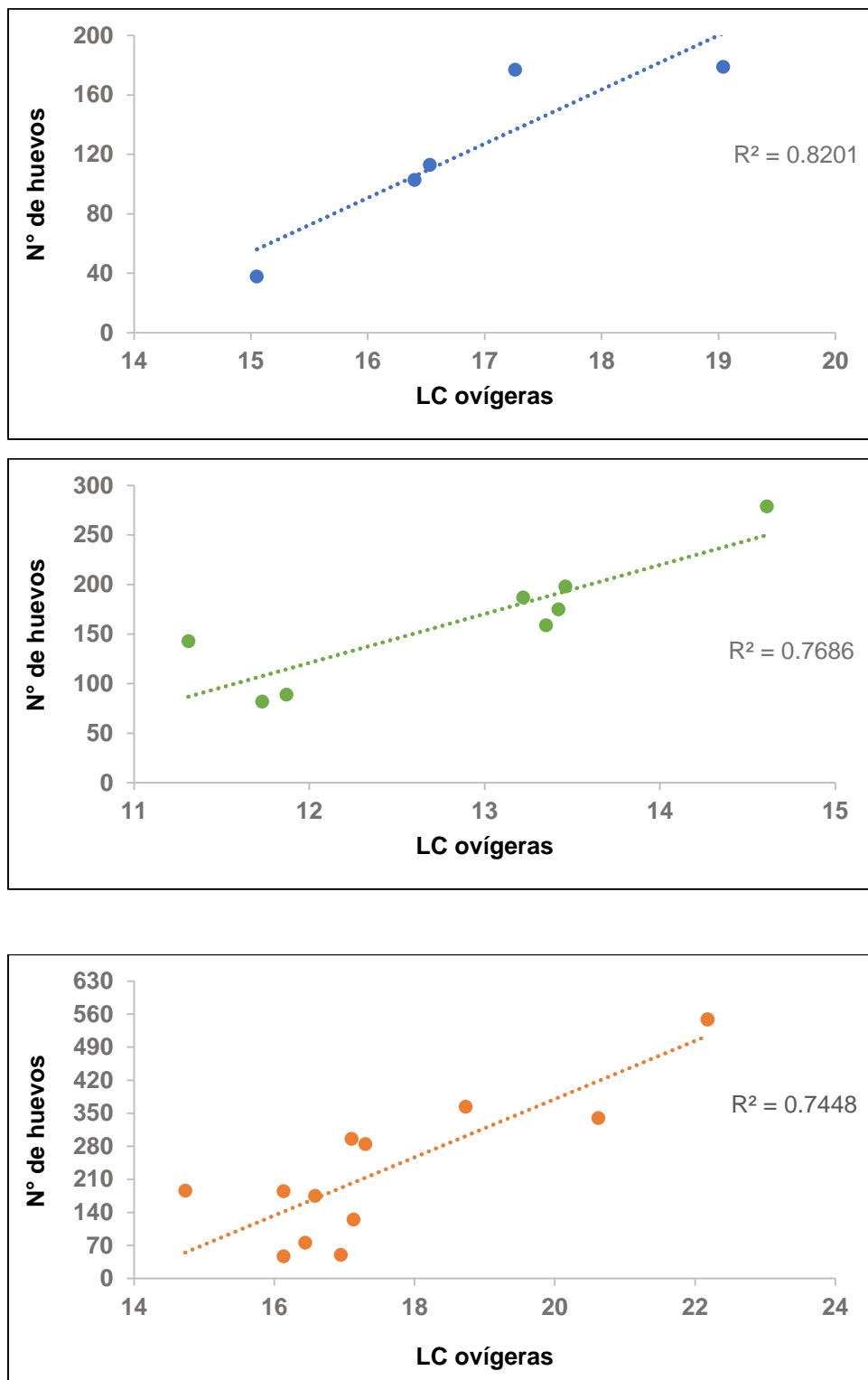


Figura 18. Número de huevos (sin tener en cuenta su estadio de desarrollo embrionario) en relación al largo del cefalotórax (LC) de hembras ovígeras *Aegla uruguayana* de: Entre Ríos (azul), Santa Fe (verde) y Córdoba (naranja)

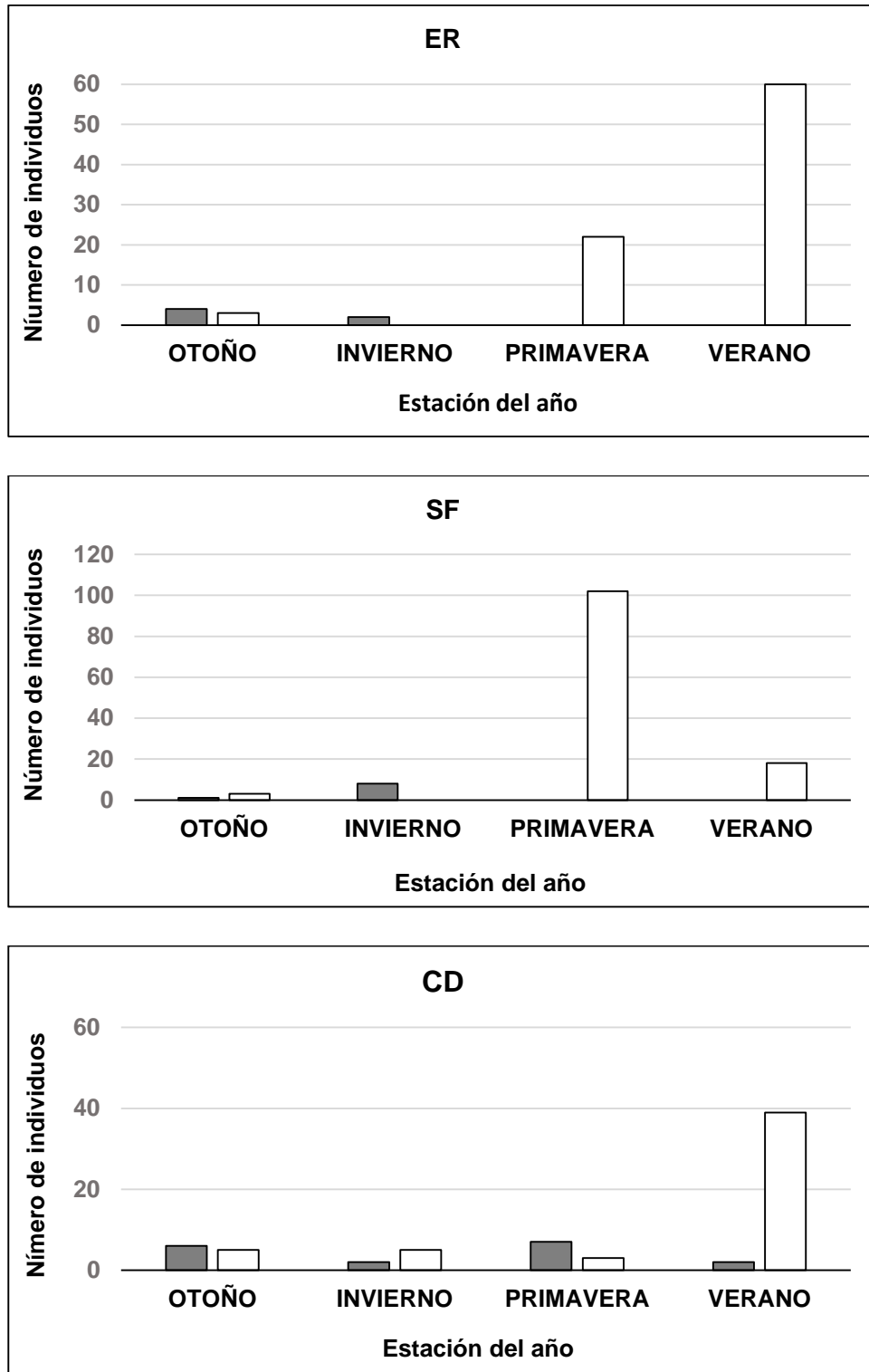


Figura 19. Número de hembras ovígeras (gris) y reclutas (blanco) *Aegla uruguayana* capturados en cada estación del año en cada uno de los sitios de muestreo: Entre Ríos (ER), Santa Fe (SF) y Córdoba (CD)

Fecundidad y esfuerzo reproductivo

La fecundidad varió de 2,53 a 13,36 huevos/mm en Entre Ríos, de 7,0 a 19,10 huevos/mm en Santa Fe y de 2,67 a 24,75 huevos/mm en Córdoba. No se encontraron diferencias significativas entre las tres poblaciones en el número de huevos ($p > 0,05$) (Figura 20) (Tabla 9).

Por otra parte, el número de huevos se incrementó junto con el aumento de la talla de las hembras ovígeras en las tres poblaciones (Figura 18), aunque no se observó una pérdida significativa en el número de huevos durante los estadios embrionarios ($p > 0,05$).

El esfuerzo reproductivo varió de 4,13% a 13,36% en las ovígeras de Entre Ríos, de 6,37%-16,62% en las ovígeras de Santa Fe y de 2,40%-19,45% en las ovígeras de Córdoba (Figura 20). La comparación de estos valores indicó que no hay diferencias significativas entre las tres poblaciones ($p > 0,05$) (Tabla 9).

Durante el desarrollo embrionario, se observaron diferencias estadísticamente significativas en el volumen de los huevos de Entre Ríos y Córdoba ($p < 0,05$). También se registraron diferencias interpoblacionales entre el volumen de los huevos pertenecientes al mismo estadio de desarrollo embrionario ($p < 0,05$) (Tabla 9).

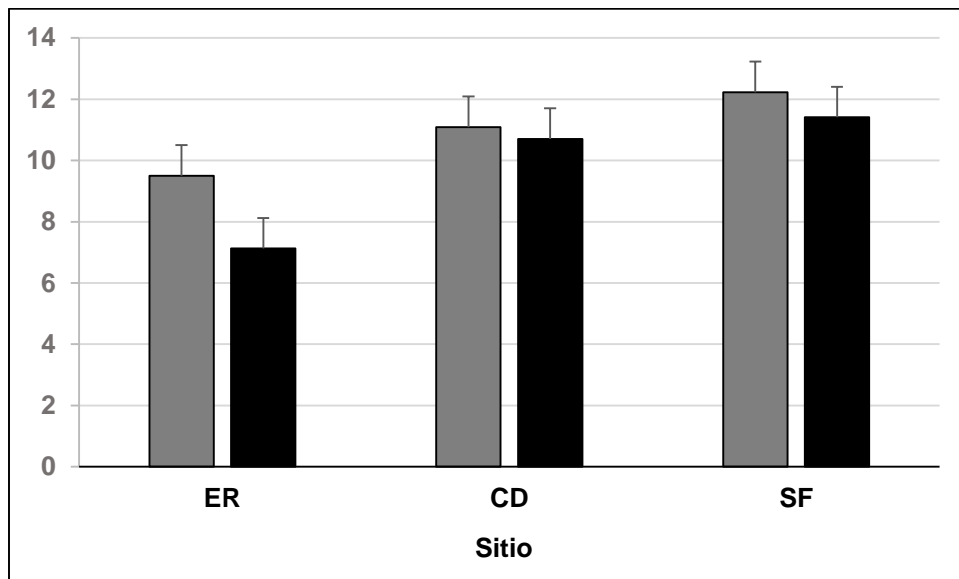


Figura 20. Fecundidad (FRR) (gris) y esfuerzo reproductivo (RO) (negro) de hembras ovígeras *Aegla uruguayana* de: Entre Ríos (ER), Santa Fe (SF) y Córdoba (CD). Las barras de error indican el desvío estándar

Tabla 9. Valores medios y desvío estándar de la fecundidad (FRR), esfuerzo reproductivo (RO) y volumen de los huevos (VH) de los diferentes estadios de desarrollo embrionario (EI, EII, EIII) de; Entre Ríos (ER), Santa Fe (SF) y Córdoba (CD). Los asteriscos (*) indican diferencias significativas ($p < 0,05$) intrapoblacionales entre los estadios de desarrollo embrionario. Las diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) interpoblacionales entre los estadios de desarrollo embrionario

SITIO	FRR huevos/mm	RO %	ESTADIO EI VH mm ³	ESTADIO EII VH mm ³	ESTADIO EIII VH mm ³
ER	9,50±7,43	7,12±4,24		0,068±0,009 *a	0,053±0,004 *a
SF	12,23±3,75	11,41±4,17	0,073±0,010 b	0,070±0,007 a	
CD	11,09±7,30	10,71±5,40	0,080±0,011 *a	0,049±0,010 *b	0,059±0,00 *b

Desarrollo gonadal

Durante las cuatro estaciones muestreadas el total de cangrejos analizados en el estudio de desarrollo gonadal fue de 51 en Entre Ríos, de los cuales 21 fueron machos y 30 hembras. El rango de peso de los machos fue de 1,09 a 2,50 gr, mientras que el peso de las hembras fue de 0,42 a 1,50 gr. En Santa Fe el total de los cangrejos fue 52; de los cuales 26 fueron machos y 25 hembras. El peso de los machos varió de 0,73 A 3,26 gr, mientras que el peso de las hembras fue de 0,42 a 2,33 gr. En Córdoba, el total de cangrejos fue 60; de los cuales 28 fueron machos y 32 hembras. El peso de los machos varió de 0,97 a 6,47 gr, mientras que el peso de las hembras fue de 0,46 a 3,18 gr.

En Entre Ríos, el desarrollo gonadal (IG) de las hembras fue mayor en otoño (4,67), mientras que el menor valor fue registrado en primavera (0,43), siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$). Por otro lado, estas diferencias no fueron observadas en el IHP, el cual presentó el máximo valor en invierno (7,52) y el mínimo en primavera (5,28) ($p > 0,05$). En los machos, el desarrollo gonadal fue mayor en el otoño (3,94) y menor en primavera (0,56), siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$). Por otro lado, estas diferencias no fueron observadas en IHP, el cual presentó el máximo valor en invierno (7,25) y el mínimo en otoño (3,84) ($p > 0,05$). El valor de IG solo fue mayor al de IHP en los machos en otoño. En el resto del ciclo, tanto para los machos como para las hembras, a pesar de las variaciones observadas en los índices, el IHP nunca fue inferior al valor de IG (Figura 21).

En la población de Santa Fe, el desarrollo gonadal (IG) de las hembras fue mayor en otoño (5,18), mientras que el menor valor fue registrado en primavera (0,60), siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$). Por otro lado, no fueron observadas diferencias en el IHP, el cual presentó el máximo valor en primavera (8,97) y el mínimo en otoño (5,96) ($p > 0,05$). En los machos, el desarrollo gonadal fue mayor en el otoño (4,64) y menor en primavera (1,26), siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Estas diferencias también fueron observadas en IHP, el cual presentó el máximo valor en verano (7,17) y en primavera (7,12), y el mínimo en otoño (3,68) ($p > 0,05$). El valor de IG solo fue mayor al de IHP en los machos en otoño. En el resto del ciclo, tanto para los machos como para las hembras, a pesar de las variaciones observadas en los índices, el IHP nunca reveló valores inferiores a los de IG (Figura 22).

En la población de Córdoba, el desarrollo gonadal (IG) de las hembras fue mayor en invierno (1,50), mientras que el menor valor fue registrado en otoño (0,68), estas diferencias no fueron significativas ($p > 0,05$). Por otro lado, estas diferencias tampoco fueron observadas en el IHP, el cual presentó el máximo valor en verano (5,81) y el mínimo en primavera (4,58) ($p > 0,05$). En los machos, el desarrollo gonadal fue mayor en el verano (2,17) y menor en invierno (0,58), siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$). Estas diferencias no fueron observadas en el IHP, el cual presentó el máximo valor en primavera (4,98) y en invierno (4,90), y el mínimo en otoño (3,28) ($p > 0,05$). En ambos sexos, a pesar de las variaciones observadas en los índices, el IHP nunca reveló valores inferiores a los de IG (Figura 23).

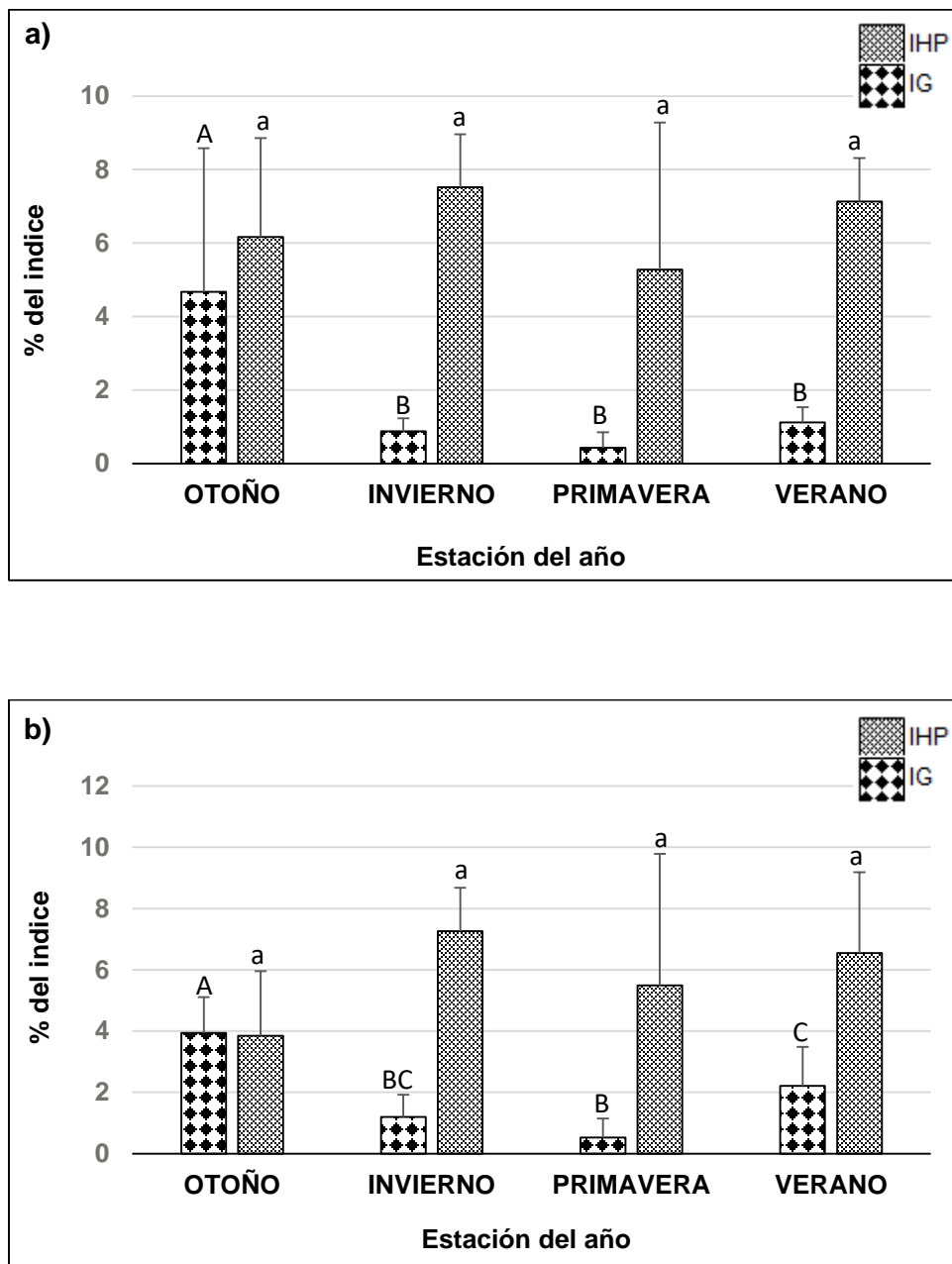


Figura 21. Índice gonadosomático (IG) y hepatosomático (IHP) estacional de: a) hembras y b) machos adultos *Aegla uruguayana* de Entre Ríos. Las barras de error indican el desvío estándar.

Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los índices de las diferentes estaciones del año. Las letras mayúsculas se refieren al IG y las letras en minúscula se refieren al IHP

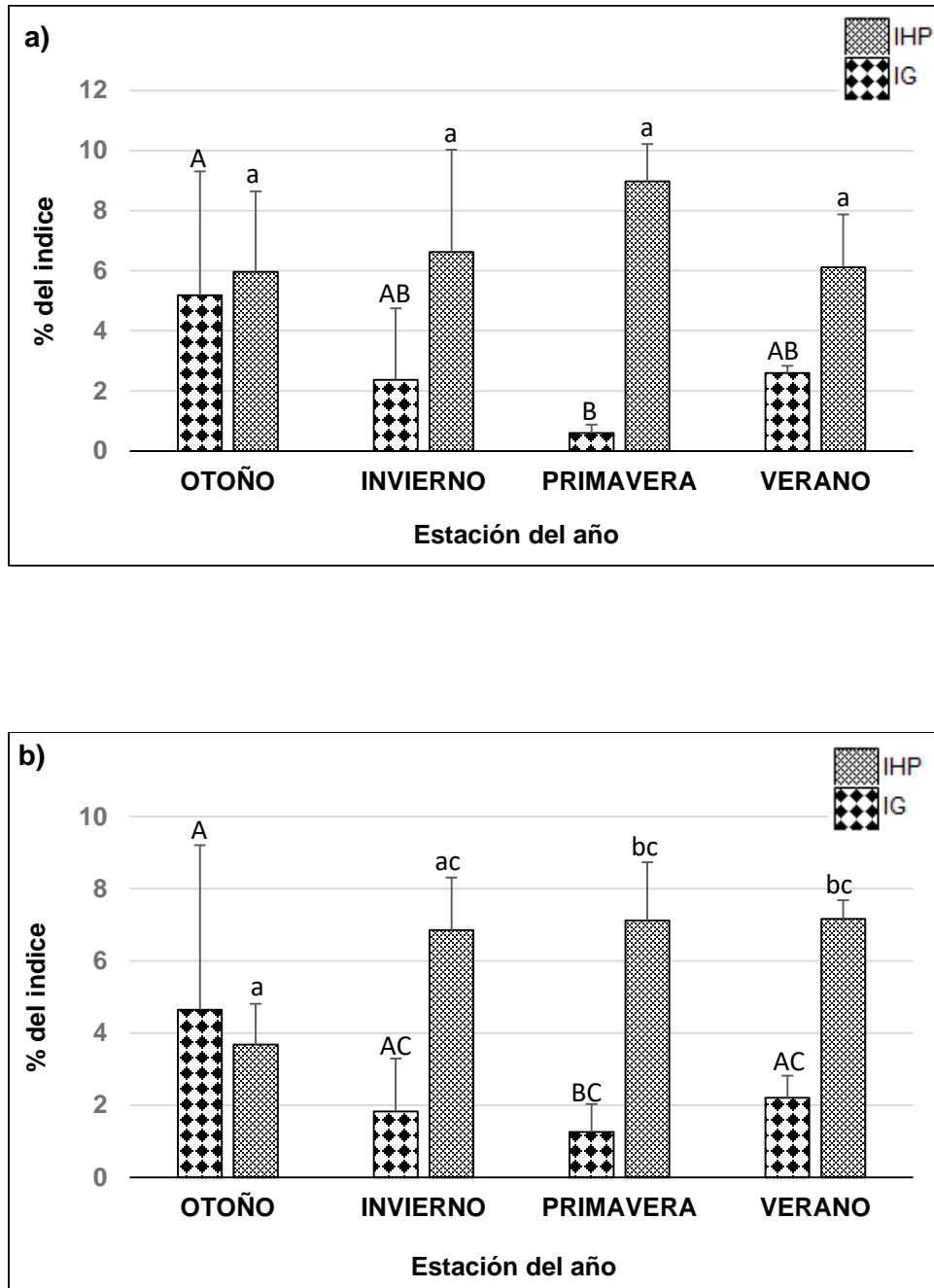


Figura 22. Índice gonadosomático (IG) y hepatosomático (IHP) de: a) hembras y b) machos adultos *Aegla uruguayana* de Santa Fe. Las barras de error indican el desvío estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los índices de las diferentes estaciones del año. Las letras mayúsculas se refieren al IG y las letras en minúscula se refieren al IHP

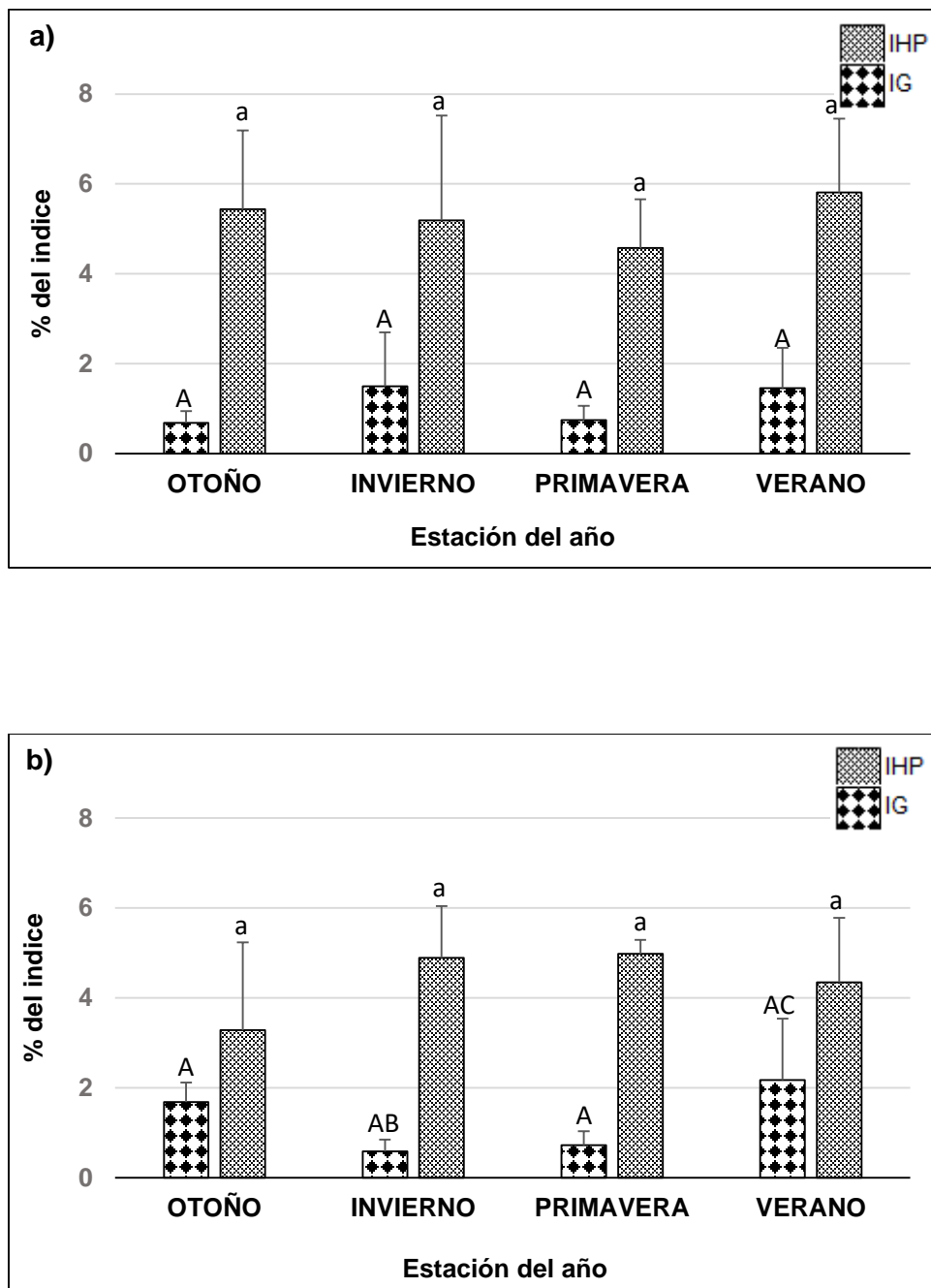
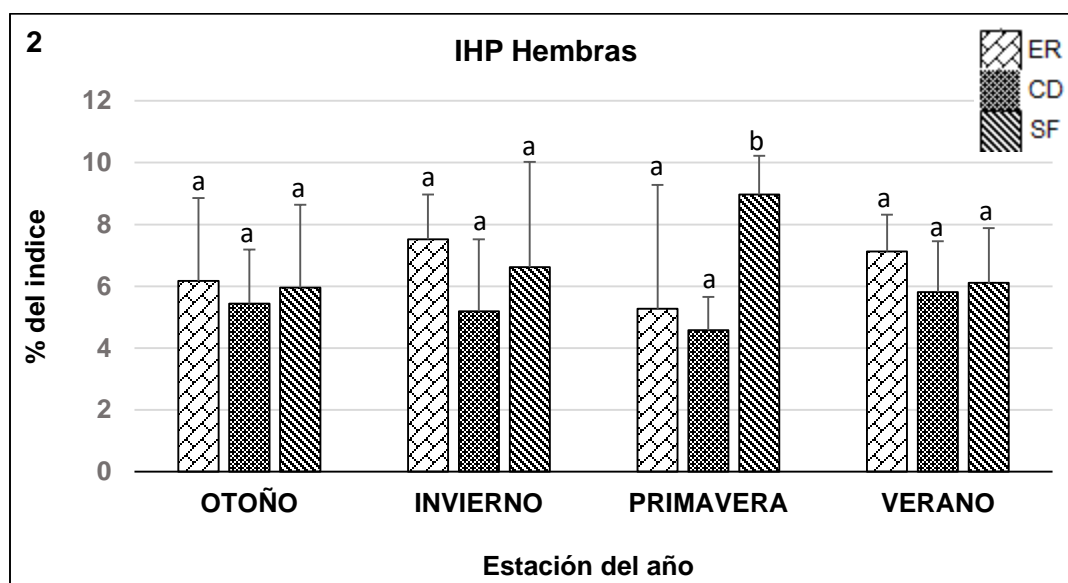
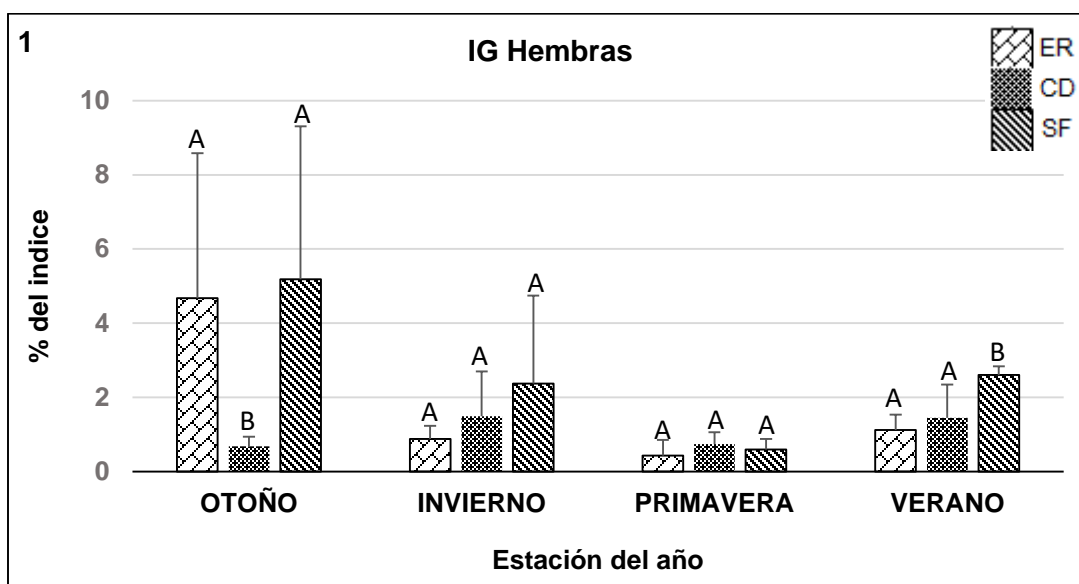


Figura 23. Índice gonadosomático (IG) y hepatosomático (IHP) estacional de: a) hembras y b) machos adultos *Aegla uruguayana* de Córdoba. Las barras de error indican el desvío estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los índices de las diferentes estaciones del año. Las letras mayúsculas se refieren al IG y las letras en minúscula se refieren al IHP

El IG de las hembras entre los sitios estudiados no presentaron diferencias estadísticamente significativas en invierno y primavera ($p > 0,05$), sin embargo, si registraron diferencias en otoño y verano ($p < 0,05$). En cuanto al IHP, las hembras de los tres sitios no presentaron diferencias estadísticamente significativas en otoño, invierno y verano ($p < 0,05$), pero si registraron diferencias en primavera ($p > 0,05$) (Figura 24).

El IG de los machos de Entre Ríos, Córdoba y Santa Fe no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las cuatro estaciones analizadas ($p > 0,05$). En cuanto al IHP, los machos de los tres sitios no presentaron diferencias estadísticamente significativas en otoño y primavera, pero si registraron diferencias en invierno y verano ($p > 0,05$) (Figura 23).



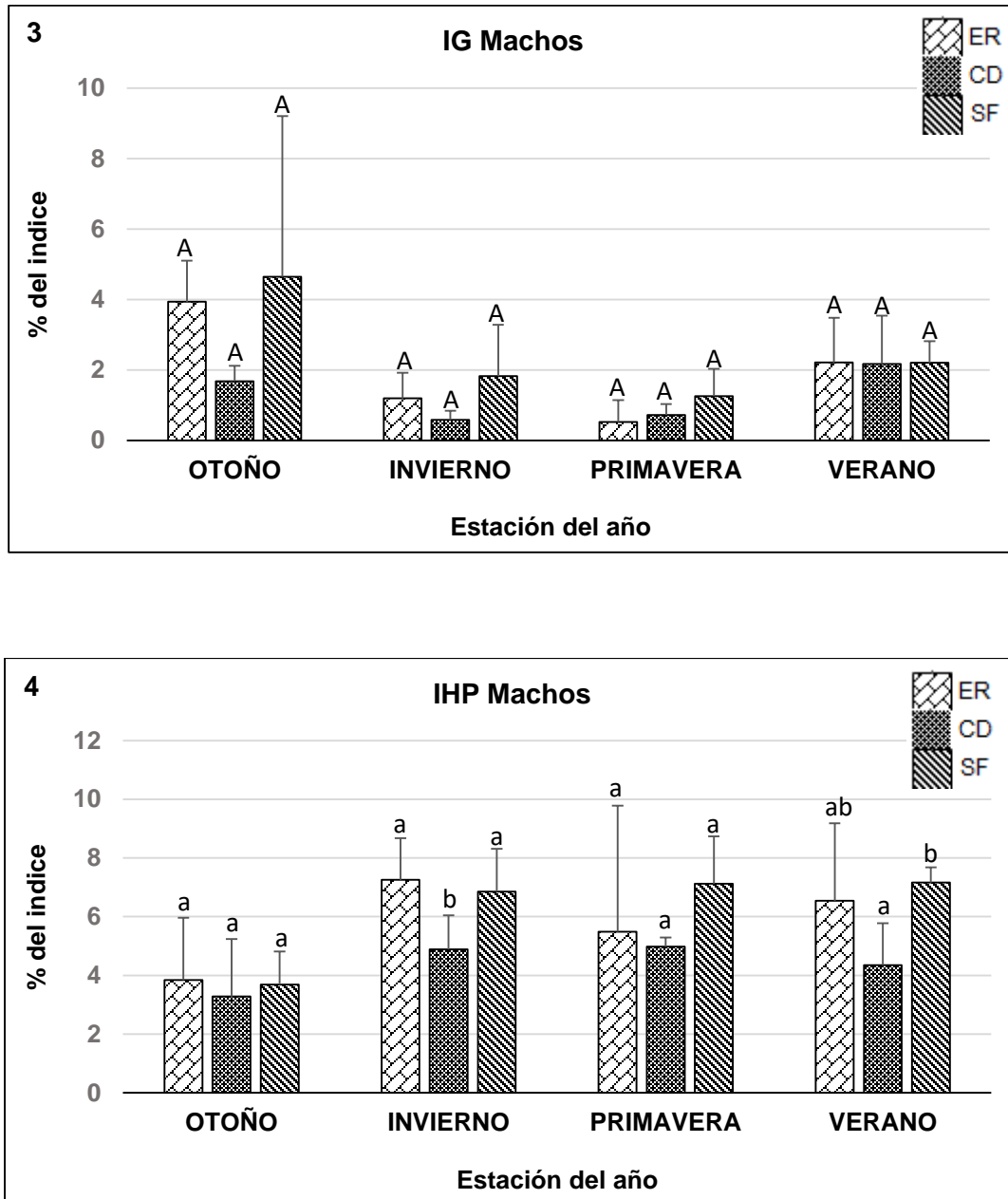
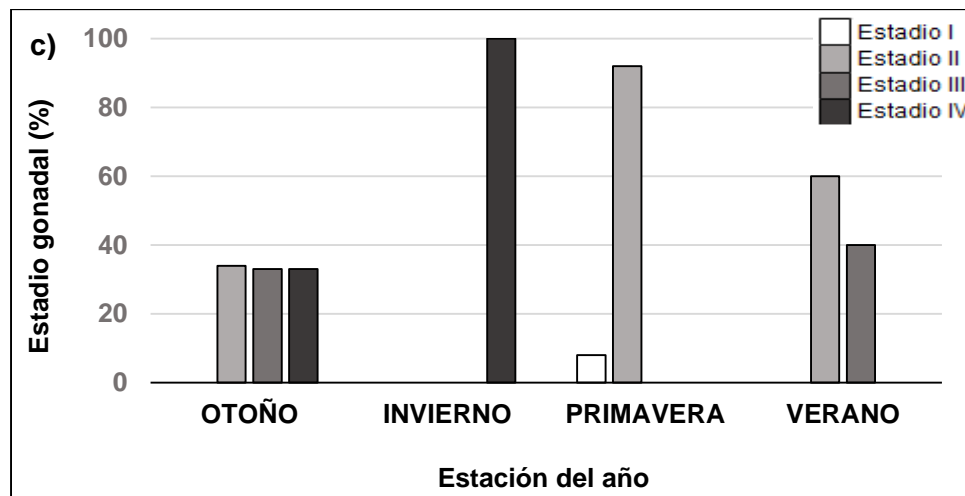
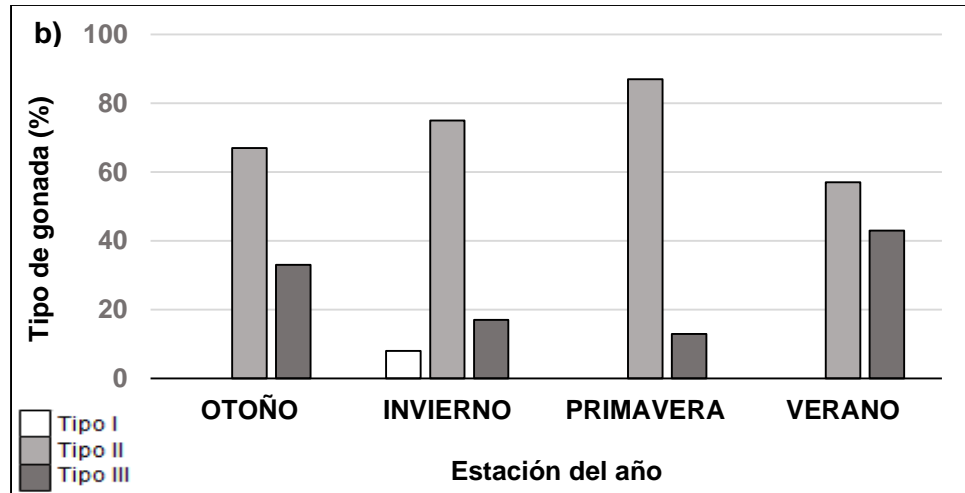
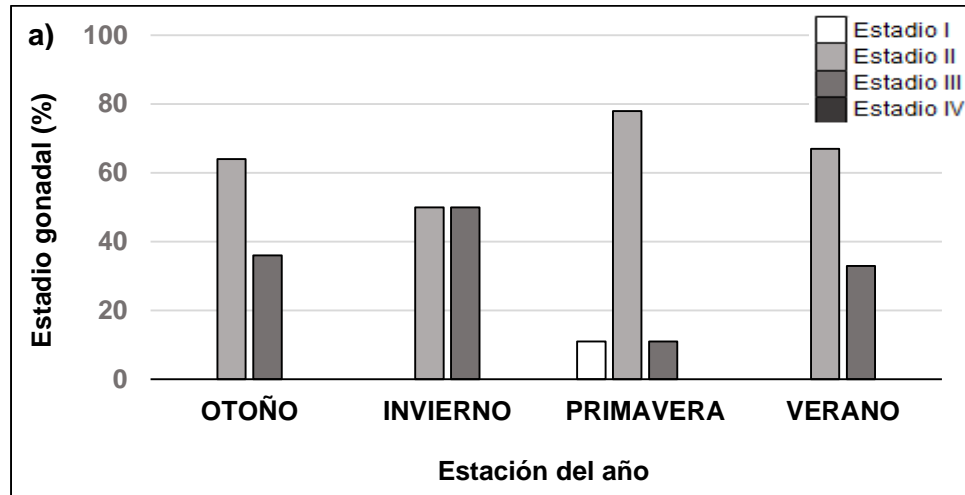


Figura 24. Índice gonadosomático (1 y 3) y hepatosomático (2 y 4) de hembras y machos adultos *Aegla uruguayana* de Entre Ríos (ER), Córdoba (CD) y Santa Fe (SF). Las barras de error indican el desvío estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre índices de la misma estación del año. Las letras mayúsculas se refieren al IG y las letras en minúscula se refieren al IHP

Las hembras con gónada en estadio II se observaron durante todas las estaciones del año en los tres sitios analizados, a excepción de invierno en Santa Fe donde todas las hembras presentaron gónada en estadio IV (Figura 25). Los machos con gónadas de tipo II y III se registraron durante todas las estaciones del año en los tres sitios analizados, a excepción de otoño en Córdoba, donde todos los machos presentaron gónadas de tipo III y verano en Santa Fe, donde todos los machos presentaron gónadas tipo II (Figura 26).

Considerando el ciclo anual, las gónadas en estadio II fueron abundantes en los tres sitios analizados, representando el 64% de las gónadas de las hembras en Entre Ríos, el 68% en Santa Fe y el 57% en Córdoba (Tabla 10). De manera semejante, las gónadas tipo II fueron las más abundantes en los machos, representando el 73% de las gónadas de los machos en Entre Ríos y Córdoba, y el 59% en Santa Fe (Tabla 11).



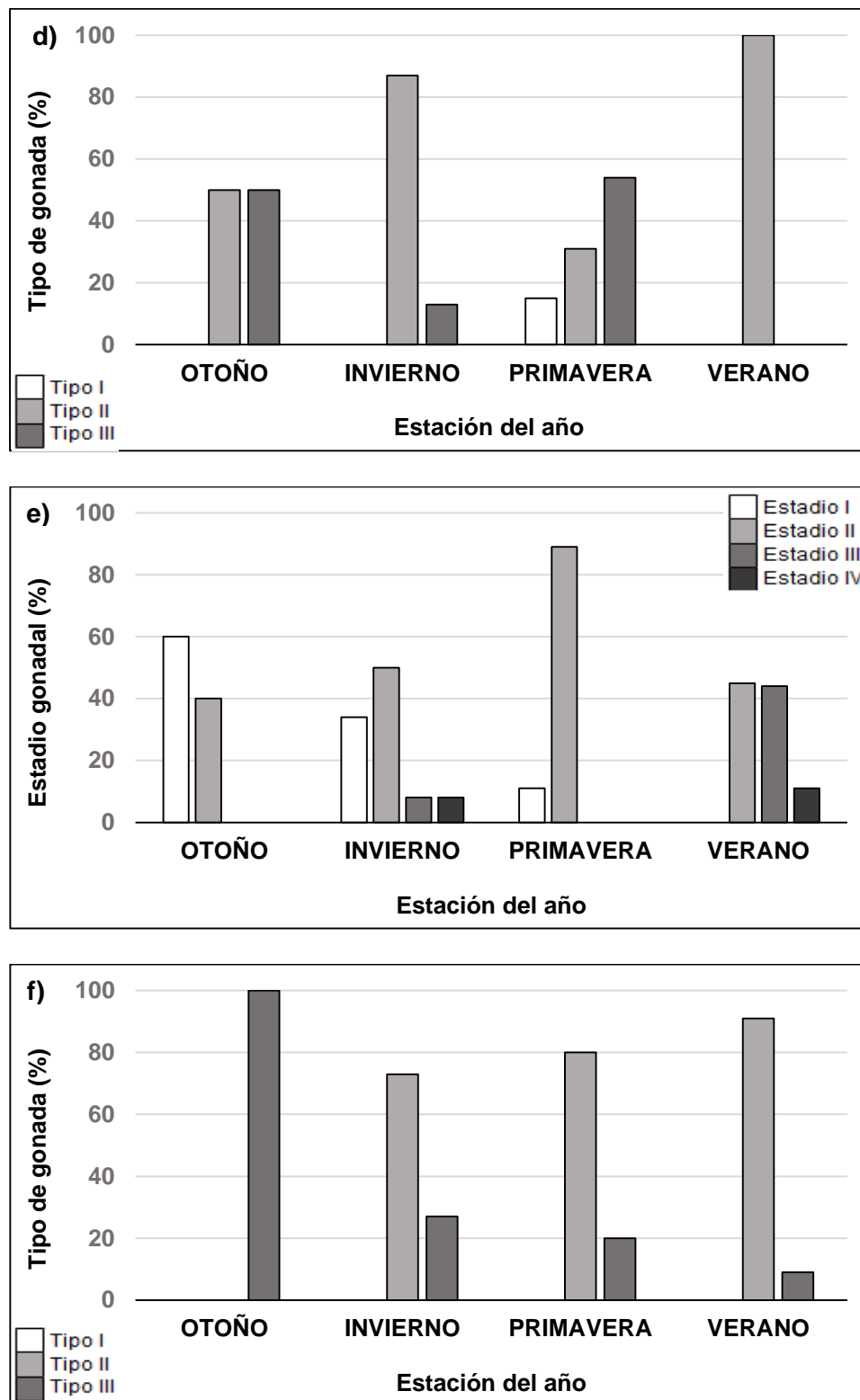


Figura 25. Porcentaje de los diferentes estadios de desarrollo gonadal en hembras *Aegla uruguayana* de: a) Entre Ríos, c) Santa Fe y e) Córdoba. Y porcentaje de los diferentes tipos de gónada en machos de: b) Entre Ríos, d) Santa Fe y f) Córdoba

Tabla 10. Porcentaje anual de los estadios gonadales registrados en las hembras *Aegla uruguayana* en cada población analizada; Entre Ríos (ER), Santa Fe (SF) y Córdoba (CD)

Estadio gonadal	Porcentaje anual en cada población		
	ER	SF	CD
I	2%	5%	23%
II	64%	68%	57%
III	34%	14%	14%
IV		13%	6%

Tabla 11. Porcentaje anual de los tipos gonadales registrados en los machos *Aegla uruguayana* en cada población analizada; Entre Ríos (ER), Santa Fe (SF) y Córdoba (CD)

Tipo gonadal	Porcentaje anual en cada población		
	ER	SF	CD
I	3%	8%	
II	73%	59%	73%
III	24%	33%	27%

En ambos sexos, considerando los estadios y tipos de desarrollo gonadal se observó un aumento del IG y una disminución del IHP a medida que las gónadas evolucionaron (Figura 26). Tanto en las hembras como en los machos se registraron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de IG de los diferentes estadios y tipos gonadales ($p < 0,0001$). En cuanto al IHP, las hembras no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de los diferentes estadios gonadales ($p < 0,05$), mientras que en los machos si presentaron diferencias entre los tipos gonadales ($p > 0,05$) (Figura 26). En ambos sexos se observó una superposición en los valores IG relacionados con el grado de desarrollo gonadal y tamaño de los ejemplares. Hembras y machos de diferentes tamaños mostraron diferentes grados de desarrollo gonadal.

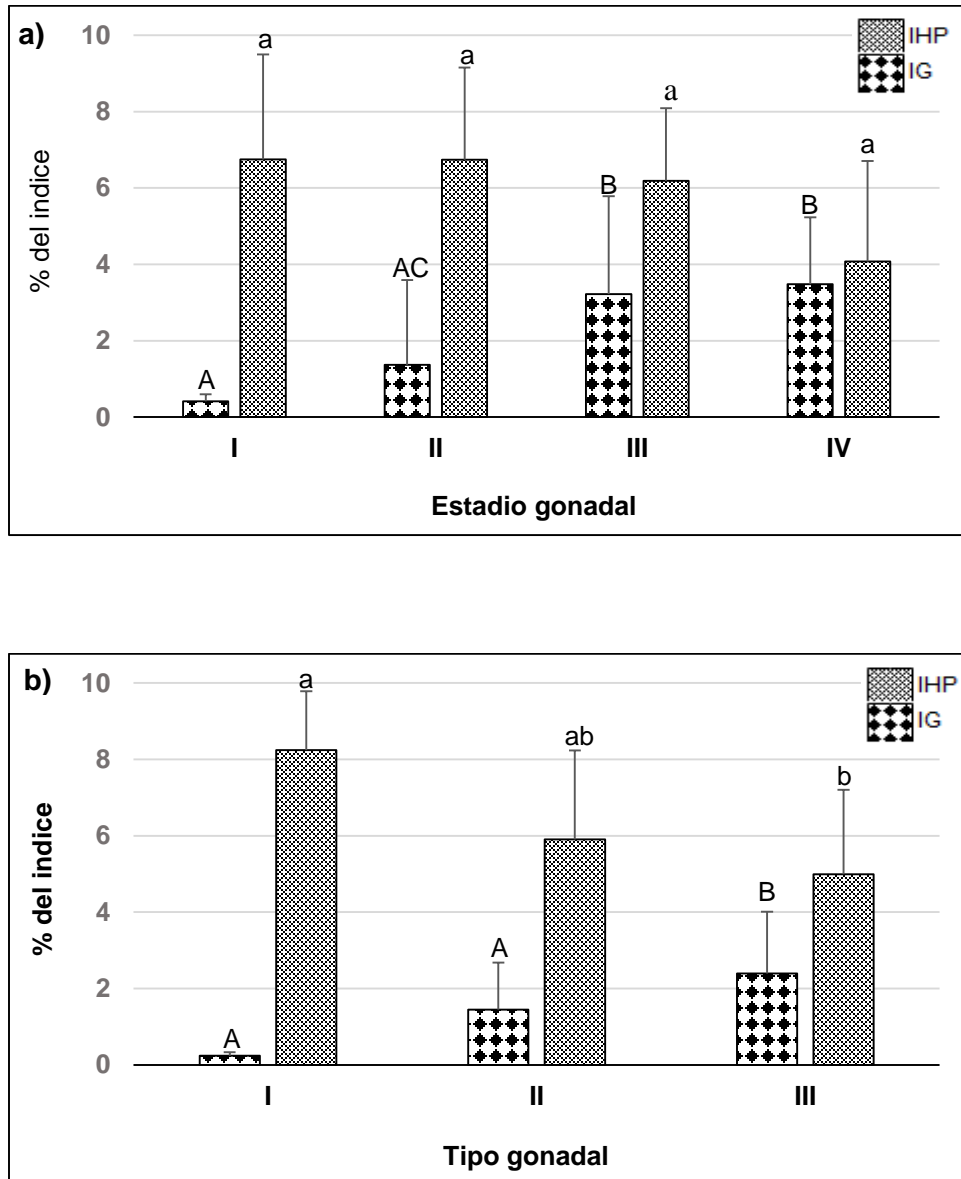


Figura 26. Índice gonadosomático y hepatosomático total de: a) hembras y b) machos adultos *Aegla uruguayana*. Las barras de error indican el desvío estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los índices de los diferentes estadios y tipos gonadales. Las letras mayúsculas se refieren al IG y las letras en minúscula se refieren al IHP

Senescencia

La mayoría de las hembras ovígeras (78,12%) fueron abundantes en la clase de talla de 13,06-19,17 LC, mientras que las hembras con gónadas maduras (87,64%) estuvieron

presentes en la clase de talla 11,7-18,49 LC (Figura 27), lo que indica posibles cambios degenerativos en la actividad reproductiva según la edad (senescencia).

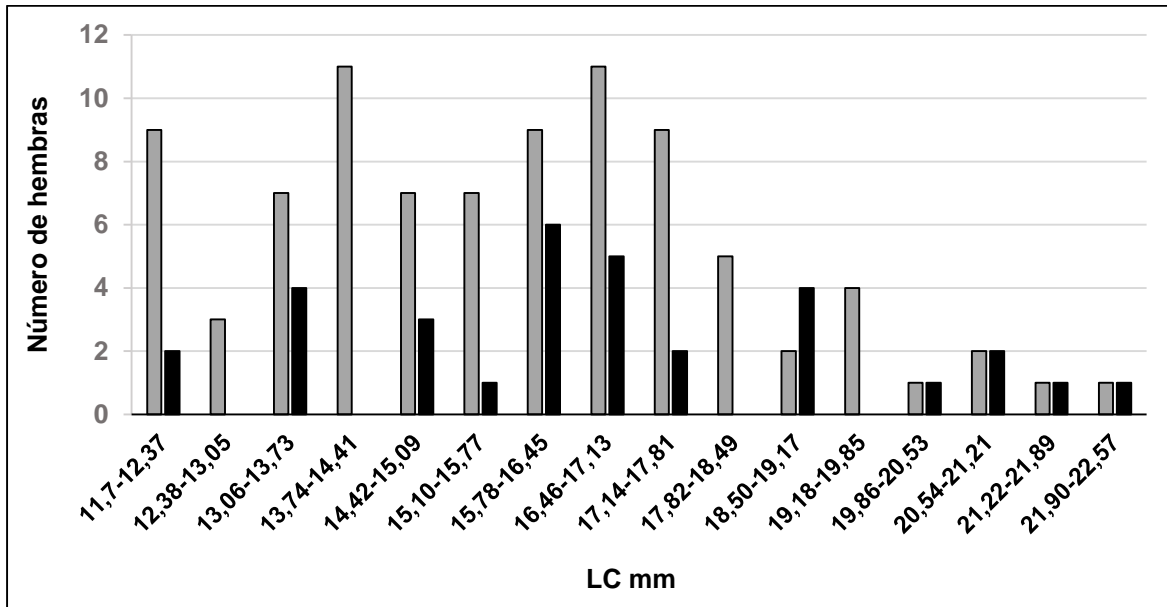


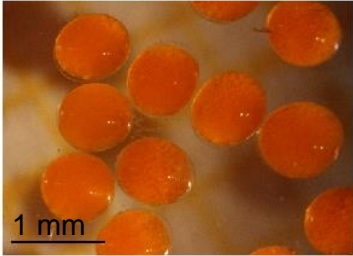

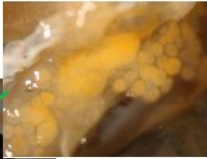
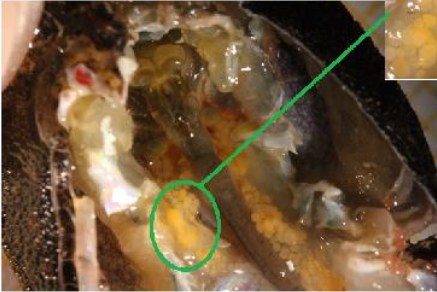
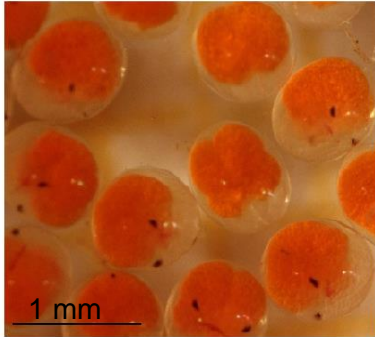


Figura 27. Número de hembras ovígeras (negro) y hembras con gónadas bien desarrolladas (gris) de *Aegla uruguayana* por clases de tamaño (LC mm)

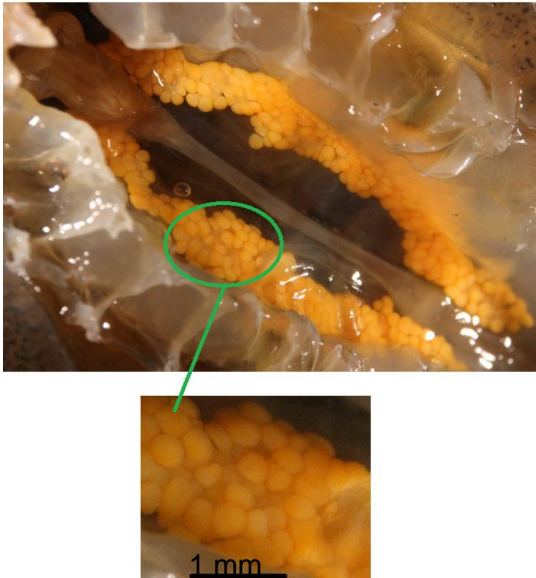
Remaduración ovárica

En el estudio de remaduración gonadal se analizaron 16 hembras ovígeras, cuatro por estadio. El LC medio de los ejemplares fue de 16,30 mm, 14,50 mm, 15,29 mm y 17,60 mm en H₁, H₂, H₃ y H₄ respectivamente. La fecundidad de las ovígeras pertenecientes al H₁ varió entre 5,10 y 18,30 huevos/mm, presentando estos huevos un tamaño medio de 0,08 mm³. Mientras que la fecundidad de las hembras del H₂ fue de 11,13 a 13,33 huevos/mm, presentado estos huevos un volumen medio de 0,07 mm³.

La especie fue clasificada como desovante total, observándose que luego del desove se produce el inicio de la remaduración de la gónada. Esto se corroboró por el crecimiento de los oocitos primarios que permanecieron en el ovario (Tabla 12).

Tabla 12. Diferentes estadios de remaduración gonadal en hembras *Aegla uruguayana*. Rango de LC de las hembras, media de fecundidad (FRR) y del volumen de los huevos (VH)

<p>Estadio H₁</p> <p>Huevos tempranos: vitelo uniforme que ocupa más del 80% del volumen del huevo. Embrión sin desarrollo de ojos compuestos</p>	<p>Estadio H₂</p> <p>Huevos intermedios: vitelo que ocupa del 50% -80% del volumen del huevo. Embrión con desarrollo de ojos compuestos, esbozos de pleópodos y corazón bombeando</p>
<p><u>Rango LC:</u> 15,60-17,17 mm</p> <p><u>Media FRR:</u> 13,50 huevos/mm</p> <p><u>Media VH:</u> 0,08 mm³</p>    	<p><u>Rango LC:</u> 13,92-15,07 mm</p> <p><u>Media FRR:</u> 12,23 huevos/mm</p> <p><u>Media VH:</u> 0,07 mm³</p>   

<p>Estadio H₃</p> <p>Inmediatamente finalizada la eclosión de los huevos</p>	<p>Estadio H₄</p> <p>Un mes luego de la eclosión de los huevos</p>
<p><u>Rango LC:</u> 14,06-17,78 mm</p> 	<p><u>Rango LC:</u> 15,71-20,05 mm</p> 

DISCUSIÓN

Este estudio es el primero en cuantificar exhaustivamente y comparar la biología poblacional de una especie de *Aegla* en ambientes argentinos (Entre Ríos, en adelante ER; Santa Fe, en adelante SF y Córdoba, en adelante CD). En varios de los parámetros analizados hubo similitudes entre las poblaciones *Aegla uruguayana* de los diferentes ambientes, como así también en otros se encontraron marcadas diferencias (Tabla 13).

Muestras

En cuanto a la talla de machos y hembras, los resultados de SF y CD concuerdan con el patrón descrito para la mayoría de los aéglicos estudiados, donde hay un marcado dimorfismo sexual, alcanzando los machos mayores tamaños que las hembras [77], [78], [99], [167], [83], [168], [121], [84]. Sin embargo, en la población analizada de ER se registraron valores similares de talla entre machos y hembras, coincidiendo con otra población de ER previamente estudiada por Diawol y col., [151]. Si bien estos autores utilizaron una herramienta de análisis (morfometría geométrica) diferente a la del presente trabajo, las evidencias coinciden, encontrando que el dimorfismo sexual se manifiesta como una variación en la forma del cefalotórax pero no en el tamaño. Por lo tanto, esta sería una característica observada de las poblaciones de ER. En otros aéglicos, tales como *A. leptodactyla* [104], *A. castro* [77] y *A. marginata* [168] también se han encontrado tamaños similares entre los sexos. Como así también, estudios realizados con *A. platensis* y *A. scamosa* difieren con estos patrones, en donde las hembras presentaron mayores tamaños que los machos [60], [58], [121]. Algunos autores [52], [169] consideran que el dimorfismo sexual con los machos de mayor talla es una característica del grupo, y ha sido generalmente interpretado como el reflejo del uso diferencial de la energía entre los sexos. De este modo, las hembras invierten una cantidad significativa de energía en la reproducción, mientras que los machos la asignan al crecimiento [90]. Otras posibles causas del dimorfismo en la talla sugerido para *Aegla* son las diferencias en la tasa de mortalidad, migración, respuestas a las condiciones ambientales [64], uso de los recursos [106] y selección sexual [80]. Como también algunos autores [121] consideran que las diferentes metodologías de muestreo pueden ser las causales de que algunas poblaciones no se ajusten al patrón general de dimorfismo sexual.

El tamaño de machos y hembras también difirió entre las poblaciones analizadas: los de mayor talla fueron encontrados en CD, seguidos por los de ER y los de menor talla fueron los de SF. En *A. platensis* también se encontraron diferencias entre las tallas de los cangrejos adultos de dos poblaciones estudiadas en el Estado de Rio Grande do Sul, Brasil [58], [121]. Según Dalosto y col., [121] estas diferencias en *A. platensis* podrían deberse a los diferentes métodos de muestreo y de medición empleados (incluir o no la rostro en la medición del LC). Sin embargo, el autor termina concluyendo que, a pesar de los diferentes métodos utilizados, las diferencias entre las tallas se deben a que son características propias de cada población. Este aspecto coincide con el patrón registrado en el presente estudio, en el cual, las diferencias de talla entre las poblaciones no pueden ser explicadas por el método de muestreo y de medición, ya que fue siempre el mismo. Por lo tanto, se considera adecuado concluir que los animales de la población de SF son considerablemente de menor talla que los de ER y CD. En este sentido, las poblaciones de *A. uruguayana* expresaron a través de su talla diferencias que no se pueden explicar mediante los parámetros abióticos medidos, sin embargo se observa (aunque no se midió) una posible relación entre la intensidad del uso de la tierra y la talla de los cangrejos *A. uruguayana*.

Proporción de estadios ontogenéticos y proporción de sexos

La proporción de estadios ontogenéticos también fue diferente entre las poblaciones. En ER y SF difirió significativamente de 1:1, estando sesgado hacia los juveniles, mientras que lo contrario fue encontrado en CD donde el sesgó fue hacia los adultos (Tabla 13). A pesar de estas diferencias los resultados de las tres poblaciones se ajustan al siguiente patrón: juveniles presentes durante todo el año, y mayor abundancia de estos en las estaciones más cálidas (primavera- verano) y presencia de reclutas en estaciones sin registro de hembras ovígeras (Figura 19). Esto podría deberse a la ocurrencia de desoves en meses anteriores, como ocurre en *A. longirostri*, *A. platensis* y *A. georginae* [78], [121], [85].

La proporción de sexos fue diferente entre las poblaciones analizadas. En SF y CD las proporciones observadas se ajustan al patrón general registrado en aeglidos, en el que la proporción de sexos varía de 1:1 a valores sesgados hacia machos (Tabla 13). Mientras que en ER se observó lo opuesto, siendo más abundantes las hembras, lo cual representa el único registro en *Aegla* hasta el momento (Tabla 13). Luego, en el análisis estacional las proporciones de cada población variaron a lo largo del ciclo sin encontrarse un patrón

general. A partir de estos resultados, no se puede inferir una relación entre la proporción de sexos y los parámetros abióticos evaluados en la presente investigación.

Densidad poblacional y medida de agregación

La densidad también difirió notablemente entre las poblaciones, siendo mucho mayor en SF, seguido por CD y mucho más baja en ER. Las densidades poblacionales han sido registradas en un limitado número de aéglicos, en las cuales se observaron resultados variables dependiendo de cada ambiente analizado. Por ejemplo, en especies trogloditas como *A. microphthalmia* y *A. leptochela* las densidades son muy bajas, encontrándose menos de un individuo por metro cuadrado [170], [171]. Pero en especies de hábitats epigénicos, las estimaciones de densidad poblacional revelaron un amplio rango de valores (Tabla 14). Se observó en SF una relación inversamente proporcional entre densidad poblacional y talla de los ejemplares. Mientras que en CD y ER este patrón no se registró.

Respecto a la relación entre densidad poblacional y tamaño de los ejemplares, resultados similares a los del presente trabajo se registraron en dos poblaciones de *A. platensis* [131], [121]. En la langosta *Orconectes propinquus*, los patrones espaciales encontrados en el ambiente muestran que los animales dominantes (es decir, los de mayor tamaño) están más espaciados que los individuos de menor talla [172]. Estudios preliminares (Diawol y col., datos sin publicar) en los cuales se estudió el grado de agregación (mediante estimador K) según el sexo (machos y hembras) y el estadio ontogenético (juveniles-adultos) de ejemplares *A. uruguayana* de ER revelaron que los cangrejos de mayor tamaño (adultos) presentan mayor agregación que los de menor tamaño (juveniles). Estos resultados, no apoyan la idea de una relación negativa entre el tamaño corporal y densidad en *Aegla*. Sin embargo, se considera de gran importancia tener en cuenta que este análisis preliminar fue realizado en otoño, estación la cual coincide con el periodo reproductivo registrado en el presente estudio para la misma población. En tanto que, la mayor agregación de los adultos podría estar reflejando la búsqueda de pareja, consecuencia de la intensa actividad reproductiva propia de esta época del año.

Respecto al grado de agregación, este también difirió entre las poblaciones analizadas. En ER y SF se observó el mismo patrón estacional, mientras que en CD se registró lo opuesto. En este sentido, debido a la relevancia biológica que representa el conocimiento del patrón de distribución de los organismos [173], se considera de interés

ahondar en este tipo de estudio, debido a que hasta el momento no existen registros en aeglidos, lo cual dificulta las comparaciones e interpretaciones de los datos. A su vez, sería fructífero que futuras investigaciones consideren la influencia de la estacionalidad (por ejemplo: antes y durante los eventos reproductivos) sobre el grado de agregación, y de otras variables que no han sido evaluadas en el presente estudio, tales como el tamaño de los cangrejos adultos.

En cuanto a las densidades estacionales, en las tres poblaciones analizadas la mayor densidad de adultos (machos y hembras) fue registrada en las estaciones más frías del año, lo cual coincide con la máxima actividad reproductiva. Mientras que los juveniles presentaron mayor densidad en las estaciones más cálidas del año, lo cual coincide con los resultados de la proporción de estadios ontogenéticos del presente trabajo. Según Teodósio y Masunari [79], la abundancia de juveniles en las estaciones más cálidas es una estrategia que les permite a los menores lograr mayor supervivencia y crecimiento. Debido a que utilizan los recursos más abundantes de primavera y verano.

Tabla 13. Parámetros poblacionales de *Aegla uruguayana* evaluados para las poblaciones de Entre Ríos (ER), Santa Fe (SF) y Córdoba (CD). El asterisco (*) indica diferencias (intrapoblacionales) estadísticamente significativas

Parámetro	ER	SF	CD
Proporción de sexos (M:H)	0,70:1	1,25:1	1,16:1
Proporción de estadio ontogenético (J:A)	1:0,37*	1:0,41*	1:2,19*
Dimorfismo sexual	Ausente, ambos sexos tienen similar LC	Presente, machos tienen mayor LC	Presente, machos tienen mayor LC
LC (mm) del mayor macho	25,45	20,63	32,60
LC (mm) de la mayor hembra	18,06	16,54	23,07
Periodo reproductivo	Durante los meses más fríos	Durante los meses más fríos	Durante todo el año, mayor intensidad en meses más fríos
Densidad poblacional (ind/m ²)	3,13	10,75	6,70
Patrón espacial	Contagioso	Contagioso	Contagioso
Técnica de muestreo	red D + manual	red D + manual	red D + manual

Patrón espacial

Las tres poblaciones analizadas presentaron un patrón de distribución espacial de tipo contagioso. Este tipo de distribución implica que los individuos se agrupan en conglomerados o parches, dejando porciones del espacio relativamente desocupadas [153]. Este resultado coincide con estudios previos, en donde varios autores señalan que especies de esta familia presentan este tipo de distribución espacial, especialmente en épocas de desove [55], [174], [118], [59]. Resultados semejantes fueron registrados en *A. affinis* en laguna La Blanca Calmuco, en Mendoza (Giri y col., datos sin publicar). El tipo de distribución que presentaron las poblaciones estudiadas, indicaría la presencia de interacciones entre los individuos o entre los individuos y el ambiente. Es posible que la forma en que los ejemplares se distribuyen en el espacio se deba a factores intrínsecos (interacciones sociales, estrategias reproductivas, tróficas, entre otras) y/o a factores extrínsecos (disposición de los recursos, comportamientos defensivos, características del sustrato), los cuales podrían estar interactuando de diversas maneras. Según Rabinovich [173] la disposición espacial de los organismos tiene importancia desde el punto de vista ecológico, como así también evolutivo. Cuando la proximidad de los organismos responde a factores de tipo físico del ambiente, es decir por agrupaciones de carácter no social (respuesta a preferencias), las consecuencias de la proximidad tienen más que nada un valor ecológico: son factores esenciales en términos de densidad ecológica y mecanismos de regulación de poblaciones. Cuando las relaciones de proximidad en términos de disposición espacial responden a un comportamiento individual determinado en respuesta a fenómenos de interacción a nivel poblacional, entonces es cuando los efectos tienen un carácter tanto evolutivo como ecológico. En este sentido, el patrón de distribución observado en *A. uruguayana* podría atribuirse a la forma de vida característica del grupo taxonómico. Debido a que estos cangrejos suelen vivir refugiados bajo algún sustrato (troncos, hojarasca, rocas, u cualquier otro elemento que les sirva como refugio). Este comportamiento fue observado en estudios previos y en ensayos propios [55].

Según Elzinga y col., [175] el estudio de parámetros demográficos, como la densidad y la forma en que los ejemplares se distribuyen en el espacio-tiempo, proporcionan información relevante respecto a su hábito de vida, las preferencias en relación con su hábitat y ayuda a conocer la situación actual de la población en estudio. Así mismo, Rabinovich [173] postula que el conocimiento de estos parámetros es necesario y útil, cualquiera sea el enfoque de la investigación, ya que a veces esta información es necesaria

para determinar la disposición espacial de las poblaciones, y otras para saber cómo cambia en el tiempo. Incluso otros estudios, tales como de energética, de comportamiento y relacionados con cambios genéticos y morfológicos, llevan implícitos la evaluación de estos parámetros poblacionales. Además, el conocimiento del tipo de distribución espacial de *A. uruguayana* podría permitir obtener mayor eficiencia en el diseño de futuros muestreos. Lo cual, resalta la importancia de los datos aportados en este estudio.

Tabla 14. Proporción de sexos y densidad poblacional de diferentes especies de *Aegla*. El asterisco indica diferencias (intrapoblacionales) estadísticamente significativas (Tabla modificada de Dalosto y col., 2014)

Especie	Proporción de sexos (M:H)	Densidad poblacional (ind/m²)	Autores
<i>A. castro</i>	1:1	-	Swiech-Ayoub y Masunari 2001
<i>A. castro</i>	1,08:1	-	Fransozo y col., 2003
<i>A. franca</i>	-	2,2-2,7	Bueno y col., 2007
<i>A. franciscana</i>	1:1	-	Gonçalves y col., 2006
<i>A. eptodactyla</i>	1,19:1	-	Noro y Buckup 2002
<i>A. longirostri</i>	1:1	-	Colpo y col., 2005
<i>A. parana</i>	2:1*	-	Grabowski y col., 2013
<i>A. paulensis</i>	1,66:1	-	Cohen y col., 2011
<i>A. platensis</i>	1,08:1	8,7-19	Bueno y Bond-Buckup 2000
<i>A. platensis</i>	1,33:1*	1,8-3,83	Dalosto y col., 2014
<i>A. schmitti</i>	2,1:1*	-	Teodósio y Masunari 2009
<i>A. manuinflata</i>	1:1	0,73-2,92	Trevisan y Santos 2014
<i>A. uruguayana</i> (ER)	0,70:1	0,93-6	Estudio presente
<i>A. uruguayana</i> (SF)	1,25:1	6-22	Estudio presente
<i>A. uruguayana</i> (CD)	1,16:1	2,73-9,66	Estudio presente

Periodo reproductivo

Las poblaciones analizadas en el presente estudio presentaron diferentes estrategias reproductivas en lo que respecta a la duración del periodo reproductivo. El cual en aeglidos generalmente puede variar de extendido (de 8 a 12 meses) a estacional (de 4 a 7 meses). En CD las hembras ovígeras fueron capturadas durante todo el ciclo anual. Estos resultados son consistentes con las observaciones realizadas por Viau y col., [99] en climas templados.

Según estos autores, *A. uruguayana* es una especie que presenta un periodo reproductivo extendido, de enero a diciembre. Sin embargo, esta observación no coincide con la extensión del periodo reproductivo registrado en ER y SF, donde las hembras ovígeras fueron capturadas en otoño e invierno. A pesar de las diferentes estrategias reproductivas, los datos del presente trabajo son consistentes con los patrones generales conocidos para otras especies de *Aegla*, donde la reproducción es durante todo el año con picos en los meses más fríos [131], [78], [83], [86], o simplemente concentrado en los meses más fríos [98], [77], [64], [79], [101]. Bueno y Shimizu [100] han sugerido que el gradiente latitudinal y las características del clima regional pueden afectar el patrón del ciclo reproductivo en *Aegla*. Por lo que, especies de áreas templadas más frías en latitudes altas tienden a mostrar un ciclo reproductivo extendido [131], [78], [99], mientras que las especies de regiones más cálidas en latitudes más bajas muestran marcada estacionalidad reproductiva [56], [57], [100], [53], [80], [101].

Algunos autores postulan que el patrón reproductivo de *Aegla* (el cual presenta generalmente una correlación negativa con la temperatura) sería consecuencia del origen evolutivo que tienen estas especies [86]. Debido a que es posible que el género haya evolucionado de un ancestro marino de las aguas frías de pacífico Sur [36] por lo cual las temperaturas más frías encontradas en los ambientes de agua dulce serían la temperatura óptima para sostener la reproducción.

Además, por lo general la velocidad del flujo de agua en cualquier cuerpo de agua está muy determinada por el régimen regional de precipitaciones. Bueno y Shimizu [100] sugirieron que el ciclo reproductivo en los aeglidos tiende a ser más largo o más corto en lugares donde la variación media de la precipitación anual (expresada como el desvío estándar) es menor o mayor de 60 mm, respectivamente. En el presente trabajo, la variabilidad media anual de las precipitaciones de los tres sitios analizados fue inferior a 60 mm (ER 37,21 mm, SF 40,41 mm y CD 38 mm), por lo que el patrón reproductivo observado en ER y SF sigue esta tendencia esperada. Pero lo registrado en CD (ovígeras durante las 4 estaciones) no coincide con la tendencia esperada [100].

Los datos publicados hasta la actualidad en *Aegla* sugieren la existencia una correlación entre la variación en la velocidad del flujo de agua y el momento en que la mayoría de los juveniles eclosionan, independientemente del patrón reproductivo de la especie [84]. En las especies que presentan reproducción estacional, los juveniles eclosionan cuando la velocidad del flujo de agua es menor [100], [80], [82]. El mismo patrón

se puede extraer del periodo reproductivo registrado en SF y ER, en donde la mayoría de los juveniles estarían eclosionando al final del periodo reproductivo de alta intensidad (invierno en SF y otoño en ER) (Figura 19), que coincide con las estaciones “secas” (se registra menor intensidad de precipitaciones que en las estaciones “húmedas”, y en las cuales la velocidad del flujo de agua es la más baja (Tabla 1). Luego, la reproducción cesa durante las estaciones “húmedas” (primavera y verano), cuando la velocidad del flujo de agua es mayor. Sin embargo, esta observación no concuerda con lo registrado en CD, población en la cual el periodo reproductivo de mayor intensidad fue en primavera, lo cual coincide con la estación más “húmeda” y cuando la velocidad del flujo de agua es mayor.

En cuanto al periodo de reclutamiento, en las tres poblaciones la mayor cantidad de reclutas fue registrada en las estaciones más cálidas y “húmedas” del año. A partir de lo cual, la mayor intensidad en las precipitaciones, las temperaturas más cálidas y la mayor velocidad en el flujo de agua podrían interpretarse como las condiciones ambientales “más favorables” para los reclutas. La abundancia de juveniles en estas estaciones sería una estrategia que les permite utilizar los recursos más abundantes de primavera y verano [79]. A su vez, la mayor intensidad en las precipitaciones y en la velocidad del flujo del agua podría favorecer la dispersión de estos organismos (la cual es muy baja si debieran valerse por sus propios medios), alejándolos de los adultos. Lo que conllevaría a disminuir la probabilidad de canibalismo por parte de estos. De este modo, al mantenerse relativamente alejados de los adultos, los reclutas tendrían acceso a determinados recursos (tales como alimento y refugio), los cuales les serían muy difíciles de acceder si se encontraran compartiendo el espacio con los ejemplares de mayores tallas. Al respecto, en un estudio preliminar (Diawol y col., datos sin publicar) en el cual se estudió la preferencia de hábitat (microhábitat) en *A. uruguayana* se observó un uso diferencial del ambiente (o preferencia de hábitat) por parte de los cangrejos. Este se relacionó con el estadio ontogenético, la talla de los ejemplares y el estadio reproductivo (hembras con o sin huevos). El sitio donde se registró la mayor cantidad de reclutas fue donde se encontró la menor cantidad de adultos. Las características geomorfológicas de este sitio fueron: fondo arena y pedregullo, ausencia de piedras, profundidad hasta 50 cm y flujo de agua reducido (respecto a los otros puntos analizados).

En cuanto al periodo del año en donde fueron más abundantes los reclutas, las observaciones del presente trabajo son consistentes con lo registrado en otras especies de aeglidos. En *A. platensis* el reclutamiento se observó durante la primavera [131], [121],

mientras que en *A. franciscana* y *A. marginata* el reclutamiento se observó en verano [64], [86]. Según estos autores la mayor concentración de reclutas observados en los meses más cálidos del año estaría en relación con la mayor intensidad reproductiva que presentan estos organismos durante los meses anteriores. Sin embargo, en el presente trabajo los reclutas fueron más abundantes en primavera- verano (Figura 19).

Desarrollo gonadal

En las tres poblaciones se encontraron machos y hembras con gónadas morfológicamente listas para la reproducción durante todas las estaciones. En CD y SF, las hembras con gónadas en los últimos estadios de desarrollo se registraron solo en algunas estaciones, y no durante todo el año. Pero sí se encontraron en estas poblaciones, machos con gónadas maduras durante todas las estaciones. Al respecto, el alto porcentaje de machos con gónadas morfológicamente maduras registrados durante el ciclo anual en las tres poblaciones, estarían indicando que el sistema reproductor masculino se encuentra todo el año preparado para la transferencia de material genético. En cambio, las hembras presentarían periodos más marcados en los cuales se encuentran preparadas para el evento reproductivo. Sin embargo, a pesar de las variaciones encontradas entre las poblaciones analizadas, durante el año de muestreo en cada sitio se registraron ejemplares machos y hembras en diferentes etapas de desarrollo gonadal, lo cual indicaría que la maduración gonadal es un proceso asincrónico, ya que en todo momento una parte de la población o bien esta lista o bien se está preparando para la reproducción. Resultados semejantes fueron observados por Sokolowicz y col., [130] en *A. platensis*.

En las especies con periodos reproductivos extendidos, si bien la mayor parte del tiempo los ejemplares se están reproduciendo, este evento se maximiza en momentos particulares del año. En el caso de las tres poblaciones analizadas de *A. uruguayana* esto ocurriría durante las estaciones con menor temperatura, momentos en los cuales se observó el mayor desarrollo gonadal (mayor valor de IG) en las hembras; en ese período la mayoría de las hembras se estarían preparando para la reproducción justo cuando las ovígeras fueron más abundantes. Estos resultados coinciden con lo observado en *A. platensis* [130], donde el pico de desarrollo gonadal se registró en otoño. En los machos, el mayor desarrollo gonadal se observó en diferentes estaciones del año para ER, SF y CD. Solo los ejemplares de ER coincidieron con lo registrado para *A. platensis* [130], donde el mayor IG fue en otoño.

El inicio del periodo reproductivo es un evento crítico por el costo energético que los organismos deben destinar a su sistema reproductor [176]. Los resultados de la presente investigación sobre los IG y IHP en ambos sexos de las tres poblaciones de *A. uruguayana* coinciden con estudios realizados en *A. platensis* [130]. En ambas especies se observó que se sigue un patrón de utilización de las reservas del hepatopáncreas durante el desarrollo gonadal tanto en hembras como en machos, ya que se registró una correlación negativa entre el IHP y el IG durante los diferentes grados de desarrollo gonadal (Figura 26). Sin embargo, las reservas del hepatopáncreas nunca se utilizaron completamente, aun cuando el IG alcanzó su máximo valor. Durante el proceso de desarrollo gonadal se pierde mucha energía para la producción de gametas, especialmente en las hembras, las cuales transfieren más energía a las gónadas para la producción de vitelo. Por lo cual era esperable que los valores de IHP fueran inferiores a los observados. Por lo tanto, en estos decápodos, podría pensarse que las reservas energéticas necesarias para el desarrollo gonadal son transferidas no solamente desde el hepatopáncreas, interviniendo en este proceso otras fuentes de energía. Al respecto, existen antecedentes en otras especies de crustáceos en los cuales se demostró que diversas fuentes de energía intervienen o podrían intervenir en este proceso. Si bien en los crustáceos decápodos, el hepatopáncreas es el principal órgano de almacenamiento de reservas orgánicas identificado para el desarrollo ovárico [176], [177], [178], en las investigaciones que incluyeron a los machos no se encontró correlación entre la utilización de estas reservas durante el desarrollo gonadal [179], [180], [176]. Otros estudios mostraron que el hepatopáncreas puede no ser el principal órgano de almacenamiento de las reservas orgánicas durante la reproducción; estas investigaciones no encontraron correlaciones entre este órgano y el desarrollo gonadal, como en *Macrobrachium rosenbergii* [181] y *Uca annulipes* [182]. En algunas especies, tales como *Aristeus antennatus*, *Parapenaeus longirostris* y *Nephrops norvegicus* [183], los valores IHP aumentaron junto con los valores IG en la temporada reproductiva. Como así también en diferentes especies se demostró que otros tejidos y órganos además del hepatopáncreas y el ovario pueden acumular reservas orgánicas, como: hemolinfa, células foliculares del ovario, músculos, entre otros [184], [185], [186], [181], [187].

A lo largo del tiempo varias investigaciones se han realizado sobre las variaciones bioquímicas que ocurren en diferentes tejidos y órganos durante la reproducción. Musin y col., [188] observaron en ejemplares de *A. uruguayana* traídos del ambiente natural variaciones estacionales de diferentes metabolitos analizados en hepatopáncreas, músculo y hemolinfa. Estas observaciones coinciden con los resultados obtenidos en la presente

investigación en lo que respecta al momento del año en que se registraron los diferentes eventos reproductivos (picos de desarrollo gonadal, aparición de reclutas, entre otros). Por ejemplo, en el hepatopáncreas los bajos valores registrados de glucógeno en otoño y mínimos en primavera [188] es probable que se deban al uso de este metabolito en la maduración gonadal que tiene lugar en las estaciones más frías. Mientras que los valores de primavera podrían deberse al costo energético del cuidado parental. Como así también, los valores mínimos de lípidos registrados en hepatopáncreas durante el otoño [188] parecen coincidir con su uso en las gónadas, mientras que los valores máximos registrados en verano podrían representar el almacenamiento de reservas por este órgano para su uso en el siguiente evento reproductivo. En las tres poblaciones analizadas en la presente investigación, el mayor valor de IG en hembras se registró en las estaciones más frías, y los reclutas se observaron en las estaciones más cálidas del año (primavera- verano), lo cual estaría en concordancia con las observaciones de Musin y col., [188]. Al momento de evaluar el costo energético del proceso reproductivo, se debe tener en cuenta las particularidades de los ejemplares, en este caso que la reproducción en aeglidos es un proceso asincrónico, el cual incluye cuidado parental. López Greco y col., [148] argumentaron que este aspecto reproductivo es ventajoso para optimizar la supervivencia en los ambientes de agua dulce, en los que la disponibilidad de alimentos y los sitios de cría pueden fluctuar en pequeños periodos de tiempo [189], [190]. En algunos casos los procesos de reproducción y maduración gonadal parecen estar influenciados o incluso sincronizados con la alimentación estacional o la disponibilidad de los alimentos [187]. La disponibilidad de alimentos durante todo el año también podría explicar la baja movilización desde el hepatopáncreas hacia las gónadas en *A. uruguayana*. Según Clarke [191], en especies omnívoras, cuando se dispone de alimentos durante todo el año, puede no ser evidente la relación recíproca entre el hepatopáncreas y gónada. *A. uruguayana* es una especie omnívora, generalista y oportunista, que se alimenta de algas, larvas de insectos, ácaros, rotíferos, oligoquetos, copépodos y ostrácodos [192]. Por lo tanto, sería posible pensar que, si se usan las reservas de hepatopáncreas, esta pérdida se compensaría con la ganancia directa de la alimentación.

Por otro lado, los altos valores de IHP registrados durante el máximo desarrollo gonadal en *A. uruguayana*, podrían ser explicados mediante la hipótesis postulada por Sowolowick y col., [130] para *A. platensis*. Según estos autores, los aeglidos no necesitarían usar gran cantidad de reservas orgánicas debido al bajo número de huevos extruidos en comparación con los braquiuros, en los cuales si se registra una disminución de las reservas

orgánicas del hepatopáncreas durante el desarrollo gonadal. Sin embargo, aunque el número de huevos en aeglidos es menor, la cantidad de vitelo en estos huevos es mucho mayor, ya que estos animales presentan desarrollo directo, lo que demanda una gran cantidad de energía [11]. Por lo tanto, en *A. uruguayana*, la energía necesaria para los procesos reproductivos sería transferida no solamente desde el hepatopáncreas, interviniendo en este proceso otras posibles fuentes de energía, tales como la hemolinfa, el músculo o la disponibilidad de alimento durante todo el año, entre otras.

Fecundidad y esfuerzo reproductivo

Dentro de los rasgos que le han permitido a los aeglidos la colonización del agua dulce se encuentra el cuidado parental y la fecundidad [148]. La fecundidad y el esfuerzo reproductivo fueron similares en las poblaciones analizadas. En este sentido, las comparaciones con otros aeglidos resultan complejas y deben realizarse con cautela, debido a que: por un lado, existen pocos estudios que aborden en este grupo taxonómico aspectos relacionados a la producción de huevos. Y por otro lado, estos trabajos muchas veces utilizan diferentes metodologías de estudio [56], [174], [193], [98], [146], [64], [100] [53], [86]. En especies de *Aegla* se ha registrado un patrón latitudinal en cuanto a la fecundidad y el tamaño del huevo, en el que los cangrejos de las latitudes más altas producen mayor cantidad de huevos que son pequeños, mientras que en latitudes más bajas producen menor cantidad de huevos, pero de mayor tamaño (Tabla 15). Según Da Silva y col., [86] esta tendencia latitudinal podría estar relacionada con el origen del grupo, debido a que una de las posibilidades es que los aeglidos hayan colonizado las aguas continentales hace alrededor de 75 millones de años, originándose en el Océano Pacífico [36]. Según estos autores, las especies más cercanas al Pacífico que se distribuyen en el sur de América del Sur son más primitivas que las otras especies. Por lo tanto, la tendencia hacia mayor cantidad de huevos de menor tamaño para las especies que se encuentran en latitudes más altas podría ser un rasgo evolutivo de sus ancestros marinos, debido a que los decápodos marinos tienden a tener mayor número de huevos que son de menor tamaño [194]. Si bien los datos obtenidos en el presente estudio se ajustan a este patrón latitudinal general, el volumen de los huevos de las tres poblaciones analizadas es bastante menor al registrado para otros aeglidos, aún para aquellas especies que se encuentran en latitudes semejantes [55]. En tanto que, la notoria diferencia de tamaño de los huevos podría deberse a los ajustes de la especie a condiciones ambientales diferentes, resultando una

particularidad de los aéglicos propia de esta región. En este sentido, sería fructífero la realización de nuevas investigaciones en otras especies del grupo pertenecientes a la región, las cuales podrían aportar información para profundizar la observación del presente trabajo. Por otro lado, la talla de madurez sexual de los organismos por lo general aumenta progresivamente con la latitud. En el presente trabajo, las tallas de las hembras ovígeras de menor tamaño registradas en ER, SF y CD, se ajustan a esta tendencia general observada en diferentes aéglicos (Tabla 15). Este patrón a menudo se relaciona con la temperatura y las diferencias metabólicas que se producen a lo largo del rango latitudinal de las especies, es decir, a bajas temperaturas los individuos crecen y maduran más lentamente que a temperaturas mayores [195], [156].

En cuanto al esfuerzo reproductivo, los valores medios encontrados en las tres poblaciones analizadas son similares a los valores observados en otros anomuros, los cuales oscilaron entre 3% y 10% del peso corporal [196], [155], [197], [164], [86]. Aunque los valores registrados en ER y CD parecen ser relativamente bajos, según Hernáez y Wehrtmann [164] la cantidad de energía gastada en la reproducción es suficiente para garantizar el éxito de estas especies durante el desarrollo embrionario.

Tabla 15. Compilación de datos de fecundidad, tamaño de huevo (media y desvió estándar), tamaño de hembra ovígera de menor tamaño (LC = longitud del cefalotórax sin rostro, LCR = longitud del cefalotórax con rostro) por latitud en diferentes especies de aeglidos (Tabla modificada de Da Silva y col., 2016)

Especies	Latitud	Fecundi- dad	Tamaño ovígera más pequeña	Tamaño huevo	Referencias
<i>A. franca</i>	20°18'	57-193	12,06 (LC)	1,34 ± 0,11	Bueno y Shimizu 2008
<i>A. perobae</i>	22°37'	-	11,8 (LCR)	1,336	Rodrigues y Hebling 1978
<i>A. paulensis</i>	23°27'	64-113	11,5 (RCL)	1,299± 0,006	Lopez 1965
<i>A. marginata</i>	24°16'	42-146	8,60 (LC)	1,32 ± 0,29	Da Silva y col., 2016
<i>A. schmitti</i>	24°31'	-	14,14 (LC)	-	Chiquetto-Machado y col., 2016
<i>A. strinatii</i>	24°38'	1-325	15,63 (LC)	-	Rocha y col., 2010
<i>A. leptodactyla</i>	28°38'	115-368	14,09 (LC)	-	Noro y Buckup 2002
<i>A. franciscana</i>	29°26'	28-210	9,19 (?)	1,35	Goncalves y col., 2006
<i>A. uruguayana</i> (ER)	31°47'	38-178	15,5 (LC)	0,06 ± 0,011	Presente estudio
<i>A. uruguayana</i> (CD)	32°13'	186-549	14,73 (LC)	0,07 ± 0,008	Presente estudio
<i>A. uruguayana</i> (SF)	32°30'	143-198	11,13 (LC)	0,07 ± 0,015	Presente estudio
<i>A. laevis laevis</i>	33°42'	120-400	12,5(LCR)	1,075	Bahamonde y Lopez 1961
<i>A. rostrata</i>	39°46'	699-1043	-	1,2 ± 0,003	Jara 1977

Respecto a la relación entre en número de huevos y la talla de las hembras, en las tres poblaciones analizadas hubo similitud y consistencia con observaciones realizadas en *A. leptodactyla* [98], *A. franciscana* [64], *A. franca* [100] y *A. marginata* [86], para las cuales se ha descrito una relación positiva entre el número de huevos y el tamaño de los cangrejos (Figura 18). Estos registros concuerdan con lo postulado por Hines [198] y Hartnoll [90], según los cuales existe un patrón en el cual el número de huevos aumenta junto al incremento del tamaño corporal de la hembra. Este patrón también ha sido registrado en otros crustáceos, tales como langostas [199], [200], anomuros [155], [93], [164] y camarones [154], [201], [202], [203].

En el presente estudio, no se observó en ninguna de las poblaciones estudiadas una pérdida significativa en el número medio de huevos durante el desarrollo embrionario. Resultados similares fueron registrados en *A. marginata* [86] y en *Petrolisthes granulosus* [155]. A diferencia de lo reportado en otros crustáceos, en donde se observó una pérdida

del 30% [204], [205], del 15% [206] y del 13% [196]. Los decápodos presentan estructuras para el aseo y la limpieza de la masa embrionaria, además de comportamientos específicos que disminuyen el efecto del ensuciamiento [207]. Este comportamiento de aseo “*grooming*” de la masa ovígera ha sido estudiado en varias especies de decápodos [208], [209], y dentro de los aeglidos Martin y Felgenhauer [210] lo estudiaron en *A. platensis* y *A. uruguayana*. Esta conducta es realizada por las hembras ovígeras, las cuales utilizan el quinto par de pereópodos para limpiar y eliminar partículas y organismos de la masa ovígera. Da Silva y col., [86] postulan que probablemente la limpieza constante de los huevos, la cámara abdominal cerrada y mantenerse largos períodos refugiadas en sitios con baja velocidad de corriente son estrategias adoptadas por las hembras, las cuales permitirían que no se pierdan los huevos durante su incubación.

En dos de las tres poblaciones estudiadas en el presente trabajo (ER y CD), el volumen del huevo cambio durante la embriogénesis. En estos, se observó una tendencia a disminuir el volumen del huevo a medida que aumento el grado de desarrollo embrionario (Tabla 9). Estos datos no concuerdan con estudios realizados en *A. franca* y *A. strinatii* [100], [53], en los cuales se observó el patrón opuesto (aumento en el volumen del huevo). Sin embargo, algunos estudios han demostrado que el volumen del huevo no cambia durante el desarrollo [211], [146], [86], lo cual coincide con lo registrado en la población de SF. Además de las diferencias intrapoblacionales antes mencionadas, en el presente estudio también se registraron diferencias interpoblacionales en el volumen de los huevos pertenecientes al mismo estadio de desarrollo embrionario. Sin embargo, se considera que sería necesario profundizar estos estudios, incrementando el número de ejemplares analizados, además de incluir otras técnicas de análisis (como por ejemplo: histología o la utilización de microscopia electrónica) las cuales podrían permitir obtener mayor información.

Senescencia

El bajo número de hembras con gónadas maduras y hembras ovígeras de gran tamaño (LC > 19,86) registradas en las tres poblaciones analizadas indicarían que en *A. uruguayana* existe una disminución de la intensidad reproductiva con el avance de la edad (Figura 27). Similares resultados fueron registrados en *A. marginata* por Da Silva y col., [86]. Estos autores observaron que las hembras ovígeras son más abundantes en tallas de menor tamaño, comparadas con las hembras con gónadas maduras que son más abundantes en

tallas mayores. A partir de ello, postulan que en *A. marginata* existe una senescencia gradual, donde las hembras muestran una disminución en la eficiencia reproductiva a medida que envejecen [162], [212]. Un patrón similar al observado en *A. strinati* [53]. A diferencia de lo que ocurriría en *A. marginata* y *A. strinati*, en el presente trabajo se postula la existencia de una senescencia no gradual (abrupta), debido a que la mayor frecuencia de hembras con gónadas maduras y hembras ovígeras presentaron un solapamiento en cuanto a la clase de talla. Sin embargo se sugiere profundizar en este tipo de análisis.

Remaduración ovárica

Los decápodos presentan diferentes estrategias reproductivas modeladas por factores intrínsecos y extrínsecos. Estas variaciones reflejarían los ajustes biológicos y ecológicos ocurridos durante su historia de vida que les han permitido sobrevivir y reproducirse en ambientes con distintas características abióticas [213]. El análisis de remaduración gonadal permitió indagar sobre el tipo de estrategia reproductiva de *A. uruguayana*, a partir de la cual se clasificó a la especie como desovante total. Este patrón de desove es semejante al reportado en otras especies de decápodos, no encontrándose hasta el momento otros registros para el género. El presente trabajo representa un aporte de la investigación realizada por López Greco y col., [148]. Estos autores observaron la eclosión de juveniles de *A. uruguayana*, proceso el cual fue caracterizado como asincrónico, representando el primer informe para Aeglidae. A partir de esta investigación surgen nuevos interrogantes, puntualmente referidos al tipo de desove de estos organismos. Existiendo dos posibilidades: 1) que las hembras presenten desove incompleto (o discontinuo, o asincrónico), con maduración sincrónica de los huevos. 2) que las hembras presenten desove completo (o sincrónico), con maduración asincrónica de los huevos. A partir de las observaciones de la presente investigación, y complementando los aportes realizados por López Greco y col., [148], se caracteriza a la especie como desovante total (desove sincrónico), con maduración asincrónica de los huevos, proceso el cual se produce hacia fines de la incubación, dando origen a una eclosión asincrónica de los huevos. Además, mediante el seguimiento de las gónadas de hembras en diferentes estadios se pudo observar la existencia de una macrodinámica y una microdinámica dentro del proceso general de remaduración gonadal. El plano macro respondería a un proceso gradual de maduración del ovario entre los diferentes estadios analizados. Mientras que el plano micro se referiría a la dinámica propia de cada estadio, la cual presentó variabilidad, posiblemente

debido a diversos factores que pueden influir y ser determinantes dentro del proceso, como por ejemplo, la senescencia, el número de puestas dentro del ciclo, entre otros. En este contexto, la acumulación de variaciones en la microdinámica podrían explicar las diferencias observadas en la macrodinámica gonadal.

En términos generales, la estructura poblacional de ER, SF y CD coinciden con el patrón conocido para los aeglidos, presentando distribución contagiosa, reproducción concentrada en los meses más fríos del año, y liberación de los juveniles en la siguiente temporada. Sin embargo, las comparaciones resultan complejas, ya que hasta el momento no se registran antecedentes de otras investigaciones en aeglidos que incluyan todos los parámetros biológicos y ecofisiológicos analizados en el presente trabajo.

Las similitudes encontradas entre ER, SF y CD fueron: patrón espacial contagioso, proporción de sexos, fecundidad, esfuerzo reproductivo, relación positiva entre el número de huevos y la talla, mantenimiento del número de huevos durante la embriogénesis, presencia de hembras y machos con gónadas maduras durante todo el año, adultos abundantes en estaciones más frías y juveniles abundantes en estaciones más cálidas. Por el contrario, el tamaño máximo de machos y hembras, el dimorfismo sexual, la proporción de estadio ontogenéticos, la densidad poblacional, la agregación, el periodo reproductivo y el volumen de los huevos difirieron claramente entre las tres poblaciones. Según Dalosto y col., [121] la variedad de métodos utilizados por los investigadores es frecuentemente, el mayor obstáculo para las comparaciones fiables entre los estudios poblacionales de *Aegla*. Muchas veces los métodos de muestreo utilizados (trampas, red D, búsqueda manual o cualquier combinación de estos) pueden influir o incluso sesgar los resultados. Lo cual ha quedado expuesto mediante las investigaciones realizadas en dos poblaciones de *A. platensis* [58], [121]. A pesar de esto, actualmente no existe consenso entre los investigadores sobre cuáles son los mejores métodos para realizar estudios poblacionales en estos anomuros. De modo que las comparaciones puedan realizarse de manera más confiable y menos especulativas [121]. En el presente estudio las diferencias registradas entre las poblaciones de ER, SF y CD no pueden ser explicadas por el método de muestreo y de medición, ya que fue siempre el mismo. Por lo tanto, se considera adecuado concluir que existen diferencias considerables entre las poblaciones para varios de los parámetros biológicos y ecológicos analizados. Al mismo tiempo, se registraron diferentes patrones en cuanto a la dinámica poblacional, lo cual sería propio de cada ambiente (o ecosistema). Además, el presente estudio demostró la existencia de variabilidad interespecifica,

sugiriendo que *A. uruguayana* es una especie plástica. Según Sastry [214] el estudio de la variación geográfica en la ecología de una misma especie constituye una fuente de información relevante que permite conocer las adaptaciones de esos organismos al ambiente. El presente capítulo indaga diferentes aspectos de la biología poblacional en tres poblaciones de *A. uruguayana*, lo que ha permitido aportar relevante información para la comprensión del ciclo de vida de esta especie, como así también para el conocimiento de los aeglidos en un sentido más amplio. Este representa el primer registro para el género, ya que hasta el momento no se encontraron antecedentes en otras especies. Lo cual, resalta la importancia de los datos aportados en este capítulo.

CAPÍTULO 2

Crecimiento: variaciones ontogenéticas de la forma y tamaño en *Aegla uruguayana*

INTRODUCCIÓN

El proceso de crecimiento según Fowler [215] está constituido por dos aspectos. El primero se manifiesta como el aumento de masa (tamaño) en el tiempo, y suele ser medido como incremento de longitud, volumen o peso de un organismo. El segundo se refiere a los cambios en la forma y composición que resultan de un crecimiento diferencial de las distintas partes del cuerpo (alometría). La alometría se define como la variación en las variables morfométricas u otras características de un organismo en crecimiento asociados con la variación en el tamaño [216]. Al igual que muchos otros animales de agua dulce, el crecimiento en crustáceos es un proceso discontinuo que se produce en ciclos debido al desprendimiento del exoesqueleto (caparazón) en cada evento de ecdisis [217], [218], [219]. Esta exocutícula restringe el incremento celular a períodos bien definidos [220], hecho que implica la eliminación del antiguo exoesqueleto y formación de un nuevo tegumento [218]. Hay dos componentes básicos en este fenómeno, el aumento de tamaño durante la muda y el periodo de intermuda, estando regulados por factores exógenos y endógenos (edad, sexo, aspectos ambientales, presencia de sustancias xenobióticas, entre otros). Cada uno de estos períodos que se producen entre dos mudas marca un ciclo completo de transformaciones morfológicas, fisiológicas y bioquímicas que son responsables del crecimiento y de la forma del individuo [221], [222], [223]. Cada componente del proceso de crecimiento responde de manera diferente a las variaciones de los factores exógenos o endógenos, y por lo tanto requieren de un análisis independiente [222]. El conocimiento de estos componentes es de suma importancia debido a que la vida de los crustáceos, incluyendo la alimentación, reproducción, movilización de reservas, entre otros, se organiza alrededor y en función del ciclo de la muda [224]. Según Drach [221], [225] la muda no es un acto fisiológico de efectos limitados, sino que impacta profundamente en la vida de los decápodos. La identificación de cómo estos factores interactúan con el incremento de la muda en los individuos es relevante para la comprensión del crecimiento.

El cambio sucesivo del exoesqueleto en los crustáceos tiene importantes implicancias en el estudio del crecimiento. La carencia de estructuras calcificadas permanentes imposibilita el análisis de marcas o líneas que indiquen aumento de talla, como ocurre con otros grupos de animales, como por ejemplo conchillas o valvas de moluscos o las escamas, huesos y otolitos de peces [218]. Por ello, los métodos directos o indirectos deben adaptarse a una visión del crecimiento en ausencia de estructuras

permanentes. Normalmente, el crecimiento de los crustáceos se evalúa a través de una dimensión morfológica, como la longitud o el ancho [226], [218]. Sin embargo, este análisis no considera la variación de forma a lo largo de la vida de estos organismos.

En general, la forma de los organismos varía desde el nacimiento hasta la muerte. Presentando este proceso de desarrollo, diferentes particularidades que responden a características propias de cada especie. Estas variaciones ontogenéticas representan diferentes eventos o condiciones fisiológicas, morfológicas, etológicas de las especies y/o poblacionales (por ejemplo, pubertad, adultos, jerarquía, y reproducción) [227]. Algunas variaciones no permanentes son iniciadas por factores externos y se revierten con el tiempo, mientras que otras representan un cambio definitivo a una nueva etapa de vida [228].

Con el paso del tiempo y el devenir tecnológico, fueron surgiendo nuevas perspectivas en los análisis morfológicos tradicionales, los cuales están siendo complementados con métodos geométricos [229], [230]. Estos últimos evalúan aspectos cualitativos y cuantitativos de los individuos, resultando muy eficaces en la comparación de las formas [231]. Uno de ellos es la Morfometría Geométrica (MG), que combina conceptos de biología, estadística y geometría. La MG se define como “el estudio estadístico de la covarianza entre cambios de forma y factores causales” [232] dejando explícito que la morfometría estudia exactamente las causas de las diferencias de forma entre organismos, sean ellas ecológicas y/o evolutivas [231]. A través de una imagen digitalizada, y previa remoción de los efectos de localización, orientación y tamaño de los organismos, esta aproximación analiza la variación de forma y tamaño de los mismos [233], [234], así como su covariación con otros factores [235]. Esto último resulta de gran relevancia, ya que constituye una parte integral de la biología de los organismos [236]. La forma se define como “toda la información geométrica que se conserva cuando los efectos de la localización, escala y rotación son removidos de un objeto” [237]. Esto obliga a los datos que se den en forma de coordenadas geométricas, que posteriormente pueden ser empleadas en estadística multivariada [238]. Por lo tanto, lo que se busca analizar mediante esta técnica es la forma independientemente de aquellos componentes que no definen la geometría intrínseca del objeto [239].

El modo de capturar la geometría del objeto bajo estudio es a través de la ubicación de coordenadas cartesianas *landmarks* (LM) seleccionados para aproximar curvas y áreas [240] y la deformación de cuadrículas inspirada en los trabajos de Thompson [241]. Los LM

son puntos anatómicos con una ubicación determinada en el objeto a analizar, permitiendo realizar la comparación de caracteres homólogos que representen la forma [231]. La condición de homología que deben cumplir los LM en este tipo de análisis morfométrico no es aquella que se aplica a la homología biológica [242], sino a la homología topológica. La homología topológica hace referencia a estructuras y no a "puntos infinitesimales", no considera un parámetro, sino su presencia o ausencia [242], [243]. Estos puntos o LM se colocan sobre los organismos, considerando referencias morfológicas estables y conformando una configuración en su conjunto [244]. A través de estos análisis, la MG también genera un conjunto de variables que se pueden utilizar para contrastar hipótesis estadísticas [216], [233].

En las últimas décadas, el desarrollo de la MG ha alcanzado áreas de la biología tradicionalmente dedicadas al estudio descriptivo. Como herramienta de análisis ha sido implementada sola [147] o en combinación con estudios clásicos de biometría o con técnicas moleculares [245], [246]. En los estudios MG, se recomienda utilizar las estructuras fijas de los objetos analizados, con el fin de reducir los errores debido a la posición o movimiento de estos [247]. En este sentido, la aplicación de estudios morfométricos en crustáceos decápodos resulta interesantes, debido a que dichos organismos cuentan con un exoesqueleto conformado por una pieza única y rígida, dotada de espinas y suturas que facilitan la ubicación precisa de los LM, y en el caso de *Aeglas*, la forma aplanada dorsoventralmente hace de estos organismos un interesante grupo de análisis [147], [248]. En estos anomuros, la MG ha sido empleada en estudios de variación inter e intraespecífica, ontogenética, dimorfismo sexual, patrones clinales, evolutivos y en descripción de nuevas especies, entre otros [147], [150], [149], [248], [249], [169], [250], [251], [252].

Los estudios sobre el crecimiento en aéglicos son escasos. La mayoría de estas investigaciones utilizaron el análisis modal en lugar de centrarse en el crecimiento individual de cada organismo [103], [55], [56], [58], [59], [104], [253], [105], [106], [107]. Si bien estos estudios evalúan tasas de crecimiento relativo en grupos de la población (por sexo, estadios ontogenéticos o madurez), no proporcionan la variación de talla o el periodo de intermuda en los individuos [254]. No existen estudios que documenten el crecimiento de aéglicos en condiciones de laboratorio que se centren en el análisis de las mudas. Por lo tanto, en el presente capítulo se identificaron y caracterizaron los cambios en la forma y tamaño del cefalotórax del anomuro de agua dulce *A. uruguayana* durante diferentes etapas de su ontogenia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y captura de organismos

Los cangrejos utilizados en este estudio se obtuvieron a partir de muestreos realizados entre abril y septiembre en el arroyo “Las Pencas” (32°17'23.8" S, 60°26'30.53" O), provincia de Entre Ríos, Argentina (Figura 28). En este cuerpo de agua, los cangrejos fueron recolectados manualmente y mediante el empleo de red D. Luego, transportados vivos a la Sala de bioensayos II del Instituto Nacional de Limnología (para más detalle ver “Materiales y Métodos” de esta Tesis Doctoral).



Figura 28. a) Imagen satelital del área de muestreo de *Aegla uruguayana* y b) Arroyo “Las Pencas” en la provincia de Entre Ríos, Argentina

Mantenimiento en laboratorio

Inicialmente, los cangrejos fueron colocados en un acuario y aclimatados en la sala de bioensayos II del INALI durante un período de 5 días bajo condiciones controladas de temperatura ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), luz (fotoperíodo de 12-12hs luz-oscuridad) y aireación constante. A cada ejemplar se le identificó el estadio ontogenético y sexo [118], [99]. Luego, los cangrejos fueron separados y mantenidos individualmente en acuarios de plástico que contenían refugios y vegetación que fueron traídos del sitio de muestreo, contemplando los requisitos ecológicos (vivir protegidos) de estos animales [79]. Diariamente fueron alimentados con balanceado seco diseñado para crustáceos [102]. El excedente de la comida del día anterior y la limpieza se realizó previamente a ofrecer el nuevo alimento. Las condiciones de laboratorio antes mencionadas se mantuvieron constantes durante todo el ensayo.

Los cangrejos se mantuvieron bajo condiciones controladas durante 10 meses o hasta que se produjeron tres ciclos de muda por ejemplar. Estos individuos se observaron diariamente y se registró la presencia de exuvias (cefalotórax eliminado en cada proceso de muda); las cuales se retiraron cuidadosamente y mantuvieron en alcohol 96%, hasta su posterior análisis. Este método de conservación no tiene ningún efecto sobre la forma [255].

Evaluación de la variación de forma y tamaño durante la ontogenia

Las variaciones de forma y tamaño se evaluaron mediante estudios de MG. Con el fin de evitar el manipuleo excesivo y ocasionarles el mínimo estrés posible a los aéglicos se utilizaron en los análisis las exuvias. Los estudios de MG llevados a cabo incluyeron la obtención de imágenes digitales del cefalotórax de los aéglicos (de sus exuvias), la selección de las configuraciones de LM, y mediciones de error en las fotografías (calculado para un mismo ejecutor) y en la colocación de los LM. Procesos los cuales se describen y detallan a continuación.

Obtención de imágenes digitales

La MG como herramienta de análisis requiere contar con imágenes digitales, las cuales se obtienen de diferentes maneras: fotos o dibujos digitalizados. En este caso se utilizaron fotos digitales. Por lo tanto, a cada exuvia se la fotografió en la vista dorsal del cefalotórax. Este procedimiento es de particular importancia, y constituye una etapa fundamental,

debido a que el modo de obtención debe asegurar la representatividad de los objetos a estudiar. Este análisis se relaciona con elementos aislados en la superficie del objeto de estudio de la que luego se obtendrá la información descriptiva para evaluar [256]. En este proceso se debe evitar o minimizar la distorsión de la forma de los objetos a estudiar, por ello se deben tomar las fotografías respetando principalmente el plano focal, el cual está influenciado por la posición y ubicación del objeto a ser fotografiado y la distancia focal. El plano focal debe ser el mismo, utilizando siempre los mismos parámetros (posición y ubicación) que lo determinan. En cuanto a la distancia focal, si bien esta puede variar de una fotografía a otra, esto se debe considerar en los análisis aplicando una corrección a fin de proporcionalizar la escala. En cada fotografía debe incluirse una escala, ya que los estudios de morfometría permiten estudiar la forma y tamaño de los individuos por separado o conjuntamente [231], [244].

De esta manera, la toma de imágenes se realizó respetando la distancia y el plano focal, así como la posición centrada de las exuvias en la placa de apoyo [244]. Si bien, las fotografías siempre fueron sacadas por la misma persona y manteniendo las condiciones antes mencionadas, se realizó una prueba para evaluar el error en la toma de fotografías y colocación de LM. En la mayoría de las oportunidades se utilizaron exuvias completas, es decir, provistas de ambos quelípedos y tres pares de pereiópodos. Si bien fueron incluidas en los análisis algunas exuvias sin estas estructuras, la condición principal para todas las exuvias fue que el cefalotórax estuviese en buen estado, es decir sin deformaciones o rupturas evidentes.

Un total de 159 fotografías del cefalotórax de exuvias fueron obtenidas, siguiendo dos procedimientos:

- Procedimiento uno: las imágenes fueron tomadas con una cámara digital *Sony Cyber-shot®* con una resolución de 12,1 megapíxeles. Las características de las fotografías fueron: macro, resolución óptima, sin flash y velocidad y apertura automática. La distancia de fotografiado fue de 12 cm.
- Procedimiento dos: las imágenes fueron obtenidas mediante una lupa estereoscópica y cámara MOTIC® integrada, con una resolución de 2 megapíxeles y un aumento de 30X más 30X. Este procedimiento fue empleado en los ejemplares de menor tamaño. En algunos casos, fue necesaria la tinción de la exuvia permitiendo resaltar caracteres del cefalotórax de importancia en el estudio.

Estas imágenes fueron empleadas posteriormente en la formación de los archivos con lo que se trabajó en los programas de MG.

Selección de *landmarks*

El criterio de selección de los LM a utilizar es importante ya que es sobre lo que se evidencian los estudios. La homología, referida a los LM, es de tipo operativa [257] y no debe confundirse con el concepto de homología utilizado en taxonomía, es decir, la sinapomorfía utilizada en cladística, como se mencionó más arriba. Los LM no son atributos biológicos a comparar, sino que son el medio que ayuda a escoger estos atributos [257].

Según Bookstein [232], se pueden definir tres tipos de LM en función del criterio geométrico o biológico utilizado para su ubicación:

- LM de tipo 1: aquellos que se encuentran en una zona de yuxtaposición de tejidos, donde se juntan suturas, como, por ejemplo, en puntas de espinas u otro tipo de estructuras que sean inequívocamente identificables.
- LM de tipo 2: aquellos que se colocan en sitios de máxima concavidad o convexidad, como en la concavidad máxima de los senos orbitales.
- LM de tipo 3: aquellos que tienen al menos una coordenada deficiente, como por ejemplo cualquiera de los extremos del diámetro máximo del cefalotórax.

Según Giri [60], el tipo de configuración a seleccionar es importante en relación con los objetivos del trabajo. En el presente estudio se utilizaron los 3 tipos de LM, con el fin de que la información obtenida en los análisis responda al objetivo planteado.

En este caso se utilizó una configuración de 21 LM con la que se calculó la simetría objeto, identificándose un eje de simetría y dos mitades ubicadas a cada lado del cefalotórax. Posteriormente se realizó un emparejamiento que generó un componente simétrico en representación del promedio de la variación entre el lado izquierdo y derecho del cefalotórax de los individuos (Figura 29 y Tabla 16). De este modo se logró reducir la cantidad de LM pares a la mitad, utilizándolos junto con los LM impares ubicados sobre el eje de simetría (LM 1, 10 y 11). La utilización completa de la configuración de LM resulta parcialmente redundante por ser el cefalotórax de estos organismos una estructura simétrica [258], [259], [260]. En tanto que la reducción de variables resulta de gran relevancia para lograr robustez y aumentar el poder estadístico de los análisis.

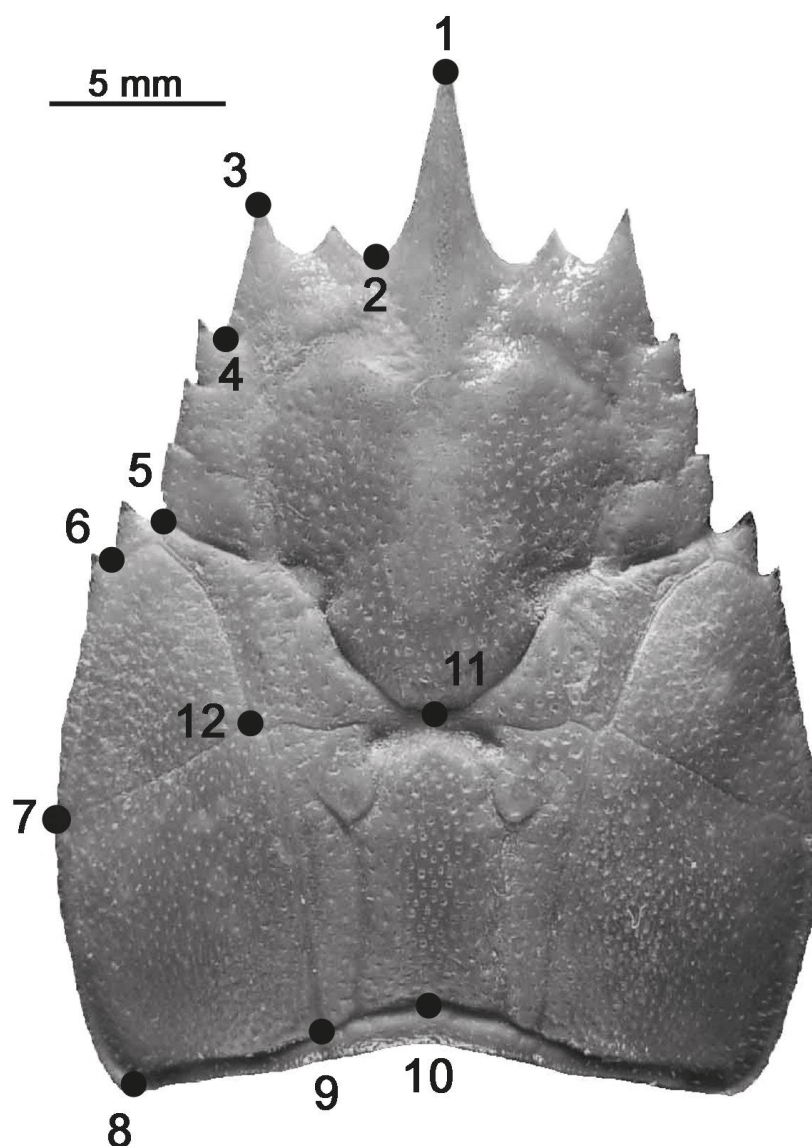


Figura 29. Localización dorsal de LM simétricos correspondientes a la mitad de la configuración utilizada y LM no simétricos (1, 10 y 11) correspondientes al eje de simetría del cefalotórax de *Aegla uruguayana*

Tabla 16. Denominación y localización de *landmarks* (LM) dorsales en la mitad izquierda del cefalotórax de *Aegla uruguayana*

Número	Localización
1 LM	Extremo del rostro
2 LM	Senos orbitales
3 LM	Extremo de la espina antero-lateral
4 LM	Unión entre el 1er y el 2do lóbulo hepático
5 LM	Unión entre el 3er- lóbulo hepático y el diente epibranquial
6 LM	Unión entre el diente epibranquial y la <i>línea aeglica lateralis</i>
7 LM	Unión entre la línea branquial y la parte posterior de la <i>línea aeglica lateralis</i> (ancho máximo del cefalotórax)
8 LM	Vértice posterior del cefalotórax (ancho máximo de la región posterior del cefalotórax)
9 LM	Extremo posterior de la línea dorsal longitudinal
10 LM	Extremo centro-posterior del cefalotórax (ancho máximo de la región posterior del cefalotórax)
11 LM	Extremo centro-anterior de la areola
12 LM	Extremo anterior de la “bar line”

Estudio del error de fotografiado y de colocación de *landmarks*

Por diversos motivos es posible que se obtengan variaciones entre las imágenes (movimientos involuntarios de la cámara de foto o de la placa sobre la que se colocan las exuvias, o variaciones en la posición de las exuvias, entre otras) y/o a la colocación de los LM que pueden ser causantes de errores en los análisis. Para evaluar la existencia de estas diferencias, se aplicó un procedimiento que consistió en repetir dos veces la toma de fotografías de 13 exuvias. En base a estas fotografías, se repitió cuatro veces la colocación de los LM. Seguidamente, se realizó un análisis de *Procrustes* ANOVA (Análisis de la Varianza) en el programa MorphoJ [261] en el que se evaluó la precisión/variación de la colocación de los mismos [262] (Tabla 17).

Análisis de la forma del cefalotórax

Luego de obtener las fotografías de las exuvias, se realizó una selección que consistió en la eliminación de aquellas que resultaran no representativas o tomadas en base a exuvias defectuosas. Los datos fueron creados y procesados con programas informáticos específicos de la serie TPS desarrollados por James F. Rohlf. Para ello, se crearon archivos de extensión *.tps mediante el programa tpsUtil [263], conteniendo las imágenes a usarse definitivamente para el análisis de las formas, utilizando el método de deformación de grillas (Thin-plate-spline) [232], [230].

La elección y digitalización de los 12 LM se realizó mediante el programa tpsDig2 [157]. El paso siguiente consistió en remover los parámetros no deseados ajenos a la forma, como la posición (acomodándolos de manera uniforme mediante la translación y rotación) y el tamaño (unificándolo mediante la proporcionalización), lo cual se realizó a través del programa tpsRelw [264], con el propósito de comparar sólo la forma de los objetos.

La influencia del tamaño sobre la forma a lo largo del crecimiento (alometría) [216], fue testeada mediante regresiones multivariadas usando 10000 permutaciones. Estas regresiones se realizaron usando el valor del centroide (CS) (este valor corresponde al tamaño en MG), el cual se define como la raíz cuadrada de la suma de las distancias al cuadrado desde un conjunto de LM al centro que ellos definen [265]. El valor del CS de cada exuvia se obtuvo utilizando tpsRelw [264]. El CS fue usado como variable independiente y las coordenadas de *Procrustes* (datos de forma de los ejemplares), como variable dependiente [216], [231], [244], [266]. Como una primera aproximación a las relaciones entre las formas, se realizó un análisis exploratorio, utilizando un Análisis de Deformaciones Relativas (DR), el cual es similar a un Análisis de Componentes Principales (PCA), por medio del cual se puede visualizar la distribución de cada una de las formas en un espacio de coordenadas cartesianas. De esta manera, es posible determinar la existencia de diferencias entre las formas y explorar la importancia de estas. Las variaciones morfológicas de las muestras estudiadas se visualizan como grillas de deformación. La configuración media de los LM en la muestra se observa como la configuración de consenso. Posteriormente, utilizando también el tpsRelw [264], a partir del análisis de deformaciones relativas se crea una matriz. En esta se puede observar la distribución de formas de la muestra en base a alguna variable que se elija (por ejemplo, en el caso del presente estudio el sexo y el estadio ontogenético). Para analizar la variación en el tamaño, también se utilizaron los valores del centroide (CS).

- Evaluación de variación de talla

La variación de talla de cada cangrejo se expresó como:

$$\text{Tasa de variación: } (CS_2 - CS_1) / CS_1$$

Donde: CS_1 corresponde al valor del centroide de la primer exuvia de un individuo y CS_2 corresponde al valor centroide de la segunda exuvia del individuo. Esta fórmula se aplicó a todas las exuvias.

- Evaluación del tiempo de intermuda

El tiempo de intermuda se calculó en base al seguimiento diario de los cangrejos (número de días transcurridos entre una exuvia y la siguiente).

Análisis de los datos

El análisis de MG fue realizado mediante la utilización de los programas tpsUtil, tpsDig, tpsDig2, tpsRelw y tpsRegr [267], [264], [263], [268], [269] y MorphoJ [261]. El análisis estadístico de los datos fue realizado con el software R [270].

Inicialmente fue realizado un análisis exploratorio de los datos comprobando si los mismos cumplían con los supuestos estadísticos.

Para comparar el tamaño del cefalotórax (mediante el CS), la tasas de variación de talla y el tiempo de intermuda entre estadios ontogenéticos (juveniles frente a los adultos) y entre los sexos (machos frente a hembras) fue realizada una prueba de Wilcoxon (W) debido a que los datos no presentaron una distribución normal y/o las varianzas no fueron homogéneas. Las formas de las exuvias individuales y la comparación de las formas de machos y hembras fueron realizadas mediante un MANCOVA. En todos los casos, el valor $p < 0,05$ fue utilizado como criterio de significancia estadística [166].

RESULTADOS

Durante la realización de la experiencia, el 90% de las exuvias fueron encontradas durante las primeras horas de la mañana.

Medida de error: relación entre las imágenes de las fotografías y la localización de los landmarks

El error de medición fue aceptable y su efecto no influyó en las variaciones de forma entre los individuos. Los cuadrados medios para la variación individual fueron mayores que los cuadrados medios de otros efectos (lado, lado individual y error). La variación lateral de la forma del cefalotórax por espécimen no fue estadísticamente significativa ($p > 0,05$) (Tabla 17).

Tabla 17. Error de medición entre las imágenes de las fotografías y la ubicación de los *landmarks*. Donde SS se refiere a la suma de los cuadrados, MS al valor medio y GI a los grados libertad

Efecto CS	SS	MS	GI	F	p
Individuo	12560824,14	1046735,34	12	4073,72	<0,0001
Error 1	3340,32	256,95	13	10,05	<0,0001
Residuo	664,97	25,57	26		

Efecto	SS	MS	GI	F	p
Individuo	0,02009	0,00009	228	3,77	<0,0001
Lado	0,00061	0,00003	19	1,38	0,1361
Indiv*Lado	0,00532	0,00002	228	1,03	0,4002
Error1	0,01123	0,00002	494	3,97	<0,0001
Residuo	0,00566	0,00001	988		

Variación de forma y talla a lo largo de la ontogenia

Los cangrejos de diferentes tamaños presentaron diferencias en la forma del cefalotórax, mostrando cambios ontogenéticos y alométricos durante el crecimiento. Esta variación explicó el 4,38% ($p < 0,0001$). Además, los cambios individuales en cada exuvia (crecimiento) fueron similares en los juveniles y adultos estudiados, con ciertas variaciones en la forma del cefalotórax representando de cada estadio ontogenético (MANCOVA: Wilks' $\lambda = 0,56$; $F_{9,11} = 5,34$; $p = 9,03e-10$). El tamaño del cefalotórax identificado con el CS fue

también estadísticamente significativo en estos grupos ($W = 20,0$; $p < 2,2e-16$), estableciendo una relación entre forma y tamaño CS (Figura 30).

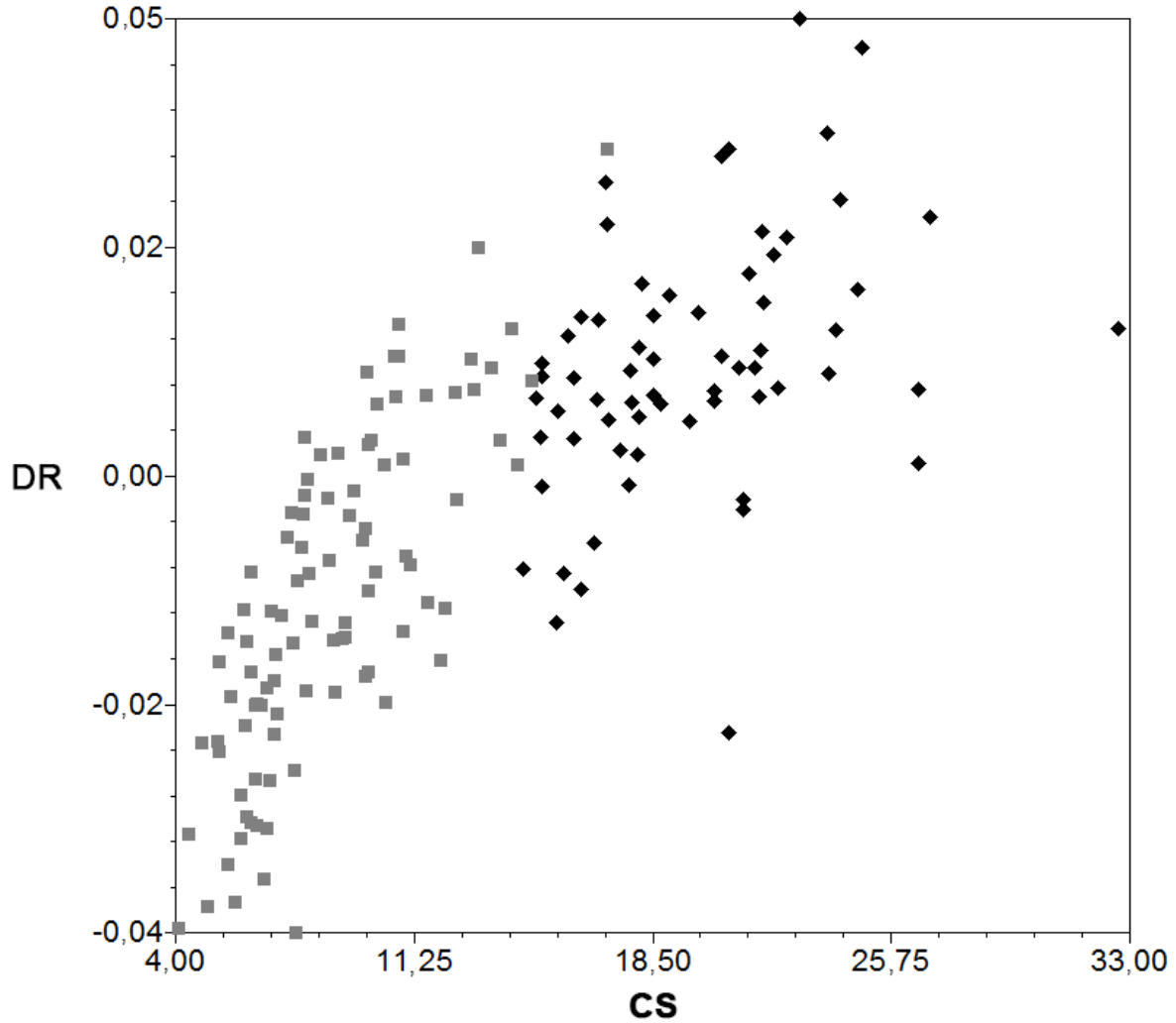


Figura 30. Relación de la forma al tamaño, distribución de las variaciones en la forma del cefalotórax, explicado por la deformación relativa (DR) 1 y 2 de juveniles (cuadrados grises) y adultos (diamante negro) de *Aegla uruguayana*

En comparación con los adultos la región anterior y posterior del cefalotórax (LM6-LM12) de los ejemplares más pequeños fue menos definidas. Los juveniles presentaron un rostro más corto y romo (LM1), y la región de la frente (LM1-LM3) más robusta que en adultos. Además, el ancho del caparazón (LM7) fue más estrecho en los juveniles. Los

ejemplares más grandes presentaron la región anterior y posterior del cefalotórax bien definido. El rostro fue más largo y estilizado (LM1) y la frente más estrecha (LM1-LM3) en los adultos (Figura 31).

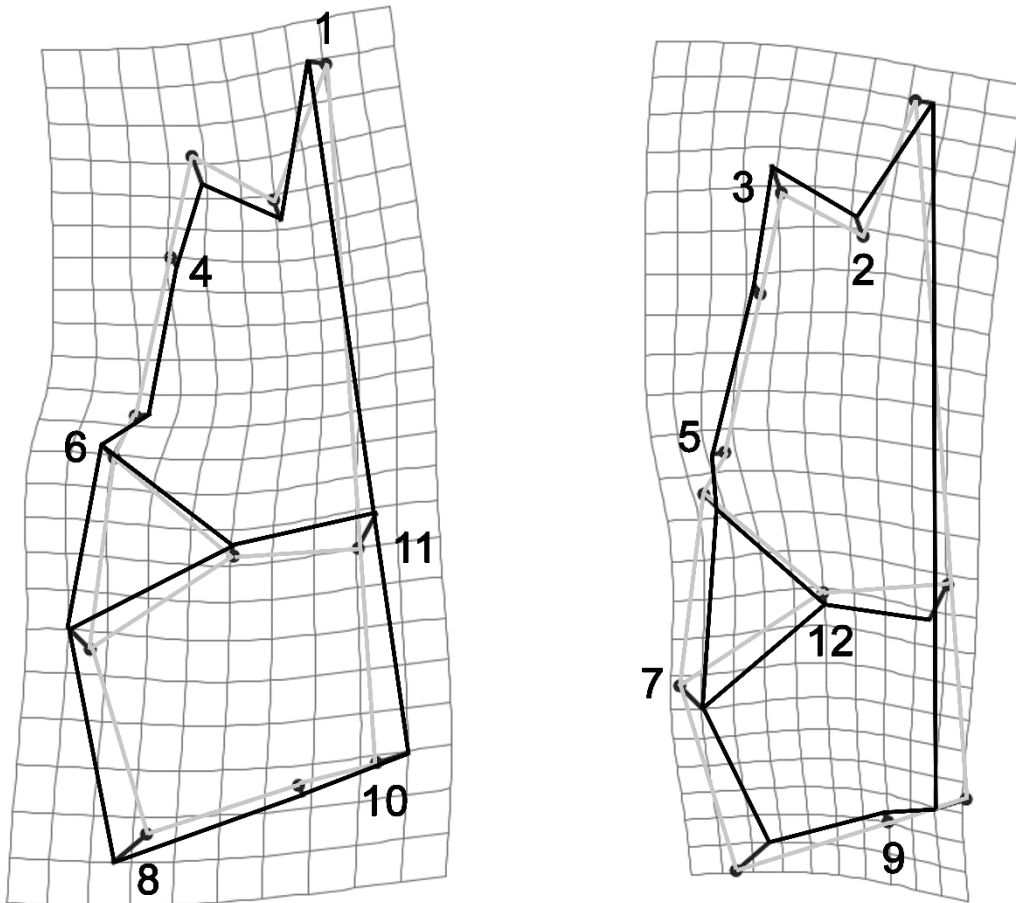


Figura 31. Grillas de deformación de juveniles (negro derecho), adultos (negro izquierdo) y configuración de consenso (gris) de *Aegla uruguayana* (Factor de escala 35)

En cuanto al dimorfismo sexual (DS), se observaron diferencias en la forma del cefalotórax de machos y hembras (MANCOVA: Wilks $\lambda = 0,49$; $F_{9,11} = 2,14$; $p = 0,02$). El eje uno exhibió la mayor variación de la forma. La deformación relativa 1 explicó 21,45% de la variación en la forma y la deformación relativa 2 explicó 14,08%. Sin embargo, la alometría (se observó en los límites de la significancia) no fue estadísticamente significativa entre los

sexos, explicando 2,78% de la variación ($p = 0,0562$) (Figura 32). Por otra parte, la variación en el tamaño del cefalotórax entre los machos y hembras (se observó en los límites de la significancia) no fue estadísticamente significativo ($W = 549,0$; $p = 0,51$). Los machos presentaron un ancho máximo (LM7) menor a las hembras y estas presentaron un rostro más largo (LM1) y una frente más estrecha (LM3). En general, el área del rostro (LM1-LM3) fue más robusta en los machos (Figura 33).

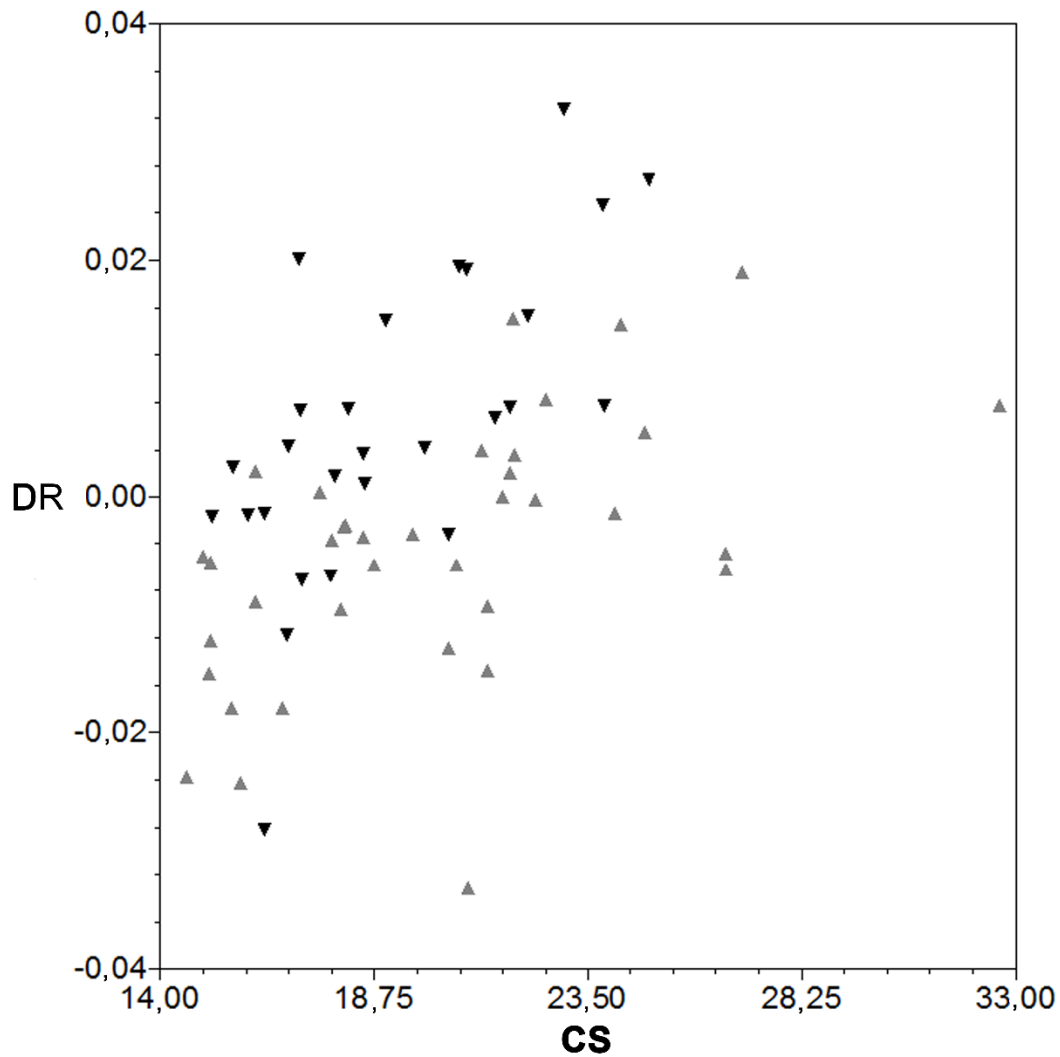


Figura 32. Relación de la forma al tamaño, distribución de las variaciones en la forma del cefalotórax, explicado por la deformación relativa (DR) 1 y 2 para los machos (triángulo gris arriba) y las hembras (triángulo negro abajo) de *Aegla uruguayana*

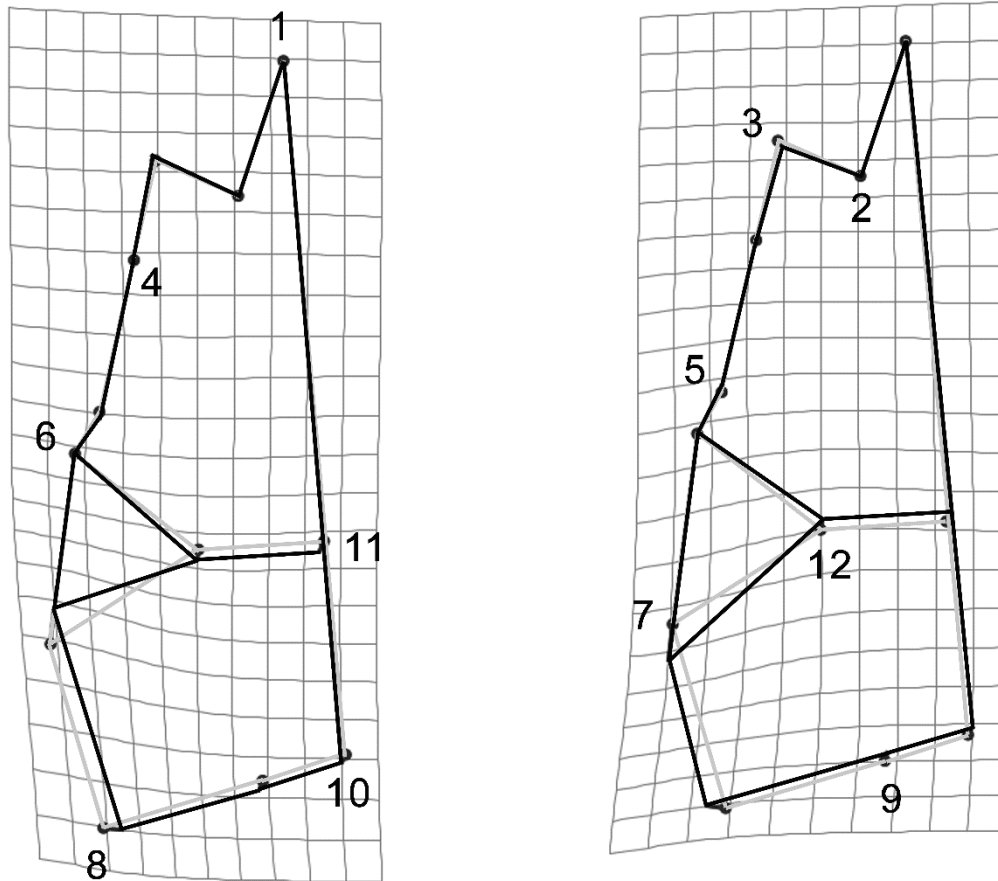


Figura 33. Grillas de deformación de machos (negro izquierdo), hembras (negro derecho) y configuración de consenso (gris) de *Aegla uruguayana* (Factor de escala 35)

Tasa de crecimiento en relación con la talla y el sexo

Las tasas de crecimiento individuales presentaron una tendencia de disminución a medida que la talla de los cangrejos aumentó, cambiando con el incremento del CS. Además, los individuos de menor talla mostraron una mayor variabilidad en el crecimiento (Figura 34). Mientras que la tasa media de crecimiento en adultos fue significativamente menor que la de los juveniles ($W = 770,0$; $p = 0,04$). La tasa de crecimiento evaluada respecto al sexo de los individuos, no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los machos y hembras ($W = 131,0$; $p = 0,48$) (Figura 34).

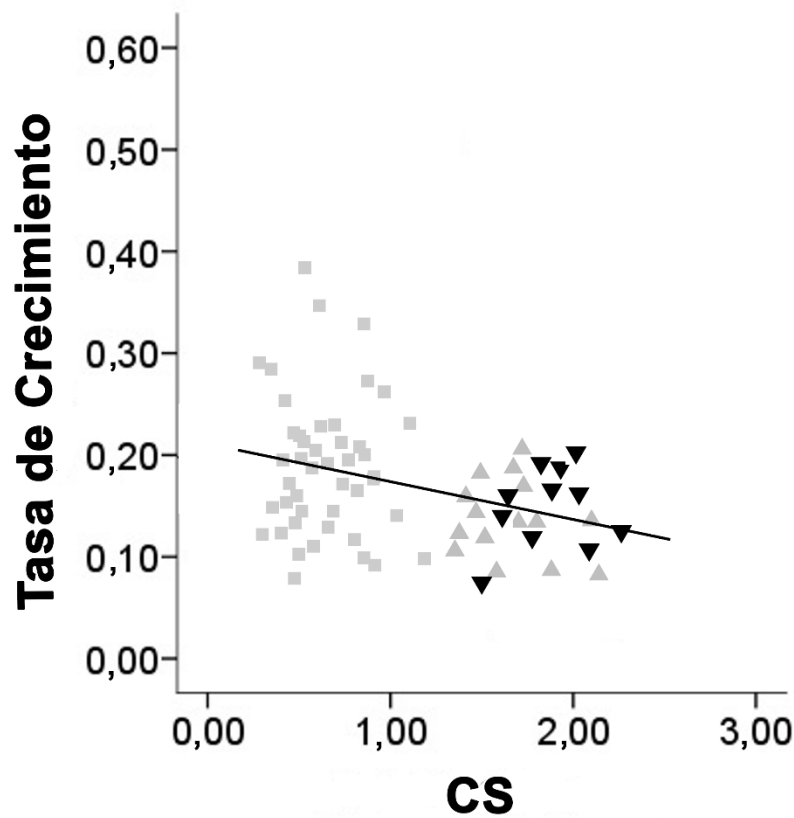


Figura 34. Tasa de crecimiento de juveniles (cuadrado gris), machos (triángulo gris arriba) y hembras (triángulo negro abajo) de diferentes tamaños (CS) de *Aegla uruguayana*, $r = 0,031$

Período de intermuda

En todos los grupos analizados, el tiempo de intermuda aumentó con el tamaño de los cangrejos (Figura 35). Se observó una relación directa entre talla y tiempo de intermuda. Los juveniles con un tamaño de CS de $1,11 \pm 0,39$ registraron un tiempo promedio de $32,00 \pm 14,45$ días en alcanzar una nueva ecdisis a 25 ± 1 °C. Mientras que los adultos, con un tamaño de CS de $2,45 \pm 0,56$, tuvieron un promedio de intermuda de $52 \pm 14,05$ días. Los valores medios de intermuda fueron $46 \pm 3,56$ días en machos y $56 \pm 17,44$ días en hembras (tamaño medio de CS $2,49 \pm 0,62$ y $2,38 \pm 0,49$, respectivamente). La diferencia en el tiempo de intermuda entre juveniles y adultos fue estadísticamente significativa ($W = 38,5$; $p = 0,0004$). Sin embargo, la variación en el tiempo de intermuda entre los sexos no fue estadísticamente significativa ($W = 13$, $p = 0,52$).

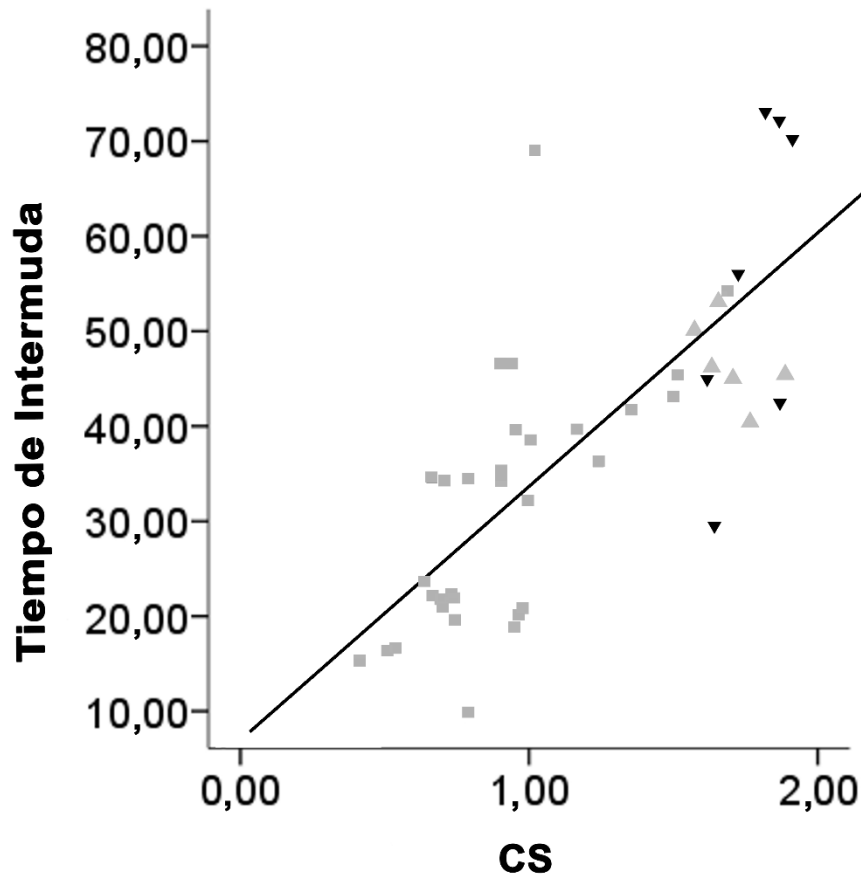


Figura 35. Relación entre el tiempo de intermuda (días) y el tamaño (CS) de juveniles (cuadrado gris), machos (triángulo gris arriba) y hembras (triángulo negro abajo) de *Aegla uruguayana*, $r = 0,552$

DISCUSION

Durante la ontogenia se registraron cambios en la forma del cefalotórax de los individuos estudiados, además de variaciones en el tamaño. Los cambios en la forma del cefalotórax se relacionaron con las distintas etapas del desarrollo ontogenético (juveniles y adultos) y con el dimorfismo sexual en los adultos. El dimorfismo sexual se observó como una variación en la forma y no en el tamaño del cefalotórax. Así de acuerdo con las evidencias encontradas en este trabajo se propone un nuevo concepto alternativo de crecimiento; considerado como el cambio o variación de talla (peso, volumen, largo, ancho, alto) y de forma de las diferentes partes del cuerpo de un organismo (referido a las tasas alométricas

de esa variación), ocurriendo este proceso de manera simultánea en una o más dimensiones. Este proceso no es uniforme en el organismo, sino que las direcciones del crecimiento de las diferentes partes corporales pueden ser asincrónicas.

En este trabajo, se observaron variaciones en el tamaño y la forma de los individuos a través de múltiples exuvias; diseño que ha permitido una perspectiva original y el reconocimiento de diferentes aspectos del crecimiento que se presentan comúnmente. El estudio del crecimiento durante el ciclo de muda difiere de los métodos tradicionales, tanto los realizados en condiciones controladas, como aquellos llevados a cabo en el ambiente [114], [106], [107], [254]. En relación con aquellos trabajos que consideran medidas unidimensionales, el análisis del tamaño representado por el valor del centroide y la forma completa del cefalotórax representado por *landmarks* han permitido estudiar el crecimiento como una aproximación integral. En este contexto, se ha podido identificar el grado de cambio de la forma durante el crecimiento en diferentes regiones del cefalotórax de estos anomuros. Estas diferencias podrían reflejar el crecimiento interno (por ejemplo, las gónadas y los músculos) o la jerarquía y/o el comportamiento agonístico en la población (por ejemplo, diferentes dimensiones en el cefalotórax, armamento y quelas) [271], [147], [99], [132]. Además, el conocimiento de las variaciones de la forma durante el crecimiento en varias especies podría brindar información sobre la evolución del grupo o la interacción de estos organismos con el medio ambiente [222], [16].

Debido al momento del día en que fueron encontradas la mayoría de las exuvias, se podría pensar que la ecdisis en *A. uruguayana* ocurre durante la noche o a la madrugada. Esta observación coincide con lo señalado en otros crustáceos: *M. australiensis* [272], *Pleoticus muelleri* [273].

En los aéglicos analizados se observaron diferencias en el tamaño y la forma del rostro y el área posterior del cefalotórax entre los juveniles y los adultos. Estas observaciones son consistentes con la localización en la cual ocurre la muda de la pubertad. Teodósio y Masunari [79] observaron cambios en el tamaño y la forma del rostro de *A. schmitti*. Trabajando con juveniles, estos autores encontraron que los individuos de mayor talla tienen el rostro proporcionalmente más largo. Por lo tanto, según los autores, la variación en la proporción corporal está relacionada con el desarrollo ontogenético de la especie, lo cual es consistente con las variaciones observadas en este análisis. Bond-Buckup y Buckup [52] describen variaciones en la región anterior del cefalotórax (ancho pre-cervical/ancho de la frente). En el presente análisis, las diferencias alométricas se

registraron en todo el cefalotórax cuando se analizaron los datos de los juveniles y adultos a través de los métodos de morfometría geométrica.

En cuanto al dimorfismo sexual, las diferencias se observaron en el rostro y más claramente en la región posterior del cefalotórax. Martin y Abele [118] caracterizaron la región anterior de los aeglidos como angosta, y la región posterior como más ancha. Estas características están asociadas con la reproducción, debido a que estos decápodos tienen huevos grandes con desarrollo directo y los juveniles tempranos se mantienen un tiempo en el abdomen de las hembras [274], [275]. Giri y Collins [147] observaron en algunas poblaciones de *A. uruguayana* diferencias en la forma del cefalotórax entre los sexos. Similar a este estudio, los autores reportaron que esta distinción es más obvia en el vértice posterior del cefalotórax. El dimorfismo sexual en la totalidad del cefalotórax también fue observado en otras especies de aeglidos, específicamente en la región lateral posterior, la cual es más ancha en las hembras que en los machos [56], [145], [52], [276], [35], [248], [168], [167]. Estos hallazgos permitirán identificar el momento de transición entre juveniles y adultos reproductivos en futuros estudios.

Respecto de la mayor robustez en la región anterior de los machos, ésta se debería a factores relacionados al comportamiento agonístico, entre ellos luchas por hembras, alimento o refugio [271].

En cuanto al tamaño relativo de los machos y hembras, se registraron valores similares para *A. leptodactyla* [104] y *A. marginata* [168]. Sin embargo, en el análisis biométrico de individuos de *A. uruguayana*, Vaz-Ferreira y col., [103] observaron que los machos eran más anchos y más largos que las hembras en el área de la unión entre el tercer lóbulo hepático y el área epibranquial (corresponde al LM 5 de este estudio). Sin embargo, esas variaciones en esta región no fueron evidentes en el presente estudio. Otros autores [48], [277], [55], [57], [278], [52], [59], [147], [253], [105], [248], [106], [249] han coincidido que los machos son más grandes que las hembras. Según Silva-Castiglioni y col., [105], la mayor talla alcanzada por los machos probablemente se deba, al hecho que estos direccionan sus energías principalmente en el crecimiento somático, mientras que las hembras son más pequeñas porque invierten la mayor parte de su energía en la reproducción (maduración de las gónadas y producción de huevos) a expensas del crecimiento del cuerpo. Corroborando los hallazgos del presente estudio, Giri [60] no encontró diferencias en las tallas de machos y hembras de *A. uruguayana*, pero observó en *A. platensis* y *A. scamosa* tallas mayores en las hembras que en los machos. Bueno y col.,

[58] también registraron en *A. platensis* mayores tallas en las hembras que en los machos. Los autores atribuyeron esta diferencia al hecho de que los machos más grandes de la población fueron raros durante el muestreo. Los resultados obtenidos hasta aquí indican que el dimorfismo sexual en la población estudiada se manifiesta como una variación en la forma del cefalotórax, pero no en el tamaño.

En cuanto a las tasas de crecimiento encontradas para machos y hembras, hubo similitud y consistencia con observaciones realizadas en otros crustáceos (por ejemplo, cangrejo *A. leptodactyla*; camarón *M. borellii* y langosta *Parastacus pugnax* [279], [280]. Sin embargo, la tasa de crecimiento de las hembras fue ligeramente superior en otras especies, tales como *A. paulensis* [80]. Por el contrario, en otros aeglidos, incluyendo *A. platensis*, *A. jarai*, *A. longirostri* y *A. itacolomiensis*, el crecimiento fue más intenso en los machos que en las hembras [58], [253], [105], [64]. Todas estas observaciones se obtuvieron utilizando una metodología clásica, y es posible que la morfometría geométrica permita considerar el crecimiento como un proceso integral, obteniendo diferentes tipos de información, principalmente de tamaño y de forma, y no como un evento unidimensional. Por otra parte, esta información puede permitir nuevas interpretaciones de la filogenia de los grupos o los efectos de las variables ambientales sobre cada especie y cada población.

El estudio individual de los cangrejos permitió determinar el período de intermuda y su variabilidad como componente del crecimiento. La similitud en los periodos de intermuda observados en machos y hembras fue consistente con informes anteriores que estudiaron el camarón *M. borellii* [279]. Por el contrario, en *Palaemonetes argentinus* se registraron diferencias en el periodo de intermuda, siendo el de las hembras más largo [281]. De acuerdo con lo expresado por Hartnoll [90], en la mayoría de los decápodos, las hembras luego de la pubertad presentan largos periodos de intermuda, principalmente asociados a la postura de los huevos. Como resultado, las hembras usualmente sufren mudas con menor frecuencia, creciendo más lentamente que los machos. Estas variaciones en el periodo de intermuda no se observaron entre los sexos en *A. uruguayana* en el presente estudio, pero esto puede estar relacionado con la estacionalidad del estudio, o con las condiciones ambientales (por ejemplo, temperatura, salinidad y disponibilidad de alimentos) y/o con otros factores [282], [279], [114], [283]. Según Kurata [217] y Hartnoll [222], la alimentación es uno de los factores más influyentes del crecimiento. Del mismo modo, Vega-Villasante y col., [283] describen la relación entre la duración del ciclo de muda y los factores ambientales del hábitat.

Además, en anomuros, como en otros crustáceos [222], el crecimiento puede ser considerado como indeterminado, o sea, que el animal experimenta ecdisis continuas después de la pubertad, pero esto no significa que tenga un crecimiento ilimitado. Este hecho fue observado en *A. uruguayana* que como en otros crustáceos [222] el crecimiento se tornó más lento a medida que la talla del animal aumento. En otros taxones de decápodos, Ibarra y Arana [280] observaron que la tasa de crecimiento de la langosta *P. pugnax* disminuyó linealmente a medida que los individuos crecieron, alcanzando valor cero cuando llegan su máxima longitud. Similares resultados se obtuvieron en otros crustáceos [279], [283], en los que el aumento de la talla fue intenso en los juveniles y disminuyó linealmente con la edad.

En relación con las tasas de crecimiento, resulta de interés la variabilidad observada en algunos cangrejos. En la muestra estudiada, al igual que lo observado por Collins y Petriella [102] en camarones, hubo individuos que tuvieron una tasa de crecimiento mayor, difiriendo de los demás en el incremento por muda, otros con una tasa media muy semejante entre ellos, y otros con bajas tasas de crecimiento, variando muy poco respecto a la talla inicial. En base a estos resultados, no es posible aventurar una conclusión acerca del significado biológico de la variabilidad de las tasas de crecimiento, pero se pueden pensar y discutir algunas cuestiones. *Aegla uruguayana* se desarrolla en un amplio espectro de ambientes, siendo esta una de las tres especies de mayor distribución del género, por lo que podría indicar que es una especie “plástica”, con gran capacidad de ajuste ambiental. Vale decir que en especies con gran capacidad de dispersión es más probable que los individuos sean “plásticos”, en lugar de presentar rigidez ante diferentes escenarios [284]. La plasticidad es una forma en que los organismos se ajustan al ambiente [60], por lo tanto, podría pensarse en la existencia de algún grupo de organismos de la muestra que aprovecharon más eficientemente los recursos (alimento, refugio, etc.) [102]. En el presente estudio, los aeglidos de menor talla mostraron mayor variabilidad en la tasa de crecimiento que los organismos de mayor talla. Esto podría asignarse a que los organismos de menor talla serían más plásticos, y a medida que aumentan su talla esta plasticidad en el crecimiento disminuiría, haciéndose los incrementos por muda cada vez más homogéneos entre los pares.

Finalmente, las técnicas y procedimientos utilizados en este estudio, los cuales permitieron un análisis separado de aspectos morfológicos del crecimiento, tales como la forma y el tamaño, han permitido realizar un análisis profundo del proceso de crecimiento,

lo cual amplía el alcance de los métodos tradicionales. El criterio de selección de los LM utilizados en el presente estudio se debió a que se incluyeron: por un lado, caracteres empleados en estudios anteriores, muy conocidos por su gran valor taxonómico y filogenético [48], [285], [52], y por otro lado, se incorporaron otros nuevos, utilizados en estudios de morfometría geométrica. El fin de esta selección fue tomar conocimientos de estudios clásicos y lograr una conexión con las nuevas herramientas de análisis. Además, el hecho de que los resultados obtenidos pudieran plasmarse gráficamente permitió la visualización del cambio de forma, facilitando la interpretación.

Adicionalmente, la metodología del estudio (análisis de exuvia del cefalotórax eliminada durante la muda) redujo la manipulación de los individuos, lo que disminuyó la probabilidad de inducir el estrés y permitió que el organismo fuese liberado después de que el estudio se completó. Este fue un factor clave para el análisis, ya que podría ser implementado en el estudio de poblaciones vulnerables o en peligro, disminuyendo considerablemente el riesgo de los ejemplares. Así, este nuevo enfoque, en combinación con los métodos tradicionales, ofrece una aproximación integral al estudio del crecimiento en decápodos. Además, es importante recalcar que este trabajo fue el primero en analizar la variación en el tamaño y la forma de los individuos del género *Aegla* en diferentes etapas de desarrollo mediante el seguimiento de los ciclos individuales de muda y considerando exuvia como evidencia de cambios en el crecimiento.

CAPÍTULO 3

Consumo de oxígeno: ajustes metabólicos de *Aegla uruguayana*, *A. singularis* y *A. platensis*

INTRODUCCIÓN

El metabolismo es la característica universal de la vida que vincula a los organismos con su entorno y entre sí [286]. En la mayoría de los animales acuáticos, los valores de consumo de oxígeno se pueden utilizar en la descripción de la capacidad respiratoria y para estimar indirectamente la tasa metabólica (es decir, respirometría) [287], [288], [70], [289].

En relación a la terminología, Chabot y col., [289] postula que la tasa metabólica es en realidad absorción de oxígeno en lugar de consumo de oxígeno por los tejidos, y que la absorción de oxígeno expresado en unidades de oxígeno, en lugar de las unidades de energía se llama de manera más precisa tasa de respiración, en lugar de tasa metabólica. Sin embargo, en la presente Tesis Doctoral debido a la necesidad de usar los términos originales de la literatura citada, se utilizarán los términos consumo de oxígeno, tasa de consumo de oxígeno y tasa metabólica. Esta tasa refleja la energía metabólica y puede utilizarse como un indicador preciso de la salud fisiológica del organismo [287], [288], [70], [290].

La tasa metabólica animal es variable y puede estar influenciada por factores endógenos y exógenos, incluyendo el peso corporal, sexo, rasgos fisiológicos, temperatura, ingesta de alimentos, disponibilidad de oxígeno, ciclo diario de luz y oscuridad, entre otros [69], [291], [292]. Sin embargo, existe un mínimo de la tasa metabólica para la subsistencia de un organismo [293], que se llama tasa basal o estándar. En los ectotérmicos, el término que se utiliza es tasa metabólica estándar (TME), la cual representa la tasa mínima de renovación de energía requerida para mantener la vida y se suele medir como el consumo de oxígeno de un individuo en reposo, intermuda, sin actividad reproductiva y después de la absorción [293]. Por lo tanto, TME representa el costo básico de la vida y es de gran importancia funcional.

La tasa a la que un organismo oxida sustratos para obtener energía, es uno de los rasgos fisiológicos más ampliamente estudiados en animales [294], y constituye una medida fundamental en ecología y evolución [295]. En animales acuáticos, la mayoría de las investigaciones sobre consumo de oxígeno han utilizado respirómetros o cámaras respirométricas ([70], [296], entre otros). De ellos, el 85% se realizó bajo condiciones de metabolismo estándar [297]. Al respecto De la Gándara [298] sostiene que los datos del metabolismo estándar se consideran la mejor aproximación de lo que sucede en la naturaleza, ya que representan los costos metabólicos asociados a procesos diarios y actividades de la vida normal [299].

El consumo de oxígeno es una respuesta fisiológica que se puede correlacionar con las variaciones de los factores ambientales, ya que se corresponde con el trabajo metabólico y el flujo de energía que los organismos canalizan hacia los mecanismos del control homeostático [300]. Dentro de estos factores, se encuentra la temperatura ambiental (T_a), la cual tiene implicaciones biológicas en todos los organismos, pero los ectotérmicos de sistemas acuáticos se encuentran particularmente afectados por la dinámica térmica y regímenes climáticos de cada ambiente. Estos organismos intercambian principalmente calor con su entorno por conducción y convección, y su temperatura corporal depende en gran medida de la temperatura del agua que se encuentra a sus alrededores [301]. Así, las temperaturas ambientales influyen en la mayoría de las reacciones bioquímicas y fisiológicas, en la distribución, y en el comportamiento de los organismos acuáticos [302], [303]. En tanto que, los organismos deben continuamente regular y mantener sus capacidades funcionales en la medida que su ambiente térmico varía.

La estrecha dependencia térmica en la velocidad de los procesos biológicos en un organismo puede ser modificada y algunas veces aminorada por la aclimatación o aclimatización, en períodos de días, semanas, o meses a diferentes temperaturas [304]. Siguiendo a Angilleta [305], la aclimatación térmica se define como cualquier respuesta fenotípica de los individuos a las temperaturas que alteran el rendimiento y de manera plausible producen cambios en la aptitud (*fitness*). La aclimatación fisiológica es un caso particular de plasticidad fenotípica [306], [307], [308]. La plasticidad fenotípica se define como un cambio en el fenotipo o genotipo de un individuo en respuesta a una modificación del ambiente [309], lo cual es una fuente importante de variación en el individuo y en el genotipo en las poblaciones naturales [308], [309]. La plasticidad fenotípica es a menudo conceptualizada y medida en términos de Normas de Reacción: funciones que relacionan fenotipos individuales (en este caso la tasa de consumo de oxígeno/tasa metabólica) a una variable ambiental [310], [308], [309], [311], [304], [312]. Las Normas de Reacción se pueden estudiar tanto a nivel individual como a nivel poblacional [313], [314] mediante la utilización de cuatro parámetros: 1- elevación que es la expresión característica media (es decir, la intersección); 2- pendiente, que representa la flexibilidad fenotípica, la cual mide la variación en el rasgo del valor para un cambio dado en un parámetro ambiental; 3- amplitud, que es la diferencia entre los valores de rasgos mínimos y máximos y; 4- forma de la curva (por ejemplo, lineal, sigmoide), la cual informa sobre los límites de ajuste de un rasgo en un rango dado de cambio en el ambiente [315], [313], [316].

Los decápodos sobreviven ajustando su metabolismo a las variaciones en las condiciones ambientales, incluyendo aquellas asociadas con ciclos hidrológicos, térmicos, estacionales y diarios (luz-oscuridad) [317], [147]. El alcance de estos ajustes es característico de la especie o población, y, por lo tanto, establece los límites a su distribución [318]. En especies ampliamente distribuidas, la adaptación local a diferentes regímenes ambientales puede conducir a diferencias espaciales en cuanto a la tolerancia térmica y a la plasticidad fisiológica entre poblaciones. En muchos organismos, la plasticidad fisiológica es un mecanismo crucial para hacer frente a las fluctuaciones naturales de las condiciones ambientales [318], [319], [320], [321], [322].

Clásicamente, los estudios en gradientes ambientales han enfatizado el análisis de las especies como una unidad. A pesar de su importancia, se le ha prestado poca atención a los ajustes metabólicos en poblaciones de la misma especie que se encuentran habitando diferentes ambientes. Es ampliamente aceptado por los ecólogos evolutivos que para evaluar los cambios evolutivos es necesario comparar poblaciones dentro de las especies, así como individuos dentro de las poblaciones reproductoras. Según Lardies y col., [323], uno de los principales problemas en la comprensión de la fisiología ecológica es que los estudios que comparan individuos dentro de las poblaciones son escasos. Sin embargo, estos estudios son cruciales para comprender cómo las diferencias en las variables fisiológicas evolucionan y pueden verse afectadas por factores ecológicos y geográficos.

A lo largo del tiempo, varios estudios sobre el consumo de oxígeno se han llevado a cabo en diferentes grupos de crustáceos [324]. Sin embargo, a pesar de la importancia que tienen los anomuros dulceacuícolas en los ecosistemas acuáticos, hay poca información sobre aspectos fisiológicos en general y sobre el consumo de oxígeno en particular. Teniendo en cuenta estos antecedentes, en el presente capítulo se estudió la tasa metabólica de tres especies de *Aegla* a través de trabajos y observaciones realizadas en el ambiente y en el laboratorio; abordando diferentes escalas temporales y espaciales. Por un lado, se realizó un **análisis estacional (intraespecífico)** de la tasa metabólica de tres poblaciones de *A. uruguayana* en diferentes ambientes a lo largo de un gradiente longitudinal. Además, en estas mismas poblaciones se estudió el efecto de la variación térmica en el metabolismo mediante Normas de Reacción. Y con el fin de evaluar el efecto del ambiente sobre las repuestas fisiológicas, se midió el consumo de oxígeno en el entorno natural y luego, se repitió la medición para cada población en condiciones de laboratorio en dos temperaturas experimentales ecológicamente relevantes. Por otro lado, se realizó un

análisis diario (interespecífico), en el cual se analizó el efecto de tres variables; momento del día (mediodía y atardecer), peso corporal y sexo sobre la tasa metabólica de los cangrejos *A. singularis* y *A. platensis* en su entorno natural.

Tal como ya ha sido mencionado en los capítulos anteriores, *A. uruguayana* es una de las pocas especies de aeglidos que presenta una amplia distribución geográfica [52], [8], [147], [325] lo cual permite realizar comparaciones entre poblaciones. Característica que la hace adecuada para el estudio estacional. Mientras que, *A. platensis* y *A. singularis* presentan similar distribución en algunas regiones de América del Sur [27] y comparten rasgos biológicos y ecológicos, como la dieta y los hábitats [8]. Características que las hacen adecuadas para el estudio diario.

El análisis de las tasas metabólicas a diferentes temperaturas es relevante para evaluar las Normas de Reacción existentes entre los individuos de las diferentes poblaciones. Además, debido a que los gradientes ambientales son comunes en la naturaleza, resulta interesante su análisis porque informa sobre los requerimientos metabólicos de la especie, aportando información para el esclarecimiento de los mecanismos adaptativos que condicionan la segregación de las poblaciones en los diferentes hábitats que ocupan. De este modo, el estudio empírico de la variación interpoblacional es importante para la comprensión de la ecología y la evolución de los organismos, y para obtener datos sobre posibles fuentes de variación [326], [323]. Por otro lado, la evaluación interespecífica de la tasa metabólica resulta interesante, de modo que se podría esperar en las especies estudiadas diferentes ajustes fisiológicos en respuesta a las mismas condiciones ambientales; lo cual aportarían evidencias para comprender como las especies interactúan con su entorno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para una mejor comprensión, la metodología de trabajo y los resultados se expresan por separado a través de los subtítulos “Estudio estacional” y “Estudio diario”. Sin embargo, la metodología en común (por ejemplo captura de organismos) se presenta de manera unificada. Además, debido a que en ambos estudios se utilizó la misma técnica de medición del consumo de oxígeno (a través de cámaras respirométricas), esta se detalla para el estudio estacional y luego en el estudio diario se mencionan solo las diferencias metodológicas propias del ensayo.

Área de estudio

Estudio estacional

Los ensayos de campo se llevaron a cabo en tres ambientes de la cuenca del Plata considerando un gradiente longitudinal y altitudinal. Los sitios muestreados fueron: arroyo "El Espinillo", provincia de Entre Ríos, arroyo "Del Chupino" provincia de Santa Fe y río III "Embalse"-2da Usina provincia de Córdoba, durante el invierno (para más detalle de la ubicación, y descripción del ambiente ver "Materiales y Métodos" del Capítulo 1 de esta Tesis Doctoral).

Estudio diario

Los ensayos de campo se llevaron a cabo en la selva subtropical del sur de América del Sur (Provincia de Misiones, Argentina) en cuatro arroyos con drenaje a los ríos Uruguay y Paraná: arroyo Santa Rita (27°29'9.75" S, 54°41'0.62" O), arroyo Anchico (27°39'876" S, 55°36'5.60" O), arroyo Itacaruaré (27° 52'26" S, 55°16'64.5" O) y arroyo Isabel (27°31'0.54" S, 55°27'0,15" O). La altitud de los arroyos muestreados osciló entre 88 y 137 msnm. Esta área abarca la sub-región del bosque Paranaense y se caracteriza por su gran diversidad biológica, única en el sur de Sudamérica [327]. En el oeste, está limitada por el río Paraná, al este por los ríos Uruguay, San Antonio y Pepirí Guazú, y al norte por el Río Iguazú (Figura 36 y Tabla 18). El llamado bosque de galería bordea las riberas del arroyo con predominio de la vegetación hidrofílica. Los ambientes muestreados son arroyos superficiales, que tienen alta transparencia y velocidad del agua, y escasa vegetación sumergida. Los fondos de estos cuerpos de agua se componen de arcilla, arena y rocas.

Tabla 18. Especies recolectadas en cada arroyo, y su respectiva subcuenca

Arroyo	Tributario de:	Especies
Santa Rita	río Uruguay	<i>Aegla platensis</i>
Itacaruaré	río Uruguay	<i>Aegla platensis</i>
Isabel	río Paraná	<i>Aegla singularis</i>
Anchico	río Uruguay	<i>Aegla singularis</i>



Figura 36. Imagen satelital de los arroyos Misioneros donde se recolectaron los ejemplares de *Aegla platensis* y *Aegla singularis*

Parámetros abióticos

Estudio estacional

Los parámetros abióticos evaluados en cada sitio fueron: temperatura del agua, oxígeno disuelto, pH, conductividad y altitud. La obtención de los mismos fue realizada en cada sitio mediante sensores digitales (Tabla 19) (para más detalle ver “Materiales y Métodos” de esta Tesis Doctoral).

Estudio diario

Los parámetros abióticos evaluados en cada arroyo fueron: conductividad, temperatura y pH. La obtención de los mismos fue realizada en cada sitio mediante sensores digitales (Tabla 28) (para más detalle ver “Materiales y Métodos” esta Tesis Doctoral).

Captura de organismos

En ambos estudios (estacional y diario) los cangrejos, *A. uruguayana* (Entre Ríos n= 25; Santa Fe n= 12; Córdoba n= 27), *A. singularis* (n= 16) y *A. platensis* (n= 33), fueron recolectados mediante colecta manual y la utilización de red D (para más detalle, ver

“Materiales y Métodos” de esta Tesis Doctoral). En todos los ambientes, los organismos seleccionados fueron adultos de ambos sexos, los cuales se encontraban en período de intermuda, no presentaban daños físicos y no eran hembras ovígeras [118], [99], [328].

Diseño experimental

Estudio Estacional

Ensayos en el ambiente

El consumo de oxígeno fue medido en agua por respirometría. Los cangrejos fueron incubados individualmente en una cámara respirométrica, la cual consistió en una botella hermética de vidrio de 600 cm³ de capacidad. Cada cámara se llenó con agua del sitio de muestreo, en las cuales fueron colocados en su interior los individuos de *A. uruguayana* y se los dejó aclimatar durante 30 minutos. El oxígeno disuelto inicial fue medido con un oxímetro digital (Hanna HI 98129). Durante el ensayo las cámaras fueron sumergidas en el cuerpo de agua a fin de mantener la temperatura ambiente. La concentración de oxígeno fue nuevamente medida en cada cámara a las tres horas. Como control se utilizaron cámaras sin cangrejos, funcionando en paralelo durante cada ensayo. Se considera que los valores resultantes de estos controles reflejan el consumo basal de la comunidad presente en el ambiente y fueron restados a los valores de las cámaras respirométricas con cangrejos.

Finalizado el ensayo, el agua contenida en cada cámara fue reemplazada manteniendo el aeglido en su interior. De este modo, cada ejemplar fue trasladado a la sala de bioensayos II del Instituto Nacional de Limnología (INALI) dentro de contenedores refrigerados en el mismo recipiente en que fue ensayado en el campo. En el laboratorio, los ejemplares fueron aclimatados y mantenidos en acuarios individuales hasta la realización de los posteriores experimentos de consumo de oxígeno.

Ensayos en el laboratorio

Los individuos de las tres poblaciones de *A. uruguayana* fueron utilizados en la evaluación del consumo de oxígeno a dos temperaturas, respetando el mismo protocolo de los ensayos realizados en los ambientes (para más detalle ver “Materiales y Metodos”, subtítulo “Ensayos en el ambiente”, del presente capítulo de esta Tesis Doctoral).

Inicialmente se evaluó el consumo de oxígeno a la misma temperatura en la que se realizó cada ensayo en cada ambiente (de aquí en adelante será denominado Lab I). Luego, para determinar la capacidad de compensación del metabolismo con la longitud y altitud, se midió el consumo de oxígeno de los ejemplares de las tres poblaciones a 25°C (Ta) (de aquí en adelante será denominado Lab II).

Antes de cada determinación metabólica los cangrejos fueron aclimatados, y 24hs previas al experimento ayunaron. La identidad de cada cangrejo se conservó durante todos los ensayos (ambiente y laboratorio).

Finalizado cada experimento, a cada cangrejo se le eliminó por absorción (con papel de filtro) el agua retenida entre los pleópodos y otros apéndices, para luego obtener su peso (peso húmedo total = PHT) con una balanza electrónica Mini Digital Scale (precisión 0,001 g). También se le registro el sexo y el largo de cefalotórax con un calibre digital Schwyz (0,01 mm de precisión).

Los ensayos (ambiente y laboratorio) se realizaron siempre a la misma hora del día.

Cálculo de la tasa de consumo de oxígeno (TME)

La tasa de consumo de oxígeno se expresó en $\text{mgO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y fue calculada para cada cangrejo en cada cámara respirométrica, para cada una de las tres condiciones experimentales utilizando la siguiente formula;

$$TME = \frac{DO_f - DO_i}{PHT.T}$$

Donde, DO_f y DO_i = oxígeno disuelto final e inicial, respectivamente, de cada cámara respirométrica; PHT= peso húmedo total del individuo en estudio; T= tiempo en que el cangrejo estuvo en la cámara respirométrica [329]. Anteriormente, los valores fueron corregidos con la resta de los valores del control.

Análisis de los datos

Se estudiaron los datos de los ensayos realizados en el campo en los tres sitios; Córdoba (CD), Entre Ríos (ER) y Santa Fe (SF). Además, la TME medida en campo y en laboratorio fue abordada a partir del análisis de Normas de Reacción, bajo tres condiciones; 1) ensayo en cada ambiente, 2) ensayo en laboratorio I, y 3) ensayo en laboratorio II (Tabla 19).

Tabla 19. Temperaturas utilizadas en los ensayos de las tasas metabólicas para las tres poblaciones de *A. uruguayana*. Campo) temperatura registrada en cada ambiente cuando se realizó el ensayo; Lab I) misma temperatura a la cual se realizó el ensayo en cada ambiente); y Lab II) temperatura a la cual se realizó el control (25°C)

Condición	Sitio		
	Santa Fe	Córdoba	Entre Ríos
Campo	9,55°C	12°C	21°C
Lab I	9,55°C	12°C	21°C
Lab II	25°C	25°C	25°C

Análisis estadísticos

Se examinaron los supuestos de homogeneidad de varianzas y normalidad de las variables y de los modelos, de acuerdo al tipo de análisis a realizar, mediante análisis exploratorios de Shapiro-Wilk y Levene.

Con el objetivo de evaluar similitudes y diferencias entre los parámetros ambientales, se compararon las condiciones abióticas de los tres sitios analizados con una prueba de Chi cuadrado.

Con el fin de evaluar similitudes o diferencias entre los sitios de estudio en relación al peso de los cangrejos y a la TME, inicialmente se corrió un ANOVA sobre el logaritmo del peso (luego de evaluar los supuestos), seguido de posttest de Tukey. Luego, para analizar la relación entre metabolismo y el sitio de estudio se extrajeron los residuos del consumo de oxígeno, y posteriormente se corrió un ANOVA sobre el logaritmo del consumo de oxígeno, seguido de posttest de Tukey.

Se evaluó la colinealidad entre las variables ambientales a fin de seleccionar las variables no colineales e integrarlas al modelo lineal generalizado (MLG); lo cual fue calculado a partir de los residuos de la TME y mediante la correlación de *Pearson*. En este análisis, cuando $r > 0.7$ se seleccionó una variable de cada par como representativa para incluirla en el modelo.

Normas de Reacción

Con el objetivo de indagar la presencia de valores alejados (outliers), inicialmente se evaluó la TME por sitio (ER, CD y SF) y por condición (Campo, Lab I y Lab II). En esta instancia, los valores alejados detectados fueron eliminados de la base de datos. El siguiente paso consistió en estudiar la relación entre el consumo de oxígeno y la población de origen, considerando los residuos del consumo. Estos valores se obtuvieron a partir de un análisis de covarianza (ANCOVA) donde se regresionó la TME (variable respuesta) al peso de cada individuo (variable independiente). Luego, se utilizaron los residuos de la regresión de la variable respuesta, utilizando el peso como covariable [312], esto fue realizado para cada sitio.

En lugar de utilizar la tasa de consumo de oxígeno (consumo en función del peso) para realizar la evaluación de la capacidad de aclimatación de los cangrejos, se seleccionaron y analizaron los residuos [312].

Con el fin de conocer el tipo de distribución de la variable respuesta para poder luego armar correctamente el modelo lineal mixto, se evaluó su distribución de probabilidad. Inicialmente se testeó la normalidad de cada modelo. En este estudio, la variable respuesta fue la temperatura y el sexo de los ejemplares (como efecto fijo). Como efecto aleatorio se consideró a los individuos. El factor aleatorio permite resolver la no independencia entre individuos y cada condición. Es decir, a cada individuo se le asigna un valor de intercepción diferente, y el modelo mixto estima estas intercepciones. El término aleatorio resuelve la no independencia de tener múltiples respuestas de un mismo individuo.

Se estudió la relación entre las variables de cada modelo utilizando test de Chi cuadrado, la cual realiza una comparación de modelos basados en el criterio AIC) (al 95%) (criterio de información Akaike). A partir de este análisis se puede determinar la relación entre las variables (efectos fijos) incluidas en el modelo, es decir como es la variable respuesta en función de las variables independientes.

Se realizó un posttest de Tukey y corrección de Holm a fin de evaluar los consumos de oxígeno entre pares de condiciones (Campo-Lab I, entre otros).

Por último, se evaluó el consumo de oxígeno (a partir de los residuos) de los ejemplares de las tres poblaciones a la misma temperatura ambiental (25°C) para determinar la capacidad de compensación de la respiración respecto a la longitud y altitud.

Los análisis estadísticos se hicieron con el programa R [165] y los paquetes: lme4 [330], car [331] y MASS [332]. Las diferencias se consideraron significativas con un valor de $p < 0,05$ [166].

Aquellos cangrejos que mudaron o murieron entre los ensayos de campo y los realizados en laboratorio no fueron tenidos en cuenta en los análisis estadísticos.

Estudio Diario

Ensayos en el ambiente

Para estudiar el patrón de actividad respiratoria diaria (durante un período de luz-oscuridad), los cangrejos *A. platensis* y *A. singularis* fueron muestreados y ensayados en el ambiente dos momentos diferentes del día; mediodía (11-13 hs) y atardecer (17-19 hs). En estos ejemplares, la evaluación del consumo de oxígeno se realizó respetando el mismo protocolo de los ensayos del Estudio estacional (para más detalle, ver “Materiales y Metodos”, subtítulo “Estudio estacional” -“Ensayos en el ambiente”, del presente capítulo de esta Tesis Doctoral). Sin embargo, a diferencia del estudio estacional, en este experimento las cámaras respirométricas consistieron en recipientes herméticos de plástico transparente de 400 cm³ de capacidad. Y el tiempo de duración del ensayo fue de 60 min.

Luego de cada experimento, los cangrejos fueron liberados al ambiente en los mismos sitios donde fueron recolectados.

Cálculo de la tasa de consumo de oxígeno (TME)

La tasa de consumo de oxígeno fue calculada para cada cangrejo en cada cámara respirométrica utilizando la misma fórmula que se detalló en el “Estudio estacional” (para

más detalle ver “Materiales y Métodos”, subtítulo “Diseño experimental”-“Estudio Estacional”-“Calculo de la TME” del presente capítulo de esta Tesis Doctoral).

Análisis de los datos

La homogeneidad y normalidad de los datos se determinaron mediante análisis exploratorios de Shapiro-Wilk y Levene. Para el análisis estadístico se agruparon los cangrejos de cada especie pertenecientes a los diferentes arroyos del mismo momento de muestreo.

Las condiciones abióticas entre los momentos de muestreo (mediodía y atardecer) se compararon con una prueba-*t*.

El peso de los individuos de cada especie entre los momentos de muestreo se evaluaron con Mann-Whitney y entre especies con análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis (KW).

La TME entre machos y hembras y momentos de muestreo para de cada especie (independientemente del momento del día) se probaron con una prueba no paramétrica de Mann-Whitney. La TME entre especies se evaluó con una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (KW). Luego esta variable fue probada entre especies mediante análisis pareado con una prueba no paramétrica de Mann-Whitney. Se aplicó un análisis de regresión lineal con base logarítmica para analizar la TME en respuesta al peso en cada momento del día para cada especie. La comparación de las pendientes e intercepciones de estas regresiones entre los momentos de muestreo en cada especie fueron analizadas mediante un ANCOVA usando el momento del día como covariable.

La variación de TME relativa al peso animal para cada especie (sin separar en diferentes grupos de acuerdo al momento del día) se analizó con una regresión logarítmica.

El análisis estadístico se realizó con el software R [270]. En todos los casos, se utilizó un valor $p < 0,05$ como criterio de significación estadística [166].

RESULTADOS

Estudio estacional

Parámetros abióticos

La temperatura, pH y oxígeno disuelto de los sitios muestreados fueron similares ($p > 0,05$), mientras que los sólidos disueltos, conductividad y altitud presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) (Tabla 20).

Tabla 20. Valores de los parámetros abióticos de los tres sitios estudiados; Santa Fe (SF), Córdoba (CD) y Entre Ríos (ER)

Sitio	Altitud msnm	Temp. agua °C	pH	Sólidos Disueltos ppm	Conductividad µs/cm	Oxígeno disuelto ppm
SF	47	9,55	9,15	2000	5000	12,01
CD	661	12,00	9,89	175	350	9,94
ER	30	21,00	9,35	538	1064	12,12

Peso y tamaño corporal entre sitios

Los pesos medios de los ejemplares fueron significativamente diferentes entre los sitios (sitio: $GI = 2$; $SS = 36,06$; $MS = 18,03$; $F = 66,79$, $p < 2e-16$). Las comparaciones múltiples mediante posttest de Tukey presentaron diferencias estadísticamente significativas entre todos los sitios (CD-SF, $p < 0,001$; ER-SF, $p < 0,001$; ER-CD, $p = 0,004567$).

Los cangrejos de mayor talla fueron encontrados en Entre Ríos ($2,60 \pm 1,74$ gr) seguidos por los de Córdoba ($1,84 \pm 0,97$ gr) y los de menor talla se encontraron en Santa Fe ($0,65 \pm 0,13$ gr) (Figura 37). El LC de los cangrejos de Entre Ríos varió entre 13,44 y 26,67 mm, Córdoba 13,44 y 24,22 mm y en Santa Fe osciló entre 11,51 y 14,41 mm (Tabla 22).

Al evaluar el peso de los ejemplares respecto de las variables abióticas y el sexo se observó la existencia de dependencia entre peso y sitio (variables: pH y temperatura) y el sexo (Tabla 23 y Figura 38). Los supuestos evaluados en el modelo propuesto (MLG)

corroboraron el supuesto de que los datos son paramétricos. Este modelo explica en un 54,5% el peso de los cangrejos. Las variables incluidas en el modelo presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

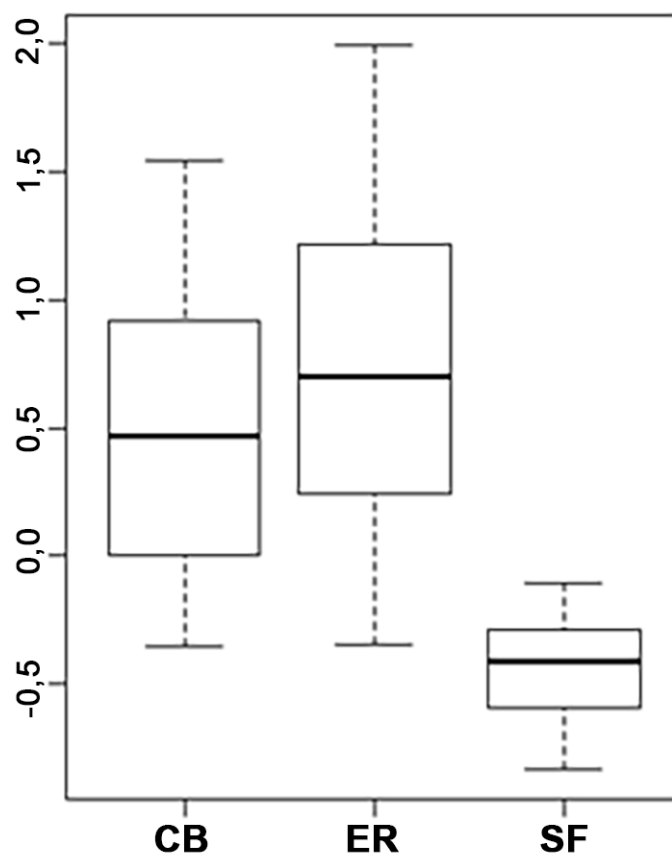


Figura 37. Peso (logaritmo) de los ejemplares *Aegla uruguayana* en función de los sitios estudiados: CD (Córdoba), ER (Entre Ríos) y SF (Santa Fe)

Tabla 22. Valores medios y desvío estándar (SD) del largo de cefalotórax (LC); y valores mínimos y máximos del LC de los aéglicos

Sitio	Media \pm SD LC (mm)	Mínimo LC (mm)	Máximo LC (mm)
Santa Fe	13,25 \pm 0,92	11,51	14,41
Córdoba	17,97 \pm 2,92	13,44	24,22
Entre Ríos	19,47 \pm 3,79	13,44	26,67

Tabla 23. Modelo lineal generalizado (MLG) del peso de los cangrejos en relación con las variables abióticas (pH y temperatura), y el sexo. Se muestran aquellos términos que resultaron significativos

Término	Coeficiente	Error	p-valor	Pr(> t)
Intercepto	-9,43948	1,78202	-5,297	1,50e-06 ***
Temperatura	0,09563	0,01196	7,995	2,98e-11 ***
pH	0,85553	0,18301	4,675	1,53e-05 ***
SexoMacho	0,41741	0,12466	3,348	0,00136 **

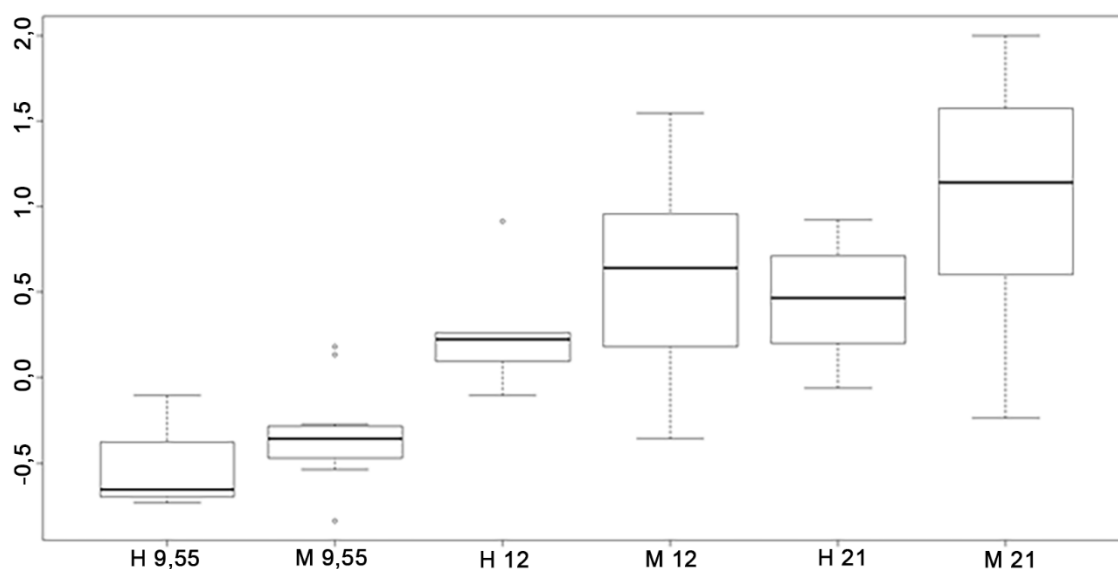


Figura 38. Peso (logaritmo) de los ejemplares *Aegla uruguayana* en función de la temperatura y el sexo

Consumo de oxígeno entre sitios

El consumo de oxígeno (representados por los residuos) varió significativamente entre los sitios analizados (sitio GI= 2; SS = 27,98; MS = 13,992; F = 29,87; p = 5,8e-10). El posttest de Tukey reveló la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tres

sitios (SG-CD, $p = 0,0001262$; ER-CD, $p < 0,0001$; ER-SG, $p = 0,0470527$), los individuos de Entre Ríos fueron los que presentaron mayor consumo de oxígeno (Figura 39).

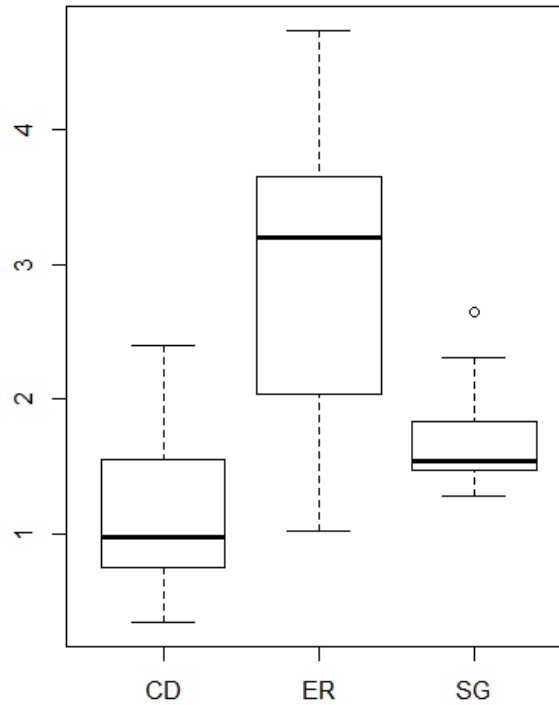


Figura 39. Consumo de oxígeno (residuos) de los cangrejos *Aegla uruguayana* en función de los sitios estudiados: CD (Córdoba), ER (Entre Ríos) y SF (Santa Fe)

TME en relación a los parámetros abióticos

A partir del análisis de colinealidad, se eliminaron las siguientes variables que presentaron una alta colinealidad ($\geq 0,7$) con el pH: sólidos, conductividad, altitud y oxígeno disuelto. La TME dependió significativamente de dos variables; temperatura y pH (Ajuste del modelo: 47,5%). La TME fue directamente proporcional a la temperatura y inversamente proporcional al pH (Tabla 24).

Tabla 24. Modelo lineal generalizado (MLG) de la TME en función de las variables abióticas. Se muestran aquellos términos que resultaron significativos

Término	Coeficiente	Error Estándar	p-valor	Pr(> t)
Intercepto	13,14338	2,62545	5,006	4,39e-06 ***
Temperatura	0,07160	0,01726	4,148	9,80e-05 ***
pH	-1,49210	0,26924	-5,542	5,63e-07 ***

Normas de Reacción

Se observaron valores muy alejados de la TME en los cangrejos de Entre Ríos, Santa Fe y Córdoba ensayados bajo las tres condiciones experimentales analizados (Figura 40).

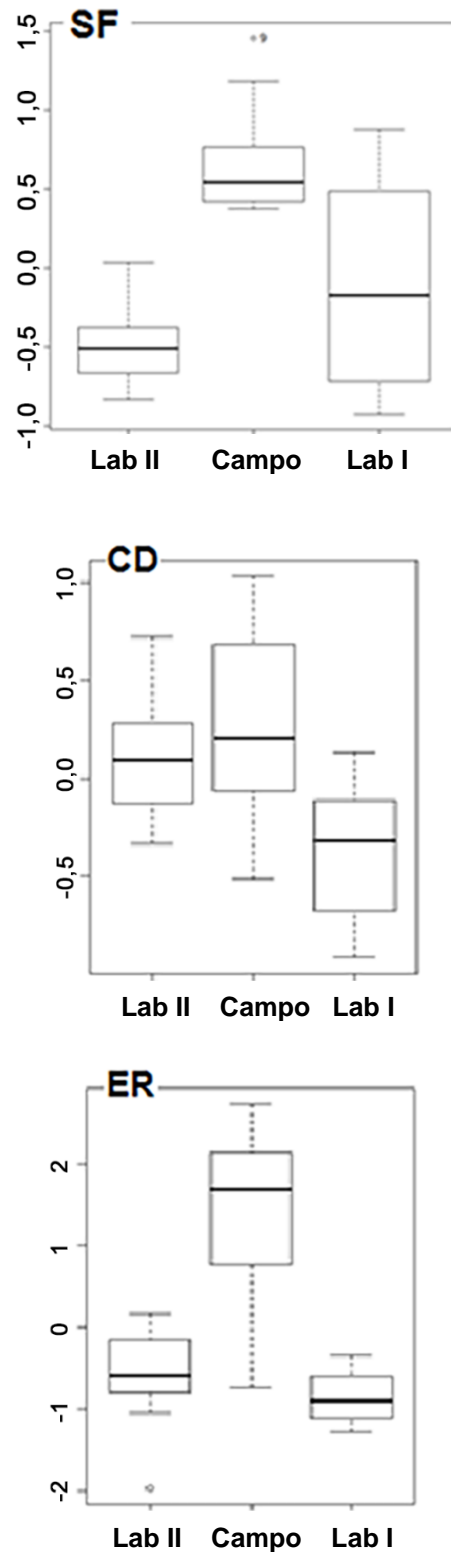


Figura 40. Consumo de oxígeno (residuos) de los cangrejos *Aegla uruguayana* en función de las 3 condiciones experimentales (Campo, Lab I y Lab II) y los sitios estudiados: SF (Santa Fe), CD (Córdoba) y ER (Entre Ríos)

Los resultados observados a partir de los estudios utilizando modelos lineales mixtos (MLM) revelaron diferentes relaciones entre los efectos incluidos en el modelo.

Efectos aleatorios: no hubo variabilidad en los valores de varianza y desvío estándar para el efecto aleatorio incluido en el modelo (individuo) en la población de Santa Fe. Mientras que la variabilidad no explicada por las variables incluidas en el modelo como aleatorio fue de 0,4229 en Santa Fe. La variabilidad explicada para la población de Córdoba para el efecto aleatorio incluido en el modelo (individuo) fue de 0,01596 varianza y 0,1263 desvío estándar. Mientras que la variabilidad no explicada por las variables incluidas en el modelo como aleatorio fue de 0,10528 varianza y 0,3245 desvío estándar en Córdoba. No hubo variabilidad en valores de varianza y desvío estándar para el efecto aleatorio incluido en el modelo (individuo) para la población de Entre Ríos. Mientras que la variabilidad no explicada por las variables incluidas en el modelo como aleatorio fue de 0,3823 varianza y 0,6183 desvío estándar en Entre Ríos.

Efectos fijos: En Santa Fe el consumo de oxígeno fue mayor en las condiciones de Campo y Lab I, que en Lab II. En las hembras el consumo fue mayor que en los machos. En Córdoba se observó que el consumo fue mayor en la condición de Campo y menor en Lab I y Lab II. En los machos el consumo fue más alto que en las hembras. Mientras que en Entre Ríos, el consumo fue mayor en condiciones de Campo que en Lab II y en Lab I. Los machos consumieron menos oxígeno que las hembras (Figura 41) (Tabla 25).

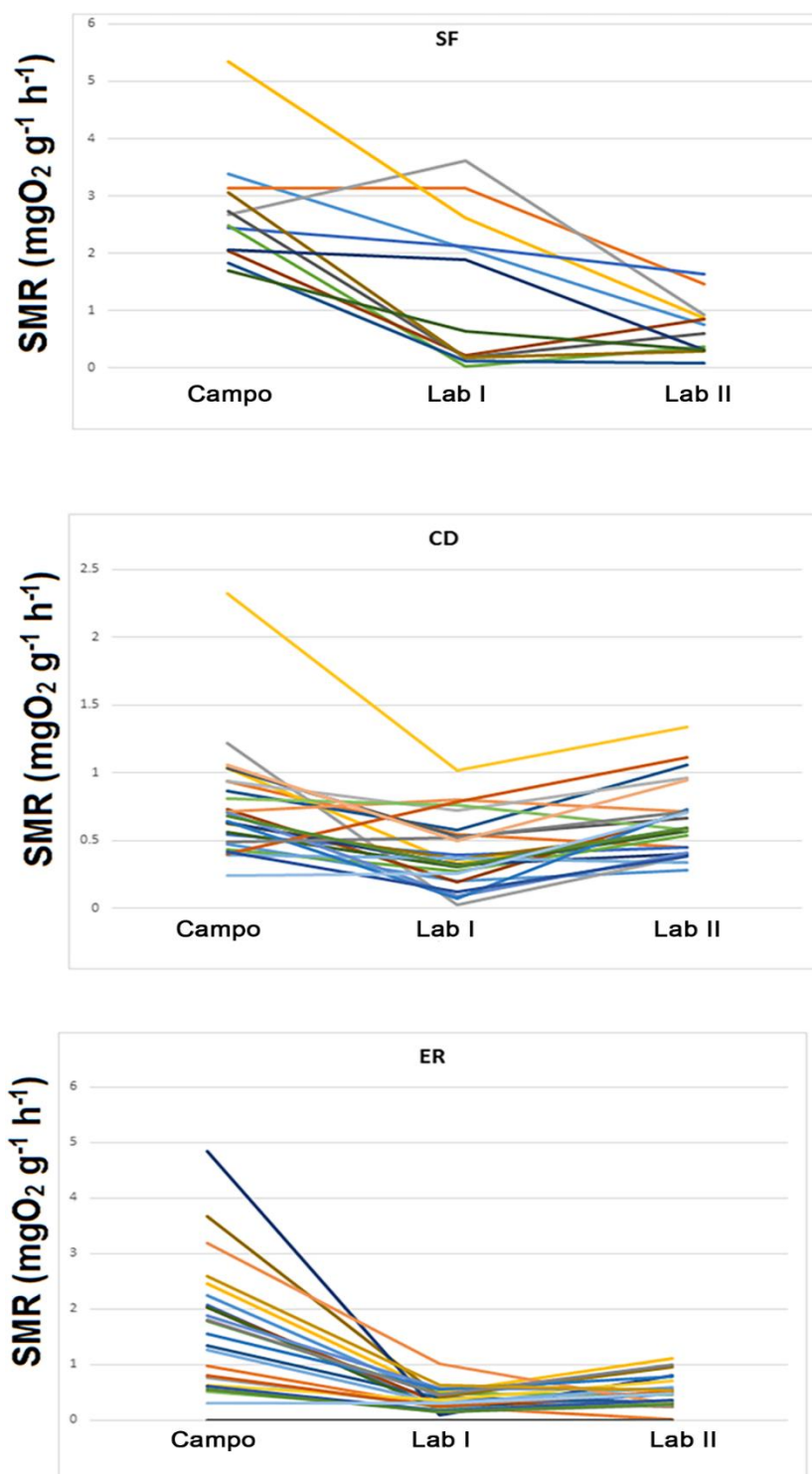


Figura 41. Tasa de consumo de oxígeno de cangrejos dulceacuícolas *Aegla uruguayana* de los sitios estudiados: SF (Santa Fe), CD (Córdoba) y ER (Entre Ríos). En cada figura, las líneas de colores muestran las trayectorias individuales de la TME de los cangrejos de cada población en función de las 3 condiciones experimentales (Campo, Lab I y Lab II)

Tabla 25. Efectos fijos del modelo linear mixto donde se observan para cada sitio estudiado (SF, CD y ER) las relaciones entre las variables condición (Campo, Lab I y Lab II) y sexo (macho, hembra)

Término	Coeficiente	Error Estándar	t-valor
Intercepto	-0,3559	0,1731	-2,056
CondicCampoSF	1,1743	0,1766	6,651
CondicLabISF	0,3817	0,1726	2,211
SexoMSF	-0,1939	0,1636	-1,185
(Intercepto)	-0,005127	0,114382	-0,045
CondicCampoCD	0,198578	0,092072	2,157
CondicLabICD	-0,429010	0,092302	-4,648
SexoMCD	0,108088	0,112633	0,960
(Intercepto)	-0,54079	0,14854	-3,641
CondicCampoER	1,93607	0,17671	10,956
CondicLabIER	-0,29993	0,17671	-1,697
SexoMER	-0,02158	0,14462	-0,149

El consumo de oxígeno fue, en todas las poblaciones, estadísticamente significativo, mientras que no hubo diferencias significativas entre los sexos respecto al consumo de oxígeno (Tabla 26). Los posttest indicaron diferencias estadísticamente significativas entre todos los sitios. En cada sitio, las comparaciones múltiples mostraron diferencias estadísticamente significativas; Sin embargo, a pesar de las diferencias observadas entre los experimentos de laboratorio (I y II) la significancia fue menor, siendo estas diferencias en los límites de la significancia para la población de Entre Ríos (Tabla 27).

Tabla 26. Relaciones entre las condiciones experimentales (Campo, Lab I y Lab II) y el sexo (macho, hembra) de los cangrejos, en función del consumo de oxígeno para cada población estudiada

Término	GI	AIC	LTR	Pr(Chi)
CondicSF	2	58,182	11,1028	0,003882 **
SexoSF	1	50,456	1,3771	0,240599
CondicCD	2	98,108	35,958	1,555e-08 ***
SexoCD	1	65,058	0,908	0,3406
CondicER	2	241,48	94,641	<2e-16 ***
SexoER	1	148,87	0,022	0,8814

Tabla 27. Comparaciones múltiples de la media del consumo de oxígeno para cada sitio estudiado (SF, CD y ER) utilizando contrastes de Tukey, los valores fueron ajustados mediante método de Holm

Término	Coeficiente	Error Estándar	z-valor	Pr(> z)
CampoSF - LabIISF = 0	1,1743	0,1766	6,651	8,74e-11 ***
LabIISF - LabIISF = 0	0,3817	0,1726	2,211	0,271*
LabIISF - CampoSF = 0	-0,7926	0,1766	-4,489	1,43e-05 ***
CampoCD - LabIICD = 0	0,19858	0,90207	2,157	0,031*
LabIICD - LabIICD = 0	-0,42901	0,09230	-4,648	6,71e-06 ***
LabIICD - CampoCD = 0	-0,62759	0,09021	-6,957	1,04e-11 ***
CampoER - LabIIER = 0	1,9361	0,1767	10,956	<2e-16 ***
LabIIER - LabIIER = 0	-0,2999	0,1767	-1,697	0,0896
LabIIER - CampoER = 0	-2,2360	0,1749	-12,786	<2e-16 ***

TME en condiciones comunes de laboratorio

Bajo condiciones comunes de laboratorio, los consumos de oxígeno (residuos) de los ejemplares de los tres sitios analizados no revelaron diferencias significativas (GI= 2, SS = 0,917; MS = 0,4584; F = 2,405; Pr (>F) = 0,0987).

Estudio Diario

Los parámetros abióticos fueron similares al mediodía y al atardecer ($p > 0,05$) (Tabla 28). Los pesos de los individuos muestreados de cada especie no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre el mediodía y el atardecer. El valor medio del peso de *A. platensis* fue $0,93 \pm 0,54$ g (KW: 117,0; $p = 0,51$) y para *A. singularis* fue $0,79 \pm 0,34$ g (KW: 36,0; $p = 0,55$) (Figura 42). Finalmente, los pesos de las especies fueron similares (KW: 0,88; $p = 0,6436$). El LC de *A. singularis* osciló entre 8,46 y 15,82 mm y el de *A. platensis* osciló entre 6,18 y 18,18 mm (Tabla 29).

Tabla 28. Valores medios y desviación estándar de los parámetros abióticos de cada momento del día

Momento del día	Conductividad ($\mu\text{s}/\text{cm}^{-1}$)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	pH	Oxígeno Disuelto (mg O_2^{-1})
Mediodía	$85 \pm 7,07$	$20,75 \pm 3,04$	$7,36 \pm 1,36$	$6,32 \pm 1,17$
Atardecer	$85 \pm 49,49$	$22,9 \pm 1,55$	$8,19 \pm 0,26$	$6,33 \pm 1,32$

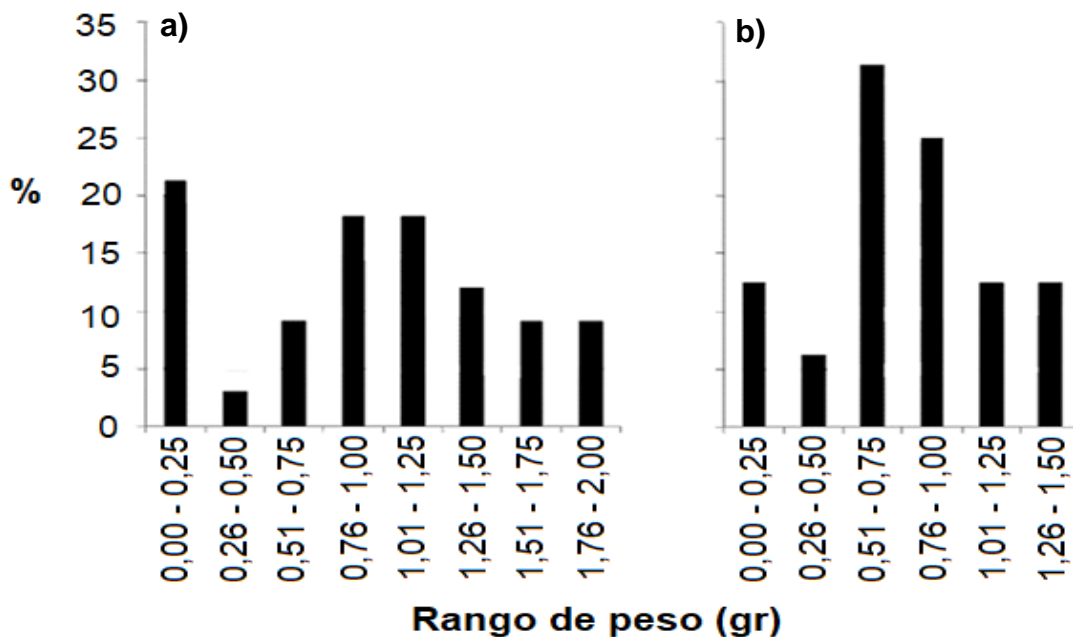


Figura 42. Distribución de frecuencia de los pesos en porcentaje: a) *Aegla platensis* y b) *Aegla singularis*

Tabla 29. Valores de media y desviación estándar (SD), y mínimo y máximo de LC (mm) de *Aegla singularis* y *Aegla platensis*

Especie	Media \pm SD	Mínimo	Máximo
<i>A. singularis</i>	13,52 \pm 1,90	8,46	15,82
<i>A. platensis</i>	14,36 \pm 3,11	6,18	18,18

Descripción de la TME entre sexos y momento de muestreo dentro y entre especies

Hubo similitudes entre la TME de machos y hembras de ambas especies ($p > 0,05$). Una comparación de la TME entre los momentos del día mostró que el consumo de oxígeno de las dos especies es mayor al mediodía (Tabla 30). Sin embargo, no hubo diferencias significativas en la TME entre los momentos de muestreo entre las especies ($p > 0,05$). La TME fue estadísticamente significativa entre las especies (KW: 26,71, $p = 1,57 \times 10^{-6}$) y fue significativamente mayor en *A. singularis* que en *A. platensis* (U: 35; $p = 1,92 \times 10^{-10}$) (Tabla 30).

Tabla 30. Media y desvió estándar (SD) de la tasa de consumo de oxígeno ($\text{mgO}_2 \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$) de *Aegla singularis* y *Aegla platensis* (tasa total de consumo de oxígeno) y en los diferentes momentos de muestreo

Especies	Momento de muestreo	Tasa de Consumo de Oxígeno (media \pm SD)	Tasa Total de Consumo de Oxígeno (media \pm SD)
<i>A. singularis</i>	Mediodía	5,26 \pm 7,23	3,63 \pm 4,15
	Atardecer	2,65 \pm 0,81	
<i>A. platensis</i>	Mediodía	1,23 \pm 2,17	0,77 \pm 1,56
	Atardecer	0,33 \pm 0,42	

TME en relación al peso

En *A. singularis*, hubo una relación negativa estadísticamente significativa entre el TME y el peso al mediodía y al atardecer (Tabla 31, Figura 43 (a)). Ni las pendientes, ni las intercepciones de estas variables entre el mediodía y el atardecer fueron significativamente diferentes (Tabla 32, Figura 43 (a)). La relación negativa de la TME con el peso de *A. platensis* fue estadísticamente significativa al mediodía (Tabla 33, Figura 43 (b)). Sin embargo, al atardecer, aunque la relación fue negativa (Figura II.3 (b)), no fue estadísticamente significativa (Tabla 31). Hubo similitudes entre las pendientes o las intercepciones entre mediodía y atardecer (Tabla 32, Figura 43 (b)).

Tabla 31. Valores del análisis de regresión lineal con base logarítmica de la tasa de consumo de oxígeno en relación con el peso en cada especie y al momento del día

Especies	Momento de muestreo	F	p-valor	r ²
<i>A. singularis</i>	Mediodía	8,55	0,0043	0,68
	Anochecer	132	2,99.10 ⁻⁶	0,94
<i>A. platensis</i>	Mediodía	15,26	0,0016	0,52
	Anochecer	3,18	0,095	0,17

Tabla 32. Valores de pendiente e intercepto de la tasa de consumo de oxígeno en relación con el peso entre los momentos de muestreo (mediodía y atardecer) de cada especie; Mediante ANCOVA, utilizando el momento del día como covariable

Comparación de pendientes			Comparación de intercepto	
Especie	t	p-valor	t	p-valor
<i>A. singularis</i>	0,94	0,0770	1,138	0,2700
<i>A. platensis</i>	0,62	0,5400	-0,54	0,5900

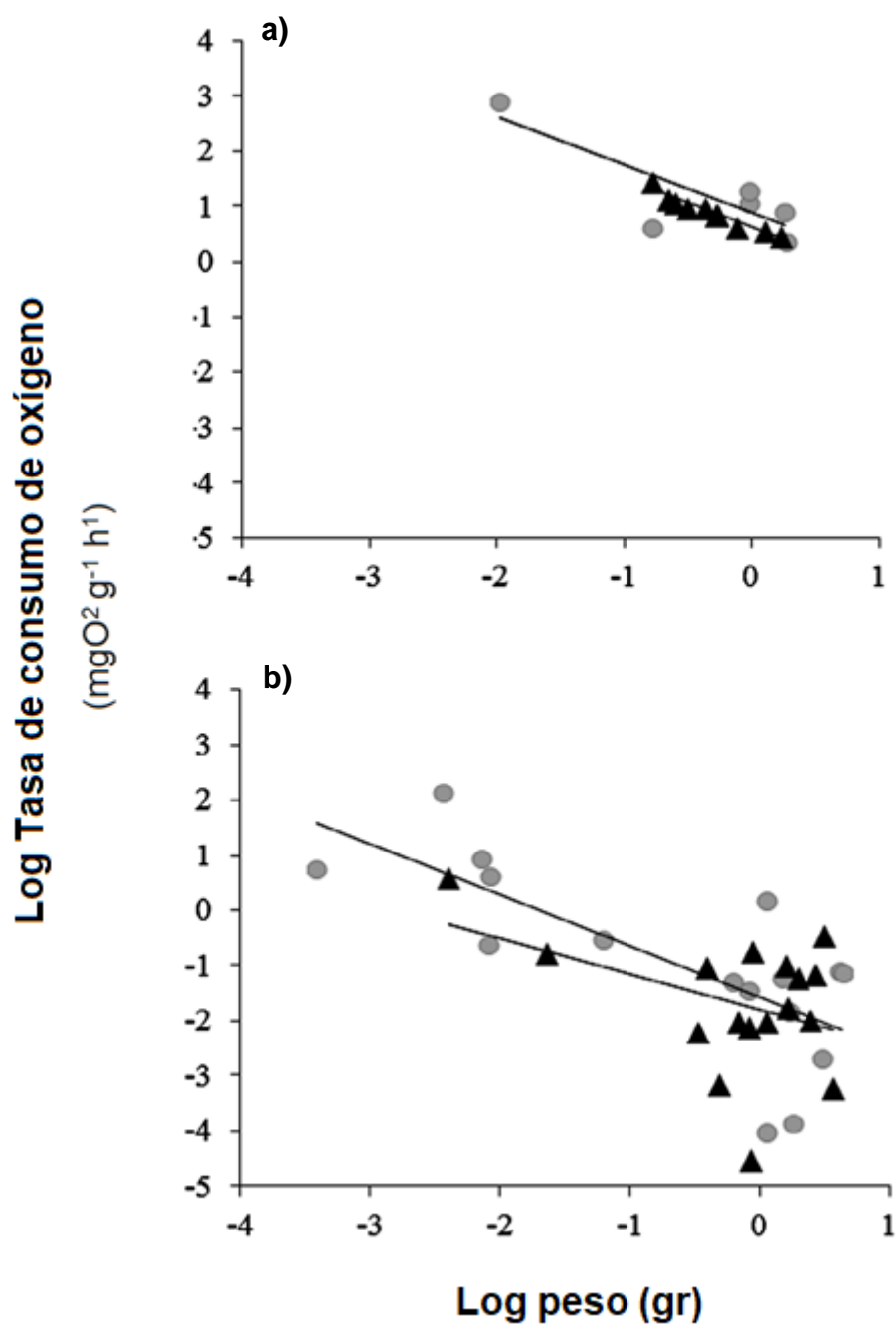


Figura 43. Relación entre TME y el peso (PHT) de las especies estudiadas: (a) *Aegla singularis*; Círculo gris (mediodía): $\text{LogTME} = -0,86\text{LogPHT} + \text{Log}0,89$ y triángulo negro (atardecer): $\text{LogTME} = -0,89\text{LogPHT} + \text{Log}0,64$; (b) *Aegla platensis*; Círculo gris (mediodía) $\text{LogTME} = -0,94\text{LogPHT} - \text{Log}1,56$, y triángulo negro (atardecer): $\text{LogTME} = -0,65\text{LogPHT} - \text{Log}1,8$

TME en relación al peso de los animales

La TME disminuyó con el aumento del peso en las dos especies (Figura 44), siendo esta disminución significativa ($p < 0,0001$). Los valores de la regresión fueron altos ($r = 0,76$ en *A. platensis* y $r = 0,82$ en *A. singularis*) cuando se consideraron juntos ambos momentos de muestreo.

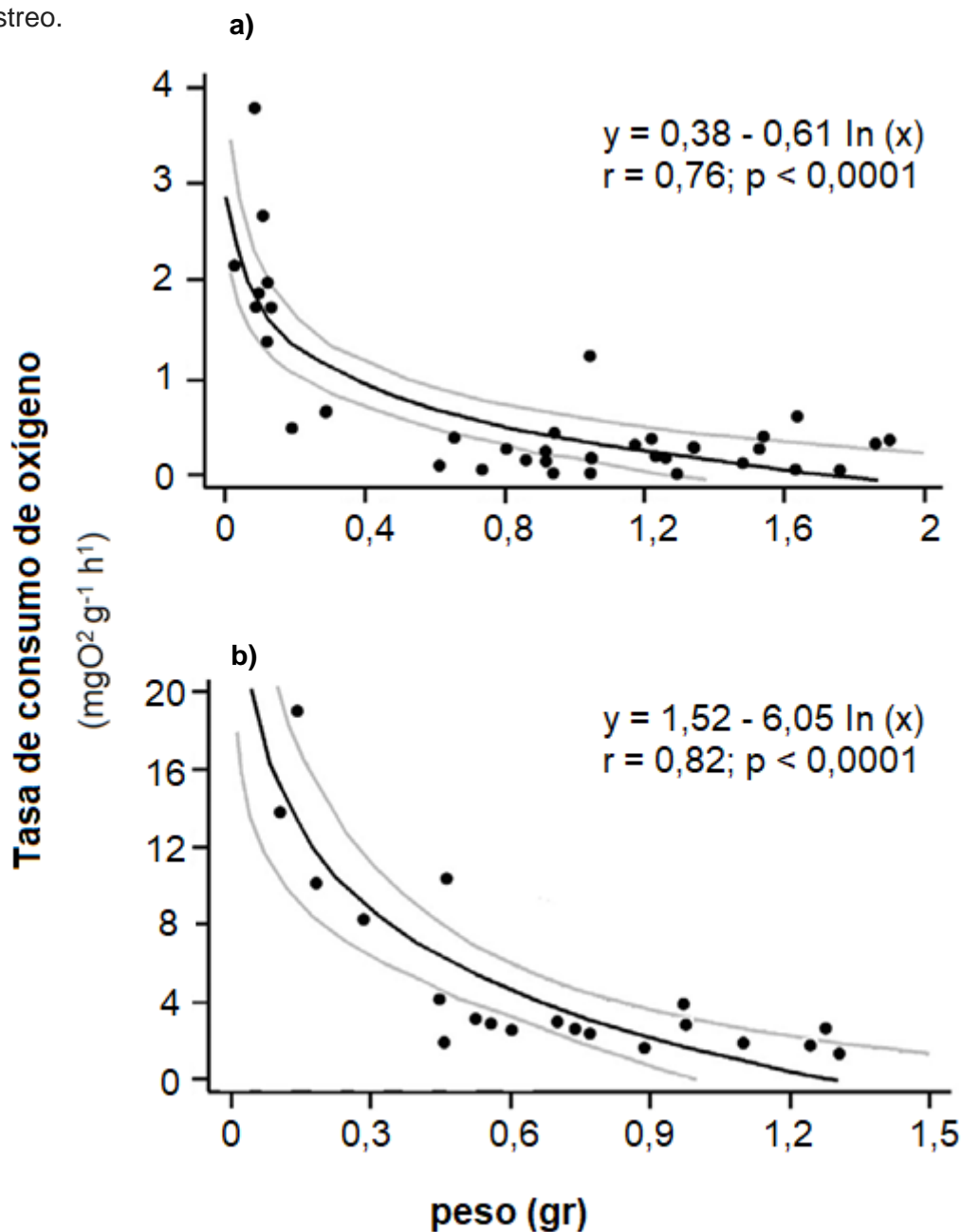


Figura 44. Tasa de consumo de oxígeno en relación con el peso de los animales: a) *Aegla platensis*, b) *Aegla singularis*, considerando ambos momentos de muestreo juntos

DISCUSIÓN

En las poblaciones naturales de cangrejos *A. uruguayana* se observó variación en el grado de plasticidad fisiológica a lo largo de gradientes geográficos asociado a los parámetros ambientales locales. Por otro lado, las tasas metabólicas similares entre las poblaciones de *A. uruguayana* ensayadas bajo condiciones comunes de laboratorio serían el resultado de la aclimatación de estos cangrejos al nuevo contexto ambiental.

La hora del día, peso corporal y sexo afectan el consumo de oxígeno de *A. platensis* y *A. singularis* de diferentes maneras. En este sentido, frente a similares condiciones abióticas cada especie presentaría un ajuste metabólico específico.

En las poblaciones estudiadas de *A. uruguayana*, el peso de los cangrejos de cada ambiente estaría influenciado de manera conjunta por la temperatura y el sexo de los individuos. En estos, el peso corporal se relaciona con el gradiente ambiental. La población con ejemplares de mayor peso se corresponde al ambiente que presentó la mayor temperatura en el momento del muestreo (ER) y el ambiente con la menor temperatura (SF) se corresponde con los ejemplares de menor talla.

En cuanto a la distribución espacial de *A. uruguayana* en relación con su peso, se observó la existencia de variaciones estadísticamente significativas, registrándose el menor peso en los ejemplares con distribución intermedia y el pico máximo de peso en la menor latitud. Estudios previos, los cuales analizaron gradientes latitudinales encontraron diversas relaciones entre el peso de los ejemplares y las variables analizadas. Monaco y col., [333] observaron en *P. granulosus* un claro aumento del peso con la latitud, implicando una relación inversa con la temperatura. Sin embargo, Lardies y col., [320] en *Cyclograpsus cinereus* registraron el pico máximo de peso corporal en las poblaciones de latitudes medias. Este tipo de patrón latitudinal (pico de latitud media) también fue observado en bivalvos marinos [334] y cladóceros [335]. Según Lardies y col., [320], una explicación probable sería que tanto el norte como el sur corresponden a los límites geográficos y ecológicos de la distribución de especies donde las condiciones ambientales son limitantes, resultando en tamaños de cuerpo más pequeños. En el presente estudio, si bien los ejemplares de Córdoba constituyen la población con distribución límite hacia el oeste [150], este patrón no fue observado.

Los efectos selectivos impuestos por gradientes climáticos han sido reconocidos por largo tiempo entre los factores de mayor importancia en la evolución del tamaño corporal

[336]. Desde la publicación de la regla de Bergmann [337] numerosos estudios analizaron en diferentes taxas los cambios en el tamaño y el peso corporal de los individuos en relación con su distribución. Sin embargo, actualmente existe un debate sobre si el gradiente clinal descrito por Bergmann es adaptativo y/o una mera consecuencia de procesos fisiológicos [338]. Además del gradiente latitudinal, otros factores estudiados resultaron determinantes del peso corporal. Al respecto, se observó que la exposición a bajas temperaturas induce a las células a crecer más grandes [339], [340]. También se ha sugerido que las altas concentraciones de oxígeno encontradas en aguas frías inducen un mayor crecimiento celular [341]. La importancia de tales estudios reside en que la masa corporal juega un rol esencial en los procesos termorregulatorios de endotérmicos y ectotérmicos [342]. Por tanto, el tamaño del cuerpo se ha asociado en gran medida con el bienestar de los organismos en su hábitat [343], [344].

En el presente capítulo, las diferencias observadas en los pesos de los ejemplares *A. uruguayana* de los diferentes sitios podrían ser causa de otros factores selectivos (además de la temperatura) o por interacciones ecológicas [336], tales como la competencia y la depredación [345], [346], [347], la intensidad del uso del suelo, la productividad de cada ambiente, la disponibilidad de alimento [348], las diferencias en la eficiencia de crecimiento entre poblaciones [349]; lo cual podría estar influenciando la forma que *A. uruguayana* utiliza su energía y es algo que podría tenerse en cuenta en futuros estudios.

El análisis de los parámetros abióticos permitió detectar que la TME de los cangrejos *A. uruguayana* es directamente proporcional a la temperatura e inversamente proporcional al pH. Dentro del intervalo de temperatura que puede ser tolerado por un organismo ectotérmico, la tasa metabólica aumenta con el aumento de las temperaturas hasta un valor crítico (máximo térmico crítico), más allá del cual la velocidad disminuye bruscamente. Los resultados obtenidos en el presente capítulo coinciden con esta idea general. Al respecto, en varias especies de crustáceos se observó la existencia de una correlación positiva entre el consumo de oxígeno y la temperatura [350], [351], [352], [353], [354], [355]. La relación entre el consumo de oxígeno y la temperatura se ha atribuido a los procesos fisiológicos y reacciones que tienen lugar en el cuerpo del animal. Mc Mohon y col., [356] también explicó el patrón de aumento de la tasa metabólica con la temperatura como resultado del flujo de agua branquial para abastecer la demanda extra de oxígeno, en su estudio realizado con el cangrejo *Cancer magister*.

En cuanto a la relación entre la TME y el pH, McCulloch [357] encontró resultados semejantes a los observados en el presente capítulo. Este autor estudió en Texas, cerca del Golfo de México, la respuesta metabólica del camarón *P. kadiakensis* a cambios subletales en el pH. El mismo observó que el pH tiene un efecto sobre el consumo de oxígeno, el cual es inversamente proporcional.

El estudio de la actividad respiratoria diaria (durante un período de luz-oscuridad) en *A. platensis* y *A. singularis* permitió detectar que ambas especies presentan mayor consumo de oxígeno al mediodía. Sin embargo, estas diferencias no fueron significativas entre los momentos del día evaluados. De este modo, como estrategia de regulación del intercambio de gases estos aéglicos no presentan variación diaria en el metabolismo del oxígeno. Los hallazgos de este estudio son consistentes con observaciones realizadas en otros crustáceos, que describen TME similares entre los tiempos del día. Mientras que, en otras especies es frecuente que se observen claras diferencias [358], [296], [70].

La especificidad de la respuesta fue notable entre los aéglicos estudiados, siendo la TME media más alta en *A. singularis*. De este modo, cada especie mostró una demanda metabólica específica. El patrón metabólico observado en *A. platensis* y *A. singularis*, coincide con informes de otros investigadores [70] que evaluaron el consumo de oxígeno de *A. longirostris*, *T. panoplus* y *P. brasiliensis* en laboratorio bajo condiciones de oxígeno limitado y constante. Este estudio describió una menor variación en el consumo de oxígeno en aéglicos que en tricodactílicos y fue capaz de caracterizar estas especies como fuertemente independiente de oxígeno y dependiente de oxígeno, respectivamente [359]. La independencia del oxígeno permitiría a los tricodactílicos hacer frente a las condiciones ambientales desfavorables y una reducción en la tasa metabólica permitiría la supervivencia en ambientes que normalmente no están disponibles para los aéglicos [70]. De acuerdo con Bond-Buckup y Buckup [52] y Melo [8] los aéglicos habitan aguas claras y bien oxigenadas. Sin embargo hasta el momento ningún estudio ha verificado este requisito de aguas altamente oxigenadas [70]. Además, se han encontrado poblaciones de *Aeglas* en variedad de hábitats, muchos de los cuales presentan diferentes condiciones abióticas, entre las cuales el oxígeno es un parámetro variable [43].

En cuanto a la relación entre el peso y consumo de oxígeno, se registraron disminuciones TME asociada con el aumento de peso en *A. platensis* y *A. singularis*. Esta relación se ha observado en especies marinas y, más recientemente, en especies de agua dulce (Tabla 33).

Tabla 33. Especies de crustáceos marinas y de agua dulce en las que se ha observado disminución de la tasa metabólica asociada con el aumento de peso

Especies	Autores	Año
<i>Callinectes sapidus</i>	Laird y Haefner	1976
<i>Pagurus bernhardus</i>	Shumway	1978
<i>Procambarus clarkii</i>	Gutiérrez-Yurrita y col.,	1994
<i>Hyalella montezuma</i>	Oberlin y Blinn	1997
<i>Palaemonetes argentinus</i>	Collins y Capello	2006
<i>Trichodactylus borellianus</i>	Montagna y Collins	2008
<i>Maja brachydactyla</i>	Cerezo Valverde y col.,	2009
<i>Aegla longirostris</i>		
<i>Trichodactylus panoplus</i>	Dalosto y Santos	2011
<i>Parastacus brasiliensis</i>		

Desde el punto de vista ecofisiológico, la relación entre consumo de oxígeno y peso corporal, tal como se observa en *A. singularis* y *A. platensis*, permitiría a organismos con pesos corporales mayores ocupar microespacios donde los niveles de oxígeno son menos estables. Aunque los resultados muestran una tendencia al aumento del consumo de oxígeno en animales de menor peso corporal, el valor estadístico de *r* de la regresión fue muy bajo, en el caso de *A. platensis* (Figura 43b). Este valor *r* podría indicar que el consumo de oxígeno al atardecer depende no sólo del peso de los individuos sino también de otros factores no metabólicos que no fueron analizados en el presente estudio. En tanto que la

respuesta de un organismo a las variaciones ambientales difiere de acuerdo con una variedad de factores (por ejemplo, estado nutricional, ciclo de muda y periodo reproductivo) que pueden actuar sinérgicamente o por separado [4], [5]

Si bien algunos estudios han abordado tendencias geográficas del consumo de oxígeno, estos lo han realizado en poblaciones de diferentes especies (marinas en su mayoría) bajo condiciones de laboratorio, evaluando el efecto del gradiente latitudinal [360], [361]. En tanto que las diferencias en la fisiología respiratoria de poblaciones de una misma especie han sido abordadas por un número acotado de investigaciones [362], [363], [333], [320], [364], recibiendo poca atención, sin registros hasta el momento, en cangrejos dulceacuícolas del género *Aegla*.

En las tres especies analizadas en el presente capítulo el consumo de oxígeno fue similar entre machos y hembras. Este patrón es consistente con observaciones realizadas en otros crustáceos, que describen TME semejantes entre los sexos [365], [352], [366]. Según otros autores [367], [368], una diferencia en el consumo de oxígeno entre los sexos no es común en los crustáceos. Sin embargo, Cerezo Valverde y col., [296], encontraron diferencias en la captación de oxígeno entre machos y hembras del cangrejo *Maja brachydactyla*, reconociendo que las variaciones podrían deberse a diferentes patrones de actividad o fisiología especializada en ambos sexos. De manera semejante, Brante y col., [369] encontraron que en las hembras del cangrejo *C. setosus* la respuesta metabólica puede ser influenciada por su estado reproductivo. Aunque la mayoría de los estudios no han discriminado entre los sexos o solo trabajan con uno de ellos ([369], [333], [323], [320], [364]), se considera que esta variable podría ser interesante de abordar, especialmente durante la temporada reproductiva.

Por otra parte, los cangrejos *A. uruguayana* modificaron significativamente sus TME cuando se los expuso a las condiciones de Lab I y Lab II. Estos resultados corroboran el patrón encontrado en organismos ectotérmicos, en el sentido de que la tasa metabólica es fuertemente dependiente de la temperatura [370]. Lo que implica que, manteniendo las demás variables estandarizadas las variaciones térmicas afectan el presupuesto energético de *A. uruguayana*. Los cangrejos de Córdoba y Entre Ríos mostraron un aumento de la TME cuando se los expuso a la temperatura más alta (25°C), en relación con su respuesta metabólica en la determinación de Lab I. En consecuencia, lo que conlleva un gasto adicional de energía. Este patrón metabólico no fue observado en los ejemplares de Santa Fe, en donde se registró mayor consumo en la condición de Lab I en comparación con la

determinación en el Lab II. Al respecto, aunque la tasa metabólica de un animal tiende a aumentar con el aumento de la temperatura, Aldrich [371] señaló que debido a las interacciones complejas de factores ambientales, demográficos y fisiológicos puede no sorprender la variabilidad individual de las tasas de consumo de oxígeno en algunos crustáceos.

El hecho de que los valores del costo energético de los cangrejos *A. uruguayana* ensayados en las condiciones experimentales Lab I y Lab II dieron en los límites de la significancia en los ejemplares de Entre Ríos, estaría en relación con el acotado rango térmico al cual fueron expuestos (4°C). Estas temperaturas experimentales no implicarían costos energéticos asociados, pudiendo los ejemplares aclimatarse eficientemente a esos contextos térmicos. O bien, las Normas de Reacción planas de la tasa metabólica de los ejemplares dentro de ese rango térmico pueden ser reflejo de la existencia de homeostasis/canalización (es decir, ausencia de plasticidad) en este rasgo fisiológico [372] [364]. Según Gaitán-Espitia y col., [364], la falta de o bajos niveles de plasticidad en la tasa metabólica, puede reflejar algún tipo de mecanismos de comportamiento [373] y la plasticidad en otro/s rasgo/s.

Bajo condiciones de laboratorio (25°C), se obtuvieron similares consumos en los ejemplares de los tres sitios; a partir de lo cual se destaca en un principio la ausencia de compensaciones geográficas (longitudinales y altitudinales) sobre la tasa metabólica. Estos resultados son consistentes con estudios previos realizados en otros crustáceos, como es el caso de los cangrejos *P. granulatus* [333] y *P. violaceus* [364] en los cuales las tasas metabólicas no mostraron diferencias entre las poblaciones distribuidas a lo largo de un gradiente latitudinal cuando se las midió a las mismas temperaturas. Según Gaitán-Espitia y col., [364], sus datos no son suficientes para responder si las indiferencias de las poblaciones resultan de la rápida aclimatación de los organismos o son consecuencia de la relativa insensibilidad de su metabolismo a la temperatura. A partir del diseño experimental implementado en el presente capítulo, se sugiere la existencia de capacidad de aclimatación al contexto ambiental por parte de *A. uruguayana*. Al respecto, existe evidencia de que, en cangrejos marinos, las tasas de aclimatación a la temperatura son rápidas [374], [375], [376]. Según Gaitán-Espitia y col., [364], esta capacidad de ajustar el rendimiento fisiológico a las variaciones en las condiciones ambientales les permitiría a los cangrejos maximizar la aptitud frente al cambio ambiental [377]. En el caso de los *Aegla*, el género se encuentra en una gran variedad de ambientes con diferentes condiciones abióticas y

bióticas, pudiendo ser la capacidad de aclimatación una característica filogenética del grupo, es decir, que el fenotipo plástico podría ser un estado histórico del género.

En base al efecto del sitio en la TME, el presente estudio demostró mediante los ensayos realizados en campo y en Lab I, la influencia que tienen los factores ambientales y su interacción (además de la temperatura). De manera conjunta, los resultados arribados sugieren que la temperatura no es el condicionante principal (si bien es influyente) del presupuesto energético de *A. uruguayana*.

Algunos crustáceos muestran marcadas diferencias fisiológicas a lo largo del año, exhibiendo patrones estacionales, con ajustes biológicos estacionales [363]. Al respecto, Musin y col., [188] observaron en diferentes tejidos de *A. uruguayana* traídos del ambiente natural una dinámica diferencial de metabolitos. En el presente estudio se tuvieron en cuenta los posibles patrones estacionales, y si bien no se pueden evitar, han sido considerados en el diseño experimental, en tanto que los individuos de las diferentes poblaciones de *A. uruguayana* fueron: ensayados durante la misma estación del año, con pocos días de diferencia entre un muestreo y el otro, aclimatados en el laboratorio a la misma temperatura, y ensayados siempre en el mismo horario.

La metodología de trabajo implementada en estos estudios permitió analizar el consumo de oxígeno de decápodos en el laboratorio y en su entorno natural. Este enfoque alternativo al estudio del consumo de oxígeno amplía el alcance de los estudios tradicionales, permitiendo incluir datos de ensayos realizados en el ambiente. Como así también posibilita el estudio de poblaciones vulnerables o geográficamente distantes, debido a que la realización de ensayos en el ambiente elimina la necesidad de transportar animales al laboratorio y permite que estos sean devueltos al ambiente una vez que los estudios se completan. Resulta de interés subrayar que la cuestión no es identificar un enfoque como mejor, sino que los diferentes diseños experimentales revelan aspectos complementarios respecto de lo que se está estudiando. De este modo, lo que es revelado por una técnica, a menudo no es revelado por la otra. A partir de lo cual, se considera sería de gran aporte la implementación de estudios en campo como complemento de los ensayos tradicionales (siempre y cuando los objetivos del trabajo lo justifiquen).

CONCLUSIÓN

El estudio de los ajustes biológicos y ecofisiológicos de cangrejos de la familia Aeglidae presentes en diferentes contextos ambientales es una tarea que puede ser abordada desde distintos puntos de vista. Enfocando esta investigación hacia una mayor comprensión del grupo taxonómico en cuestión, se consideraron algunos aspectos en particular, tales como: biología poblacional, crecimiento y consumo de oxígeno. En el desarrollo de cada uno de estos ítems se combinaron datos de muestreos con ensayos en el campo y en el laboratorio, los cuales fueron abordados desde distintas escalas espaciales y temporales. En este sentido, a continuación se detallan las conclusiones y los hallazgos considerados más importantes.

➤ A través del estudio de tres poblaciones de *Aegla uruguayana* se identificaron similitudes y diferencias en varios de los parámetros biológicos y ecofisiológicos analizados:

- El dimorfismo sexual (en relación a la talla) se relacionó con la distribución geográfica. Dos poblaciones presentaron y una no.
- La distribución espacial fue contagiosa en las tres poblaciones.
- El período reproductivo en Entre Ríos y Santa Fe se registró durante los meses más fríos, mientras que en Córdoba se reconoció durante todo el año, con mayor intensidad durante los meses más fríos.
- La proporción anual de estadios ontogenéticos fue diferente entre las poblaciones.
- La proporción anual de sexos fue similar en Santa Fe y Córdoba.
- La densidad difirió notablemente entre las poblaciones. Esta fue mayor (Santa Fe) cuando los cangrejos fueron de menor talla.
- El rendimiento reproductivo de las hembras (senescencia) disminuyó con el aumento de la talla corporal.
- Las hembras de *Aegla uruguayana* presentarían senescencia no gradual (abrupta).
- En cuanto a la estrategia reproductiva, se clasificó a *Aegla uruguayana* como desovante total. Además, se observó microdinámica y macrodinámica dentro del proceso general de remaduración gonadal. Este patrón representa el primer registro en el género.
- Entre los sitios analizados se registraron diferentes patrones en cuanto a la dinámica poblacional, lo cual sería consecuencia de ajustes biológicos y ecofisiológicos locales.

➤ El análisis de tamaño y forma de los ejemplares de *Aegla uruguayana* permitió realizar una identificación integral del proceso de crecimiento. A partir de lo cual, se propuso un nuevo concepto alternativo de crecimiento. Es importante recalcar que este trabajo fue el primero en analizar la variación en el tamaño y forma de individuos del género *Aegla* en diferentes etapas de desarrollo ontogenético mediante el seguimiento de los ciclos individuales de muda y considerando a la exuvia como evidencia de cambios en el crecimiento. Y no se encontraron evidencias de que se haya realizado un enfoque similar en otros decápodos. A partir del cual se observó:

- Durante la ontogenia se producen cambios en la forma del cefalotórax de los individuos estudiados, además de variaciones en el tamaño. Los cambios en la forma del cefalotórax se relacionaron con las distintas etapas del desarrollo ontogenético (juveniles y adultos) y con el dimorfismo sexual en los adultos.
- El dimorfismo sexual, se manifestó como una variación en la forma y no en el tamaño del cefalotórax. Las diferencias de forma en los ejemplares se evidenciaron principalmente en el rostro y en la región posterior del cefalotórax.
- En cuanto al crecimiento, los juveniles mostraron mayor tasa de crecimiento comparado con adultos, y una tendencia a disminuir con el incremento de tamaño. Mientras que las tasas de crecimiento halladas en los sexos fueron semejantes.
- Los cangrejos de menor talla mudaron en un tiempo menor cuando se los comparo con las tallas grandes. En tanto que la duración del ciclo de muda estuvo directamente relacionada con la talla de los organismos. En estos decápodos no se encontraron diferencias en los tiempos de intermuda entre los sexos.
- Una posible plasticidad se evidenció en el proceso de crecimiento, mostrando los organismos más pequeños gran variabilidad en las tasas de crecimiento.

➤ El estudio de la tasa metabólica de tres especies de *Aegla* a través de la combinación de ensayos realizados en el campo y en el laboratorio permitieron estimar el consumo de oxígeno de los organismos abordando diferentes escalas temporales y espaciales. A partir de lo cual se observó:

- Las poblaciones naturales de cangrejos *Aegla uruguayana* presentaron variación en el grado de plasticidad fisiológica a lo largo de gradientes geográficos asociado a los parámetros ambientales locales.
- Las tasas metabólicas similares entre diferentes poblaciones de *Aegla uruguayana*, ensayadas bajo condiciones comunes de laboratorio, serían el resultado de la aclimatación de estos cangrejos al nuevo contexto ambiental.
- El peso de los cangrejos de *Aegla uruguayana* de cada ambiente estuvo influenciado de manera conjunta por la temperatura y sexo de los individuos.
- La tasa metabólica de los cangrejos de *Aegla uruguayana* fue directamente proporcional a la temperatura e inversamente proporcional al pH.
- Los cangrejos de *Aegla uruguayana* modificaron significativamente sus tasas metabólicas cuando se los expuso a diferentes condiciones de laboratorio (Lab I y Lab II).
- *Aegla singularis* y *Aegla platensis* presentaron similar estrategia de regulación del intercambio de gases. Ambas especies tuvieron mayor consumo de oxígeno al mediodía, sin embargo estas diferencias no fueron estadísticamente significativas entre los momentos evaluados.
- La tasa metabólica media fue más alta en *Aegla singularis*. De este modo, cada especie mostró un ajuste metabólico específico.
- En *Aegla platensis* y *Aegla singularis* se registraron disminuciones de la tasa metabólica asociadas con el aumento de peso.
- El consumo de oxígeno de *Aegla uruguayana*, *Aegla platensis* y *Aegla singularis* fue similar entre machos y hembras.

La integración de la información obtenida a lo largo del desarrollo de la presente Tesis Doctoral permite concluir que existen ajustes biológicos, ecológicos y fisiológicos de los aeglidos a los diferentes contextos ambientales donde se distribuyen. Como así también, se sugiere que *Aegla uruguayana* es una especie plástica, la cual presenta capacidad de ajuste ambiental, encontrando sustento en los conocimientos generados en la presente investigación sobre su biología poblacional, crecimiento y tasa de consumo de oxígeno.

Durante el desarrollo de la presente Tesis Doctoral surgieron interrogantes que podrán guiar a estudios futuros. Entre estas se destacan:

- ❖ Patrón de distribución y agregación: Se considera de interés ahondar en este tipo de estudio, debido a que hasta el momento no existen registros para aeglidos, dificultando las comparaciones e interpretaciones de los datos. A su vez, sería fructífero considerar la influencia de la estacionalidad (por ejemplo: antes y durante los eventos reproductivos) sobre el grado de agregación, y otras variables que no han sido evaluadas en el presente estudio, tales como el tamaño de los cangrejos adultos.
- ❖ Fecundidad: Las comparaciones con otros aeglidos resultan complejas y deben realizarse con cautela, debido a que; por un lado existen pocos estudios en este grupo taxonómico que aborden aspectos relacionados a la producción de huevos. Y por otro lado, esos trabajos muchas veces utilizan diferentes metodologías de estudio.
- ❖ Tamaño de los huevos: En la presente investigación se postuló que el volumen de los huevos podría constituir un ajuste biológico de los organismos a su ambiente. En este sentido, sería fructífero la realización de nuevos estudios, los cuales podrían aportar información para profundizar esta observación.
- ❖ Tamaño de los huevos: En la presente investigación se registraron diferencias interpoblacionales en el volumen de los huevos pertenecientes al mismo estadio de desarrollo embrionario. Sin embargo, se considera que sería necesario profundizar estos estudios, incrementando el número de ejemplares analizados, además de incluir otras técnicas de análisis (como, por ejemplo: histología o la utilización de microscopía electrónica) las cuales podrían permitir obtener mayor información.
- ❖ Senescencia: En el presente trabajo se postuló la existencia de una senescencia no gradual (abrupta) en *Aegla uruguayana*. Sin embargo, se sugiere profundizar en este tipo de análisis.

- ❖ Consumo de oxígeno: Con el fin de evaluar la influencia de la estacionalidad en este tipo de respuesta metabólica, debería medirse el consumo de oxígeno en el campo en diferentes estaciones del año.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] PW Hochachka, GN Somero (1984) *Strategies of biochemical adaptation*. Cambridge University Press, p. 358.
- [2] D Randall, W Burggren, K French (1997) *Fisiología animal: mecanismos y adaptaciones*, 4ª ed. (Ed: Mc Graw), Hill-Interamericana, p. 795.
- [3] HK Reeve, PW Sherman (1993) Adaptation and the goals of evolutionary research. *Q Rev Biol* 68 (1):1-32.
- [4] RW Hill (1976) *Comparative physiology of animals*. Harper and Row Publishers, p. 656.
- [5] CL Prosser (1978) *Comparative animal physiology*, 3ª ed. Saunders College Publishing, p. 966.
- [6] JL Gittleman (2017) *Adaptation*, *Encyclopedia Britannica, inc.* <https://www.britannica.com/science/adaptation-biology-and-physiology>. 12-12-17.
- [7] EE Ruppert, RD Barnes (1994) *Invertebrate zoology*, 6ª ed. Saunders College Publishing, Orlando, p. 1056.
- [8] GAS Melo (2003) *Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil* (Ed: GAS Melo), Loyola, São Paulo, Brasil, p. 429.
- [9] ST Ahyong, JK Lowry, M Alonso, RN Bamber, GA Boxshall, P Castro, S Gerken, GS Karaman, JW Goy, DS Jones, K Meland, DC Rogers, J Svavarsson (2011) Subphylum Crustacea Brünnich, En: *Animal biodiversity: an outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness*, (Ed: ZQ Zhang), Zootaxa 3148:165-191.
- [10] RC Brusca, GJ Brusca (1990) *Invertebrates*, Sinauer Associates, Massachusetts, p. 922.
- [11] RSK Barnes, P Calow, PJ Olive (1993) *The invertebrates: a new synthesis*, 2ª ed. Blackwell, London, p. 488.
- [12] JD Robertson (1961) Osmotic and Ionic Regulation, En: *The physiology of crustacea*, Volumen I, Metabolism and growth (Ed: TH Waterman), Academic press, New York, p. 317-340.

- [13] K Schmidt-Nielsen (1997), *Animal physiology: adaptation and environment*, Fifth. New York, Cambridge University Press, p. 607.
- [14] RT Bauer, JW Martin (1991), *Crustacean sexual biology*. Columbia University Press, New York, Oxford, p. 355.
- [15] CL McLay, LS López Greco (2011) A hypothesis about the origin of sperm storage in the Eubrachyura, the effects of seminal receptacle structure on mating strategies and the evolution of crab diversity: How did a race to be first become a race to be last?. *Zool Anz J Comp Zool* 250 (4):378-406.
- [16] P Collins, V Williner, F Giri (2007) Littoral Communities. Macrocrustaceans, En: *The Middle Paraná River*, (Ed: MH Iriondo, JC Paggi, MJ Parma), Springer-Verlag, Heidelberg, p. 277-301.
- [17] V Williner, F Giri, PA Collins (2009) Los crustáceos decápodos dulciacuícolas en Argentina. *Fabrizi* 13 (1):147-165.
- [18] K Li, LQ Chen, EC Li, ZK Zhou (2006) Acute Toxicity of the Pesticides Chlorpyrifos and Atrazine to the Chinese Mitten-handed Crab, *Eriocheir sinensis*. *Bull Environ Contam Toxicol* 77 (6):918-924.
- [19] PS Glas, LA Courtney, JR Rayburn, WS Fisher (1997) Embryonic coat of the grass shrimp *Palaemonetes pugio*. *Biol Bull* 192 (2):231-242.
- [20] K Anger (1995) The conquest of freshwater and land by marine crabs: adaptations in life-history patterns and larval bioenergetics. *J Exp Mar Biol Ecol* 193 (1-2):119-145.
- [21] K Anger (2013) Neotropical *Macrobrachium* (Caridea: Palaemonidae): on the biology, origin, and radiation of freshwater-invading shrimp. *J Crustac Biol* 33 (2):151-183.
- [22] RR Vance (1973) On reproductive strategies in marine benthic invertebrates. *Am Nat* 955 (107):339-352.
- [23] D Bliss (1982) Shrimps, Crabs, and Lobsters: Their Fascinating Life Story. Columbia University Press, New York, p. 242.

- [24] RB Manning, HH Hobbs (1977) Decapoda, En: *Biota Acuática de Sudamérica Austral: Siendo Una Recopilación de Bibliografías Taxonómicas Referentes a la Fauna Y Flora de Aguas Continentales Del Sur de Sudamérica*, (Ed: H Hurlbert), San Diego, California, San Diego State University, p. 157-162.
- [25] EE Boschi (1981) Decapoda Natantia, En: *Fauna de agua dulce de la República Argentina*. Vol XXVI. Fundación para la Educación, la Ciencia y la Cultura (CONICET), (Ed: RA Ringuelet), Buenos Aires, p. 61.
- [26] JJ Morrone, EC Lopretto (2001) Trichodactylid biogeographic patterns (Crustacea: Decapoda) and the Neotropical region. *Neotrópica* 47:49-55.
- [27] JJ Morrone, EC Lopretto (1994) Distributional patterns of freshwater Decapoda (Crustacea: Malacostraca) in southern South America: a panbiogeographic approach. *J Biogeogr* 21:97-109.
- [28] PA Collins, V Williner, F Giri (2004) Crustáceos Decápodos del Litoral Fluvial Argentino En: *Temas de la biodiversidad del litoral fluvial argentino* (Ed: FG Aceñolaza), INSUGEO, Miscelánea, Tucuman, 12:253-264.
- [29] PA Collins (2000) A new distribution record for *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) in Argentina (Decapoda, Palaemonidae). *Crustaceana* 9 (73):1167-1169.
- [30] PA Collins, V Williner, F Giri (2002) A new distribution record for *Zilchiopsis oronensis* (Pretzmann, 1968) (Decapoda, Trichodactylidae) in Argentina. *Crustaceana* 75:931-934.
- [31] P Collins, F Giri, V Williner (2009) New distributional records for three freshwater crab species (Crustacea: Decapoda: Trichodactylidae) in Southern South America. *Zootaxa* 1977:49-54.
- [32] JW Martin, LG Abele (1986) Phylogenetic Relationships of the Genus *Aegla* (Decapoda: Anomura: Aeglidae), with Comments on Anomuran Phylogeny. *J Crustac Biol* 3 (6):576-616.
- [33] RM Feldmann (1984) *Haumuriaegla glaessneri* n. gen. and sp. (Decapoda; Anomura; Aeglidae) from Haumurian (late Cretaceous) rocks near Cheviot, New Zealand. *New Zael J Geol Geophys* 3 (27):379-385.

- [34] RM Feldmann, FJ Vega, SP Applegate, GA Bishop (1998) Early Cretaceous arthropods from the Tlayúa Formation at Tepexi de Rodríguez, Puebla, México. *J Paleontol* 1 (72):79-90.
- [35] G Bond-Buckup, CG Jara, M Pérez-Losada, L Buckup, KA Crandall (2008) Global diversity of crabs (Aeglidae: Anomura: Decapoda) in freshwater. *Hydrobiologia*, 1 (595):267-273.
- [36] M Pérez-Losada, G Bond-Buckup, CG Jara, KA Crandall (2004) Molecular systematics and biogeography of the southern South American freshwater “crabs” *Aegla* (Decapoda: Anomura: Aeglidae) using multiple heuristic tree search approaches. *Syst Biol* 5 (53):767-780.
- [37] G Bond-Buckup, CG Jara, L Buckup, AA Bueno, M Perez-Losada, KA Crandall (2010) Description of a new species of Aeglidae, and new records of related species from river basins in Argentina(Crustacea, Anomura). *Zootaxa* 1 (2343):18-30.
- [38] SLS Bueno, RM Shimizu, JCB Moraes (2016) A Remarkable Anomuran: The taxon *Aegla* Leach, 1820. Taxonomic remarks, distribution, biology, diversity and conservation, En: *A Global Overview of the Conservation of Freshwater Decapod Crustaceans*, Springer, p. 23-64.
- [39] SLS Bueno, S Santos, SS da Rocha, KM Gomes, EC Mossolin, FL Mantelatto (2016) Avaliação dos eglídeos (Decapoda: Aeglidae). *Livro vermelho dos crustáceos do Brasil: Avaliação 2010–2014*, Sociedade Brasileira de Carcinologia Porto Alegre, p 35-63.
- [40] SLS Bueno, AL Camargo, JCB Moraes (2017) A new species of stygobitic aeglid from lentic subterranean waters in southeastern Brazil, with an unusual morphological trait: short pleopods in adult males. *Nauplius*, 25.
- [41] JCB Moraes, M Tavares, SLS Bueno (2017) Taxonomic review of *Aegla marginata* Bond-Buckup & Buckup, 1994 (Decapoda, Anomura, Aeglidae) with description of a new species. *Zootaxa* 4323 (4):519-533.
- [42] S Santos, G Bond-Buckup, AS Gonçalves, ML Bartholomei-Santos, L Buckup, CG Jara (2017) Diversity and conservation status of *Aegla* spp. (Anomura, Aeglidae): an update. *Nauplius*, 25:1-18.

- [43] G Tumini (2016) Biogeografía evolutiva de pseudocangrejos de agua dulce de la familia Aeglididae (Crustacea: Anomura). Tesis para la obtención del Título de Doctora en Ciencias Biológicas. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, 232 pp.
- [44] M Pérez-Losada, CG Jara, G Bond-Buckup, KA Crandall (2002) Conservation phylogenetics of Chilean freshwater crabs *Aegla* (Anomura, Aeglididae): assigning priorities for aquatic habitat protection. *Biol Conserv* 3 (105):345-353.
- [45] G Bond-Buckup, L Buckup (2000) *Aegla rosanae* Campos Jr., um novo sinônimo de *Aegla paulensis* Schmitt (Crustacea, Aeglididae). *Rev Bras Zool* 2 (17):385-386.
- [46] PE Potter (1997) The Mesozoic and Cenozoic paleodrainage of South America: a natural history. *J South Am Earth Sci* 5-6 (10):331-344.
- [47] PA Collins, F Giri, V Williner (2011) Biogeography of the Freshwater Decapods in the La Plata Basin, South America. *J Crustac Biol* 1 (31):179-191.
- [48] WL Schmitt (1986) The species of *Aegla*, endemic South American fresh-water crustaceans. *Proc U S Nat Mus* 3132 (91):431-520.
- [49] RM Feldmann (1986) Paleobiogeography of two decapod crustacean taxa in the Southern Hemisphere: global conclusions with sparse data. En: *Crustacean Biogeography* (Ed: RH Gore, KL Heck), Balkema, Rotterdam and Boston, p. 5-19.
- [50] AE Ortmann (1902) The geographical distribution of freshwater decapods and its bearing upon ancient geography. *Proc Am Philos Soc* 171 (41):267-400.
- [51] ME D'Amato, D Corach (1997) Highly Repetitive DNA Sequences Unique to Aeglididae (Anomura). *J Crustac Biol* 1 (17):184-191.
- [52] G Bond-Buckup, L Buckup (1994) A família Aeglididae (Crustacea, Decapoda, Anomura). *Arq Zool São Paulo*, 4 (32):159-346.
- [53] SS Rocha, RM Shimizu, SLS Bueno (2010) Reproductive Biology in Females of *Aegla strinatii* (Decapoda: Anomura: Aeglididae). *J Crustac Biol* 4 (30):589-596.

- [54] CS Fernandes, SLS Bueno, ME Bichuette (2013) Distribution of cave-dwelling *Aegla* spp. (Decapoda: Anomura: Aeglidae) from the Alto Ribeira karstic area in southeastern Brazil based on geomorphological evidence. *J Crustac Biol* 4 (33):567-575.
- [55] N Bahamonde, MT López (1961) Estudios Biológicos en la Población de *Aegla Laevis Laevis* (Latreille) de El Monte (Crustacea, Decapoda, Anomura) Investigaciones Zoológicas Chilenas 7:19-58.
- [56] MT López (1965) Estudios biológicos en *Aegla odebrechtti paulensis*, Schmitt. *Bol Fac Filos Ciênc Univ São Paulo* 287 (25):301-314.
- [57] W Rodrigues (1978) Estudos biológicos em *Aegla perobae* Hebling & Rodrigues, 1977 (Decapoda, Anomura). *Rev Bras Biol* 2 (38):383-390.
- [58] AA Bueno, G Bond-Buckup, L Buckup (2000) Crescimento de *Aegla platensis* Schmitt em ambiente natural (Crustacea, Decapoda, Aeglidae). *Rev Bras Zool* 17 (1):51-60.
- [59] BP Swiech-Ayoub, S Masunari (2001) Flutuações temporal e espacial de abundância e composição de tamanho de *Aegla castro* Schmitt (Crustacea, Anomura, Aeglidae) no Buraco do Padre, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. *Rev Bras Zool* 18 (3):1003-1017.
- [60] F Giri (2009) Revisión de la variabilidad morfológica intrapoblacional e interpoblacional mediante métodos de análisis cuantitativos de la forma. Especies del género *Aegla* Leach (Crustacea: decapoda: anomura) de la Argentina. Tesis para la obtención del Título de Doctor en Ciencias Naturales. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de la Plata p. 189.
- [61] JJ Morrone (1996) On the geographical distribution of the species of *Aegla* Leach: identification of areas of endemism (Decapoda: Aeglidae). *Biogeographica* 72 (3):113-119.
- [62] JJ Morrone (1996) The biogeographical Andean Subregion: A proposal exemplified by Arthropod taxa (Arachnida: Crustacea, and Hexapoda). *Neotropica* 42 (107-108):103-114.

- [63] EC Lopretto (1998) Eucarida. Biodiversidad de Artrópodos argentinos. JJ Morrone & S Coscarón. Edic Sur.
- [64] RS Gonçalves, DS Castiglioni, G Bond-Buckup (2006) Population ecology of *Aegla franciscana* (Crustacea, Decapoda, Anomura) from São Francisco de Paula, RS, Brazil. *Iheringia Sér Zool* 96 (1):109-114.
- [65] NN Bahamonde, A Carvacho, CG Jara, M López, F Ponce, MA Retamal, EH Rudolph (1998) Categorías de conservación de decápodos nativos de aguas continentales de Chile. *Bol Mus Nac Hist Nat* 47:91-100.
- [66] CG Jara, EH Rudolph, ER González (2006) Estado de conocimiento de los malacostráceos dulceacuícolas de Chile. *Gayana* 70 (1):40-49.
- [67] AP Covich, M Thiel, L Watling (2015), Vol 2- Freshwater crustaceans: Adaptations to complex inland habitats and species interactions, En: *Natural History of Crustacea: Life Styles and Feeding Biology of the Crustacea* (Ed: M Thiel) Oxford University Press, New York, p. 337-378.
- [68] E Mente (2003) Nutrition, physiology and metabolism in crustaceans. Science Publishers, Inc, Einfeld, p. 160.
- [69] MC Newman, MA Unger (2003) Fundamentals of ecotoxicology. Lewis Publishers, CRC Press, Florida, p. 458.
- [70] M Dalosto, S Santos (2011) Differences in oxygen consumption and diel activity as adaptations related to microhabitat in Neotropical freshwater decapods (Crustacea). *Comp Biochem Physiol A. Mol. Integr. Physiol* 160 (4):461-466.
- [71] HG Andrewartha (1954) The Distribution and Abundance of Animals. University of Chicago Press.
- [72] CJ Krebs (1978) Ecology: the experimental analysis of abundance and distribution. Haper & Row, New York.
- [73] CE Bock, RE Ricklefs (1983) Range size and local abundance of some North American songbirds: a positive correlation. *Am Nat* 122: 295-299.

- [74] J Ehrlén, WF Morris (2015) Predicting changes in the distribution and abundance of species under environmental change. *Ecol Lett* 18 (3):303-314.
- [75] EA Birge (1897) Plankton studies on Lake Mendota II. The Crustacea of the plankton from July, 1894, to December, 1896. *Trans Wise Acad Sci Arts Lett* 11: 274-451.
- [76] V Williner, F Giri, PA Collins (2010) Metapopulations of decapods in the floodplain of Parana River, South America. En: *physical geography, ecology and societal interactions* (Ed: MA Alvarez) Nova Science Publication, New York, p. 179-199.
- [77] A Fransozo, RC Costa, ALD Reigada, JM Nakagaki (2003) Population structure of *Aegla castro* Schmitt, 1942 (Crustacea: Anomura: Aeglidae) from Itatinga (SP), Brazil. *Acta Limnol Bras* 15 (2):13-20.
- [78] KD Colpo, LR Oliveira, S Santos (2005) Population biology of the freshwater anomuran *Aegla longirostri* (Crustacea, Anomura, Aeglidae) from Ibicuí-Mirim River, Itaára, RS, Brazil. *J Crustac Biol* 25 (3):495-499.
- [79] ÉAO Teodósio, S Masunari (2009) Estrutura populacional de *Aegla schmitti* (Crustacea: Anomura: Aeglidae) nos reservatórios dos Mananciais da Serra, Piraquara, Paraná, Brasil, *Zoologia* 26 (1).
- [80] FPA Cohen, BF Takano, RM Shimizu, SLS Bueno (2011) Life Cycle and Population Structure of *Aegla paulensis* (Decapoda: Anomura: Aeglidae). *J Crustac Biol* 31 (3):389-395.
- [81] FPA Cohen, BF Takano, RM Shimizu, SLS Bueno (2013) Population size of *Aegla paulensis* (Decapoda: Anomura: Aeglidae). *Lat Am J Aquat Res* 41 (4):746-752.
- [82] SLS Bueno, BF Takano, FP Cohen, JC Moraes, PI Chiquetto-Machado, LC Vieira, RM Shimizu (2014). Fluctuations in the population size of the highly endemic *Aegla perobae* (Decapoda: Anomura: Aeglidae) caused by a disturbance event. *J Crust Biol* 34 (2):65-173.
- [83] A Trevisan, S Santos (2014) Population dynamics of *Aegla manuinflata* Bond-Buckup and Santos 2009 (Decapoda: Aeglidae), an threatened species. *Acta Limnol Bras* 2 (26):154-162.

- [84] PI Chiquetto-Machado, LCM Vieira, RM Shimizu, SLS Bueno (2016) Life cycle of the freshwater anomuran *Aegla schmitti* Hobbs, 1978 (Decapoda: Anomura: Aeglidae) from southeastern Brazil. *J Crustac Biol* 1 (36):39-45.
- [85] CE Copatti, RP Legramanti, A Trevisan, S Santos (2013) Method of capture and population structure of *Aegla georginae* Santos and Jara, 2013 (Decapoda: Anomura: Aeglidae) in a tributary of the Ibicuí River in southern Brazil. *Braz J Biol* 76 (4):1035-1042.
- [86] AR da Silva, MR Wolf, AL Castilho (2016) Reproduction, growth and longevity of the endemic South American crab *Aegla marginata* (Decapoda: Anomura: Aeglidae). *Invertebr Reprod Dev* 60 (1):59-72.
- [87] KG Adiyodi, RG Adiyodi (1970) Endocrine control of reproduction in decapod Crustacea. *Biol Rev* 45:21-164.
- [88] AN Sastry (1983) Ecological aspects of reproduction, En: *The Biology of Crustacea. Environmental Adaptations* (Ed: FJ Vernberg, WB Vernberg), Academic Press, New York.
- [89] RG Adiyodi (1985) Reproduction and its control, En: *The Biology of Crustacea*, Vol 9 (Ed: DE Bliss, HL Mantel) Academic Press, Orlando, Florida.
- [90] RG Hartnoll (1985) Growth, sexual maturity and reproductive output, En: *Factors in adult growth*. Crustacean Issues 3 (Ed: AM Wenner), Balkema, Rotterdam.
- [91] RG Hartnoll, P Gould, (1988) Brachyuran life history strategies and the optimization of egg production. *Symposia of the Zoological Society of London*, 59:1-9.
- [92] L Romero (2003) Comportamiento reproductivo y mutilaciones en el cangrejo de las rocas *Grapsus grapsus* (Linnaeus, 1758) (Crustacea, Decapoda). *Rev Peru Biol* 10:2-10.
- [93] C Litulo (2005) External factors determining the reproductive periodicity in a tropical population of the hairy crab *Pilumnus vesperilio* (Decapoda: Brachyura: Pilumnidae). *Raffles Bull Zool* 53:115-118.
- [94] RH MacArthur, EO Wilson (1967) The theory of island biogeography. Princeton Univ Press, Princeton, New Jersey, USA.

- [95] ER Pianka (1970) On r-and K-selection. *Am Nat* 104:592-597.
- [96] D Ebert (1994) A maturation size threshold and phenotypic plasticity of age and size at maturity in *Daphnia magna*. *Oikos* 69:309-317.
- [97] LS López-Greco (1997) Adquisición de la madurez sexual y caracterización del patrón de crecimiento y reproducción de *Chasmagnathus granulata* Dana (Brachyura, Grapsidae, Sesarminae) de Bahía Samborombón. Tesis para obtener el Título de Doctora en Ciencias Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina, p. 244.
- [98] CK Noro, L Buckup (2002) Biology and ecology of *Aegla leptodactyla* Buckup & Rossi (Crustacea, Anomura, Aeglidae). *Rev Bras Zool* 19 (4):1063-1079.
- [99] VE Viau, LS López Greco, G Bond-Buckup, EM Rodríguez (2006) Size at the onset of sexual maturity in the anomuran crab, *Aegla uruguayana* (Aeglidae). *Acta Zool* 87 (4):253-264.
- [100] SLS Bueno de Siqueira, RM Shimizu (2008) Reproductive Biology and Functional Maturity in Females of *Aegla Franca* (Decapoda: Anomura: Aeglidae). *J Crustac Biol* 28 (4):652-662.
- [101] RC Grabowski, S Santos, y AL Castilho (2013) Reproductive ecology and size of sexual maturity in the anomuran crab *Aegla parana* (Decapoda: Aeglidae). *J Crustac Biol* 33 (3):332-338.
- [102] PA Collins, AM Petriella (1996) Crecimiento y supervivencia del camarón *Macrobrachium borellii* (Decapoda: Palaemonidae) alimentado con dietas artificiales. *Neotropica* 42 (107-108):3-8.
- [103] R Vaz-Ferreira, R Gary, M Vaz-Ferreira (1945) Notas biométricas sobre los crustáceos Decápodos del género *Aegla* (Leach). *Com Zool Mus Montev* 1 (24):1-6.
- [104] CK Noro, L Buckup (2003) O crescimento de *Aegla leptodactyla* Buckup & Rossi (Crustacea, Anomura, Aeglidae). *Rev Bras Zool* 20 (2):191-198.
- [105] D Silva-Castiglioni, DF Barcelos, S Santos (2006) Growth of *Aegla longirostri* Bond-Buckup & Buckup (Crustacea, Anomura, Aeglidae). *Rev Bras Zool* 23 (2):408-413.

- [106] RDS Gonçalves, G Bond-Buckup, L Buckup (2009) Crecimiento de *Aegla itacolomiensis* (Crustacea, Decapoda) em um arroio da Mata Atlântica no sul do Brasil. *Iheringia Sér Zool*, Porto Alegre, 4 (99):397-402.
- [107] A Trevisan, S Santos (2011) Crecimiento de *Aegla manuinflata* (Decapoda, Anomura, Aeglidae) em ambiente natural. *Iheringia Sér Zool* 101 (4):336-342.
- [108] EC Drago (2007) The physical dynamics of the river–lake floodplain system, En: *The Middle Paraná River*, Springer, p. 83-122.
- [109] R Ringuelet (1949) Los anomuros del género *Aegla* del noroeste de la República Argentina. *Rev Mus Plata Zool* 6:1-45.
- [110] A Oyanedel, C Valdovinos, N Sandoval, C Moya, G Kiessling, J Salvo, V Olmos (2011) The southernmost freshwater anomurans of the world: geographic distribution and new records of Patagonian aeglids (Decapoda: Aeglidae). *J Crust Biol* 31:396-400.
- [111] JS de Paggi (1990) Ecological and biogeographical remarks on the rotifer fauna of Argentina. *Revue d'Hydrobiologie tropicale* 23:297-311.
- [112] JC Paggi (1993) Análisis preliminar de la distribución geográfica de los Cladóceros suramericanos, En: Conferencias de Limnología (Ed: A Boltovskoy, HL Lopez) Instituto de Limnología Dr. Raul A. Ringuelet, La Plata p. 105-113.
- [113] JC Paggi, S Coscarón, JJ Morrone (1998) Cladocera (Anomopoda y Ctenopoda), En: *Biodiversidad de Artrópodos Argentinos* (Ed: S Coscarón, JJMorrone), Ediciones Sur, La Plata p. 507-518.
- [114] P Renzulli, P Collins (2000) Efecto de la temperatura en el crecimiento de *Trichodactylus borellianus* (Crustacea Eumalacostraca). *Fabacib* 4:129-136.
- [115] JJ Morrone (2001) A proposal concerning formal definitions of the Neotropical and Andean regions. *Biogeographica* 77 (2):65-82.
- [116] AL Cabrera, A Willink (1973) Biogeografía de América latina. *Serie de Biología Monografía N° 13 OEA*, Washington, p. 120.
- [117] AL Cabrera (1976) Regiones fitogeográficas Argentinas. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*, Second Edition, Buenos Aires, Argentina.

- [118] JW Martin, LG Abele (1988) External morphology of the genus *Aegla* (Crustacea, Anomura, Aeglidae). *Contr Zool* 453:1-46.
- [119] M Franco (1990) Ecología de poblaciones. *Ciencias* 4:4-9.
- [120] M Begon, M Mortimer, DJ Thompson (1996) Population ecology: a unified study of animals and plants Third, (Ed: B Science), Oxford, United Kingdom, p. 247.
- [121] MM Dalosto, AV Palaoro, D de Oliveira, É Samuelsson, S Santos (2014) Population biology of *Aegla platensis* (Decapoda: Anomura: Aeglidae) in a tributary of the Uruguay River, state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Zool* 31 (3):215-222.
- [122] TJ Trott (1998) On the sex ratio of the painted ghost crab *Ocypode gaudichaudii* H. Milne Edwards & Lucas, 1843 (Brachyura, Ocypodidae). *Crustaceana* 1 (71):47-56.
- [123] ML Negreiros-Fransozo, FL Mantelatto, A Fransozo (1999) Population biology of *Callinectes ornatus* Ordway, 1863 (Decapoda, Portunidae) from Ubatuba (SP), Brazil. *Sci Mar* 2 (63):157-163.
- [124] C Baptista, MAA Pinheiro, A Blankensteyn, CA Borzone (2003) Estrutura populacional de *Callinectes ornatus* Ordway (Crustacea, Portunidae) no Balneário Shangri-Lá, Pontal do Paraná, Paraná, Brasil. *Rev Bras Zool* 4 (20):661-666.
- [125] LO Branco, HAA Fracasso (2004) Population biology of *Callinectes ornatus* (Ordway) in the Armação do Itapocoroy, Santa Catarina, Brazil. *Rev Bras Zool* 1 (21):91-96.
- [126] S Masunari (2006) Distribuição e abundância dos caranguejos *Uca* Leach (Crustacea, Decapoda, Ocypodidae) na Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. *Rev Bras Zool* 4 (23):901-914.
- [127] RJ DiStefano, JT Westhoff, CW Ames, AE Rosenberger (2016) Life History of the Vulnerable Endemic Crayfish *Cambarus* (Erebicambarus) *Maculatus* (Decapoda: Astacoidea: Cambaridae) in Missouri, USA. *J Crustac Biol* 00 (0):1-13.
- [128] DAI Foltz, CN Damis, NM Sadecky, CL Cyprych, ZJ Loughman (2016) The Crayfish of Tomlinson Run State Park. *Freshw Crayfish* p. 8.

- [129] BL Zimmermann, CS Dambros, S Santos (2016) Association of microhabitat variables with the abundance and distribution of two neotropical freshwater decapods (Anomura: Brachyura). *J Crustac Biol* 2(36):198-204.
- [130] CC Sokolowicz, G Bond-Buckup, L Buckup (2006) Dynamics of gonadal development of *Aegla platensis* Schmitt (Decapoda, Anomura, Aeglidae). *Rev Bras Zool* 4 (23):1153-1158.
- [131] AA Bueno, G Bond-Buckup (2000) Population's dynamics of *Aegla platensis* Schmitt (Crustacea, Decapoda, Aeglidae). *Rev Bras Zool* 1 (17): 43-49.
- [132] L Ayres-Peres, PB Araújo, S Santos (2011) Description of the Agonistic Behavior of *Aegla longirostri* (Decapoda: Aeglidae). *J Crustac Biol* 3 (31):379-388.
- [133] ED Burress, MM Gangloff, L Siefferman (2013) Trophic analysis of two subtropical South American freshwater crabs using stable isotope ratios. *Hydrobiologia* 702 (1):5-13.
- [134] GB Cogo y S Santos (2013) The role of aeglids in shredding organic matter in neotropical streams. *J Crustac Biol* 33 (4):519-526.
- [135] JA Honan, BD Mitchell (1995) Reproduction of *Euastacus bispinosus* Clark (Decapoda: Parastacidae), and trends in the reproductive characteristics of freshwater crayfish. *Mar Fresh Res* 46 (2):485-499.
- [136] CM Austin (1998) Intraspecific variation in clutch and brood size and rate of development in the yabby, *Cherax destructor* (Decapoda: Parastacidae). *Aquaculture* 167 (1-2):147-159.
- [137] SJ Beatty, DL Morgan, HS Gill (2004) Biology of a translocated population of the large freshwater crayfish, *Cherax cainii* Austin & Ryan, 2002 in a Western Australian River. *Crustaceana* 77 (11):1329-1351.
- [138] S Beatty, M de Graaf, B Molony, V Nguyen, K Pollock (2011) Plasticity in population biology of *Cherax cainii* (Decapoda: Parastacidae) inhabiting lentic and lotic environments in south-western Australia: Implications for the sustainable management of the recreational fishery. *Fish Res* 110 (2):312-324.

- [139] G Vogt, M Huber, M Thiemann, G van den Boogaart, OJ Schmitz, CD Schubart (2008) Production of different phenotypes from the same genotype in the same environment by developmental variation. *J Exp Biol* 211 (4):510-523.
- [140] SM Parkyn, KJ Collier, BJ Hicks (2002) Growth and population dynamics of crayfish *Paranephrops planifrons* in streams within native forest and pastoral land uses. *N Z J Mar Freshw Res* 36 (4):847-862.
- [141] ER Larson, DD Magoulick (2008) Comparative life history of native (*Orconectes eupunctus*) and introduced (*Orconectes neglectus*) crayfishes in the Spring River drainage of Arkansas and Missouri. *Am Midl Nat* 2 (160):323-341.
- [142] NM Hayes, KJ Butkas, JD Olden, M Jake Vander Zanden (2009) Behavioural and growth differences between experienced and naive populations of a native crayfish in the presence of invasive rusty crayfish. *Freshw Biol* 54 (9):1876-1887.
- [143] SLS Bueno, RM Shimizu, SS da Rocha (2007) Estimating the population size of *Aegla franca* (Decapoda: Anomura: Aeglidae) by mark-recapture technique from an isolated section of Barro Preto stream, county of Claraval, state of Minas Gerais, southeastern Brazil. *J Crustac Biol* 27 (4):553-559.
- [144] ML Bartholomei-Santos, PA Roratto, S Santos (2011) High genetic differentiation of *Aegla longirostri* (Crustacea, Decapoda, Anomura) populations in southern Brazil revealed by multi-loci microsatellite analysis. *Genet Mol Res* 10 (4):4133-4146.
- [145] EC Lopretto (1978) Estructura exoesqueletaria y miológica del quinto par de pereiópodos del macho de la familia Aeglidae (Crustacea Anomura). *Limnobiós* 1 (8):284-198.
- [146] HM Lizardo-Daudt, G Bond-Buckup (2003) Morphological aspects of the embryonic development of *Aegla platensis* (Decapoda, Aeglidae). *Crustaceana* 76 (1):13-25.
- [147] F Giri, PA Collins (2004) A geometric morphometric analysis of two sympatric species of the family Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura) from the La Plata basin. *Ital J Zool* 71 (1):85-88.

- [148] LS López Greco, V Viau, M Lavalpe, G Bond-Buckup, EM Rodriguez (2004) Juvenile hatching and maternal care in *Aegla uruguayana* (Anomura, Aeglidae). *J Crustac Biol* 24 (2):309-313.
- [149] PA Collins, F Giri, V Williner (2008) Sexual maturity and ontogenetic shape variations in the freshwater anomuran crab, *Aegla uruguayana* (Decapoda, Aeglidae). *Invertebr Reprod Dev* 52 (1-2):113-119.
- [150] F Giri, P Collins (2014) Clinal variation in carapace shape in the South American freshwater crab, *Aegla uruguayana* (Anomura: Aeglidae). *Biol J Linn Soc* 113 (4):914-930.
- [151] VP Diawol, F Giri, PA Collins (2015) Shape and size variations of *Aegla uruguayana* (Anomura, Aeglidae) under laboratory conditions: A geometric morphometric approach to the growth. *Iheringia Sér Zool* 105 (1):76-83.
- [152] A Merkel (2017) Datos Climáticos Mundiales. <https://es.climate-data.org/> 28-11-17
- [153] CJ Krebs (1999) *Ecological Methodology*. 2nd ed. Addison-Wesley Educational Publishers, Vancouver, Canada, p. 620.
- [154] ER Llodra (2002) Fecundity and life-history strategies in marine invertebrates. *Adv Mar Biol* 43:87-170.
- [155] L López, T Jeri, C González, S Rodríguez (1997) Fecundidad y esfuerzo reproductivo de *Petrolisthes granulosus* (Guérin, 1835) en Iquique, Chile (Decapoda, Anomura, Porcellanidae). *Investig Mar* 25: 159-165.
- [156] A Clarke, CCE Hopkins, EM Nilssen (1991) Egg size and reproductive output in the deep-water prawn *Pandalus borealis* Kroyer, 1983. *Funct Ecol* 724-730.
- [157] FJ Rohlf (2004) *tpsDig* Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, NJ.
- [158] RL Turner, JM Lawrence (1979) Volume and composition of echinoderm eggs: implications for the use of egg size in life-history models. En: *Reproductive ecology of marine invertebrates. Contr. Belle W. "Baruch Libr. Mar. Sci. 9"* (Ed: WE Staneyk), Univ South Caroline Press Columbia, p. 25-40.

- [159] A Grant, PA Tyler (1983) The analysis of data in studies of invertebrate reproduction. II. The analysis of oocyte size/frequency data, and comparison of different types of data. *Int J Invertebr Reprod* 6 (5-6):271-283.
- [160] AEAM Vazzoler (1996) Biología da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Editora Universidade Estadual de Maringá. 169 pp.
- [161] CC Sokolowicz, LS López-Greco, R Gonçalves, G Bond-Buckup (2007) The gonads of *Aegla platensis* Schmitt (Decapoda, Anomura, Aeglidae): a macroscopic and histological perspective: Description of the gonads of *Aegla platensis*. *Acta Zool* 88 (1): 71-79.
- [162] B Charlesworth (1993) Evolutionary mechanisms of senescence. *Genetica* 91:11-19.
- [163] G Vogt (2014) Life span, early life stage protection, mortality, and senescence in freshwater Decapoda En: *Advances in freshwater decapod systematics and biology*. (Ed: DCJ Yeo, S Klaus) Cumberlidge, New York p. 17-52.
- [164] P Hernáez, IS Wehrtmann (2011) Sexual maturity and egg production in an unexploited population of the red squat lobster *Pleuroncodes monodon* (Decapoda, Galatheidae) from Central America. *Fish Res* 107 (1-3):276-282.
- [165] R Development Core Team (2017) R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria <http://www.R-project.org>.
- [166] JH Zar (1996) Biostatistical analysis, 3rd edition. Prentice Hall, New Jersey, USA. p. 662.
- [167] S Santos, A Trevisan (2012) Morphological sexual maturity, sexual dimorphism and heterochely in *Aegla manuinflata* (Anomura). *J Crustac Biol* 32 (4):519-527.
- [168] A Trevisan, MZ Marochi, M Costa, S Santos, S Masunari (2012) Sexual dimorphism in *Aegla marginata* (Decapoda: Anomura). *Nauplius* 20 (1):75-86.
- [169] EM Barría, S Santos, CG Jara, CJ Butler (2014) Sexual dimorphism in the cephalothorax of freshwater crabs of genus *Aegla* Leach from Chile (Decapoda,

- Anomura, Aeglidae): an interspecific approach based on distance variables. *Zoomorphology* 133 (4): 379-389.
- [170] N Moracchioli (1994) Estudio da biologia de *Aegla* spp. cavernícolas do vale do Alto Rio Ribeira, São Paulo (Crustacea: Anomura: Aeglidae). Tesis Doctoral. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.
- [171] KP Maia, SLS Bueno, E Trajano (2013) Ecologia populacional e conservação de eglídeos (Crustacea: Decapoda: Aeglidae) em cavernas da área cárstica do Alto Ribeira, em São Paulo. *Rev Biol* 10 (02): 40-45.
- [172] K Fero, PA Moore (2008) Social spacing of crayfish in natural habitats: what role does dominance play?. *Behav Ecol Sociobiol* 62 (7):1119-1125.
- [173] JE Rabinovich (1978) Ecología de poblaciones animales Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Departamento de Asuntos Científicos, Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos.
- [174] JW Burns (1972) The distribution and life history of South American freshwater crabs (*Aegla*) and their role in trout streams and lakes. *Trans Am Fish Soc* 101 (4):595-607.
- [175] CL Elzinga, DW Salzer, JW Willoughby, JP Gibbs (2001), Chap 12 -Monitoring plant and animal populations. *Field techniques for measuring vegetation—USA*, Blackwell Science Inc.
- [176] LS López Greco, EM Rodríguez (1999) Annual reproduction and growth of adult crabs *Chasmagnathus granulata* (Crustacea, Brachiura, Grapsidae). *Cah Biol Mar* (2).
- [177] B Tsukimura (2001) Crustacean vitellogenesis: its role in oocyte development. *Am Zool* 41 (3):465-476.
- [178] SJ Beatty, DL Morgan, HS Gill (2005) Life history and reproductive biology of the gilgie, *Cherax quinquecarinatus*, a freshwater crayfish endemic to southwestern Australia. *J Crustac Biol* 25 (2):251-262.
- [179] OM Millamena, FP Pascual (1990) Tissue lipid content and fatty acid composition of *Penaeus monodon* Fabricius broodstock from the wild. *J World Aquac Soc* 21 (2):116-121.

- [180] G Mourente, A Medina, S Gonzalez, A Rodriguez (1994) Changes in lipid class and fatty acid contents in the ovary and midgut gland of the female fiddler crab *Uca tangeri* (Decapoda, Ocypodiadae) during maturation. *Mar Biol* 121:187-197.
- [181] RO Cavalli, M Tamtin, P Lavens, P Sorgeloos (2001) Variations in lipid classes and fatty acid content in tissues of wild *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) females during maturation. *Aquaculture* 193:311-324.
- [182] KK Pillay, NB Nair (1973) Observations on the biochemical changes in gonads and other organs of *Uca annulipes*, *Portunus pelagicus* and *Metapenaeus affinis* (Decapoda: Crustacea) during the reproductive cycle. *Mar Biol* 18:167-198.
- [183] R Rosa, ML Nunes (2003) Changes in organ indices and lipid dynamics during the reproductive cycle of *Aristeus antennatus*, *Parapenaeus longirostris*, and *Nephrops norvegicus* (Decapoda) from the portuguese south coast. *Crustaceana* 75:1095-1105.
- [184] GK Kulkarni, L Glade, M Fingerman (1991) Oogenesis and effects of neuroendocrine tissues on in vitro synthesis of protein by the ovary of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* (Girard). *J Crustac Biol* 11:513-521.
- [185] CY Lee, RD Watson (1995) In vitro study of vitellogenesis in the blue crab (*Callinectes sapidus*): site and control of vitellin synthesis. *J Exp Zool Part Ecol Genet Physiol* 271:364-372.
- [186] E Palacios, AM Ibarra, IS Racotta (2000) Tissue biochemical composition in relation to multiple spawning in wild and pond-reared *Penaeus vannamei* broodstock. *Aquaculture* 185 (3-4):353-371.
- [187] R Rosa, M Nunes (2002) Biochemical changes during the reproductive cycle of the deep-sea decapod *Nephrops norvegicus* on the south coast of Portugal. *Mar Biol* 141 (6):1001-1009.
- [188] GE Musin, A Rossi, VP Diawol, PA Collins, V Williner (2017) Dynamic metabolic pattern of *Aegla uruguayana* (Schmitt, 1942) (Decapoda: Anomura: Aeglidae): responses to seasonality and ontogeny in a temperate freshwater environment. *J Crustac Biol.* 37 (4): 436-444.

- [189] JJ Neiff (1999) El régimen de pulsos en ríos y grandes humedales de Sudamérica, En: *Tópicos sobre humedales subtropicales y templados de Sudamérica* (Ed: Al Malvárez) Montevideo, Uruguay, UNESCO, p. 97-146.
- [190] C Amoros, G Bornette (2002) Connectivity and biocomplexity in waterbodies of riverine floodplains. *Freshw Biol* vol. 47:761-776.
- [191] A Clarke (1982) Lipid synthesis and reproduction in the polar shrimp *Chorismus antarcticus*. *Mar Ecol Prog Ser* 9:81-90.
- [192] V Williner (2010) Foregut ossicles morphology and feeding of the freshwater anomuran crab *Aegla uruguayana* (Decapoda, Aeglidae). *Acta Zool* 91 (4):408-415.
- [193] C Jara (1977) *Aegla rostrata* n. sp. (Decapoda, Aeglidae), nuevo crustáceo dulceacuícola del Sur de Chile. *Stud Neotropical Fauna Environ* 12 (2):165-176.
- [194] G Vogt (2013) Abbreviation of larval development and extension of brood care as key features of the evolution of freshwater Decapoda. *Biol Rev* 88:81-116.
- [195] JH Annala, JL McKoy, JD Booth, RB Pike (1980) Size at the onset of sexual maturity in female *Jasus edwardsii* (Decapoda: Palinuridae) in New Zealand. *N Z J Mar Freshw Res* 14:217-227.
- [196] MA Lardies, IS Wehrtmann (1996) Aspects of the reproductive biology of *Petrolisthes laevigatus* (Guérin, 1835) (Decapoda, Anomura, Porcellanidae). Part I: Reproductive output and chemical composition of eggs during embryonic development. *Arch Fish Mar Res* 43:121-135.
- [197] P Hernáez, S Palma (2003) Fecundidad, volumen del huevo y rendimiento reproductivo de cinco especies de porcelánidos intermareales del norte de Chile (Decapoda, Porcellanidae). *Investig Mar* 31:35-46.
- [198] AH Hines (1982) Allometric constraints and variables of reproductive effort in brachyuran crabs. *Mar Biol* 69:309-320.
- [199] P Arana, E Dupré, V Gaete (1985) Ciclo reproductivo, talla de primera madurez sexual y fecundidad de la langosta de Juan Fernández (*Jasus frontalis*). En: *Investigaciones marinas en el Archipiélago de Juan Fernández*. (Ed: P Arana) Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile 187-211.

- [200] JH Annala, BL Bycroft (1987) Fecundity of the New Zealand red rock lobster, *Jasus edwardsii*. *N Z J Mar Freshw Res* 21(4):591-597.
- [201] S Thatje, GA Lovrich, K Anger (2004) Egg production, hatching rates, and abbreviated larval development of *Campylonotus vagans* Bate, 1888 (Crustacea: Decapoda: Caridea), in subantarctic waters. *J Exp Mar Biol Ecol* 301 (1): 15-27.
- [202] LR Lara, IS Wehrtmann (2009) Reproductive biology of the freshwater shrimp *Macrobrachium carcinus* (L.) (Decapoda: Palaemonidae) from Costa Rica, Central America. *J Crustac Biol* 29 (3): 343-349.
- [203] S Echeverría-Sáenz, IS Wehrtmann (2011) Egg production of the commercially exploited deepwater shrimp, *Heterocarpus vicarius* (Decapoda: Pandalidae), Pacific Costa Rica. *J Crustac Biol* 31 (3):434-440.
- [204] HS Yeh, DB Rouse (1994) Indoor spawning and egg development of the red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *J World Aquac Soc* 25 (2):297-302.
- [205] MP Masser, DB Rouse (1997) Australian red claw crayfish (No. Acuacultura) Southern Regional Aquaculture Center Stoneville.
- [206] AM Kuris (1990) A review of patterns and causes of crustacean brood mortality. *Crustac Egg Prod*, p. 117.
- [207] RT Bauer (1989) Decapod crustacean grooming: functional morphology, adaptive value, and phylogenetic significance. *Crustac Issues* 6: 49-73.
- [208] P Silva, TA Luppi, D Spivak (2003) Limb autotomy, epibiosis on embryos, and brooding care in the crab *Cyrtograpsus angulatus* (Brachyura: Varunidae). *J Mar Biol Ass U K* 83:1015-1022.
- [209] PV Silva, TA Luppi, ED Spivak (2007) Epibiosis on eggs and brooding care in the burrowing crab *Chasmagnathus granulatus* (Brachyura: Varunidae): comparison between mudflats and salt marshes. *J Mar Biol Ass U K* 87: 893-901.
- [210] JW Martin, BE Felgenhauer (1986) Grooming behaviour and the morphology of grooming appendages in the endemic South American crab genus *Aegla* (Decapoda, Anomura, Aeglidae). *J Zool* 209:213-224.

- [211] AC Verdi (1985) Estudio del desarrollo embrionario en *Aegla prado* Schmitt (Crustacea, Decapoda, Anomura). *Actas de las Jornadas de Zoología del Uruguay* 36-37.
- [212] CE Finch (1994) *Longevity, senescence, and the genome*. University of Chicago Press.
- [213] LS López Greco (2013) Functional anatomy of the reproductive system En: *Functional Morphology and Diversity*, Vol. 1 (Ed: L Watling, M Thiel) Oxford University Press, p. 413.
- [214] AN Sastry (1970) Reproductive physiological variation in latitudinally separated populations of the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck. *Biol Bull* 138 (1):56-65.
- [215] VR Fowler (1968) Body development and some problems of its evaluation. *Growth Dev Mamm* 195-211.
- [216] CP Klingenberg (1996) Multivariate Allometry, En: *Advances in Morphometrics* (Ed: LE Marcus, M Corti, A Loy, GJP Naylor, DE Slice) Plenum Press New Your.
- [217] H Kurata (1962) Studies on the age and growth of Crustacea. *Bull Hokkaido Reg Fish Res Lab* 24: 1-115.
- [218] AM Petriella, EE Boschi (1997) Crecimiento en crustáceos decápodos: resultados de investigaciones realizadas en Argentina. *Investig Mar* 25:135-157.
- [219] TA Luppi, ED Spivak, CC Bas, K Anger (2004) Molt and growth of an estuarine crab, *Chasmagnathus granulatus* (Brachyura: Varunidae), in Mar Chiquita coastal lagoon, Argentina. *J Appl Ichthyol* 20:333-344.
- [220] J Josileen, NG Menon (2005) Growth of the blue swimmer crab, *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758) (Decapoda, Brachyura) in captivity. *Crustaceana* 78 (1):1-18.
- [221] P Drach (1939) Mue et cycle d'intermue chez les crustacés décapodes. *Ann Inst Oceanogr* 19: 103-391.
- [222] RG Hartnoll (1982) Growth, En: *The biology of Crustacea: Embryology, morphology and genetics*, Vol. 2 (Ed. LG Abele), Academic Press, New York, p. 111-196.

- [223] AM Wenner (1985) *Crustacean Issues: Factors in Adult Growth 3* (Ed: AA Rotterdam) Balkema p. 362.
- [224] F Vega-Villasante, H Nolasco-Soria, R Civera-Cerecedo, R González-Valdés, M Oliva-Suárez (2000) Alternativa para la alimentación del camarón en cultivo: el manejo de la muda. *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, Mérida, Yucatán, p.19-22.
- [225] P Drach (1944) Etude préliminaire sur le cycle d'intermue et son conditionnement hormonal chez *Leander serratus* (Pennant). *Bull Biol Fr Belg* 78:40-62.
- [226] RG Hartnoll (1978) The determination of relative growth in Crustacea. *Crustaceana* 34 (3):281-293.
- [227] CP Klingenberg (1998) Heterochrony and allometry: the analysis of evolutionary change in ontogeny. *Biol Rev* 73:79-123.
- [228] DC Adams, FJ Rohlf, DE Slice (2004) Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Ital J Zool* 71:5-16.
- [229] M Corti (1993) Geometric morphometrics: an extension of the revolution. *Trends Ecol Evol* 8 (8):302-303.
- [230] FJ Rohlf, LF Marcus (1993) A revolution morphometrics, *Trends Ecol Evol* 8:129-132.
- [231] LR Monteiro, SF dos Reis (1999) Princípios de morfometria geométrica, En: *Princípios de morfometria geométrica* (Ed: Holos) Ribeirão Preto, Brasil, 189.
- [232] FL Bookstein (1991) *Morphometric tools for landmark data: geometry and Biology*. Cambridge University Press, New York, p. 435.
- [233] DC Adams, FJ Rohlf, DE Slice (2013) A field comes of age: geometric morphometrics in the 21st century, *Hystrix Ital J Mammal* 24 (1):7.
- [234] CP Klingenberg (2013) Visualizations in geometric morphometrics: how to read and how to make graphs showing shape changes. *Hystrix Ital J Mammal* 24:15-24.
- [235] FJ Rohlf (1999) Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. *J Classif* 16:197-223.

- [236] DC Adams (1999) Methods for shape analysis of landmark data from articulated structures. *Evol Ecol Res* 1 (8):959-970.
- [237] DG Kendall (1977) The diffusion of shape. *Adv Appl Probab* 9:428-430.
- [238] A Bermúdez-Tobón (2005) Caracterización morfológica de las poblaciones de *Agononida longipes* y *Munida flinti* (Crustacea: Decapoda: Galatheididae) en el mar Caribe colombiano. Magister Scientiae Biología - Línea Biología Marina.
- [239] MV Toro-Ibacache, G Manriquez-Soto, I Suazo-Galdames (2010) Morfometría geométrica y el estudio de las formas biológicas: de la morfología descriptiva a la morfología cuantitativa. *Int J Morphol* 28 (4):977-990.
- [240] IL Dryden, KV Mardia (1998) Statistical analysis of shape. John Wiley & Sons, New York p. 374.
- [241] DW Thompson (1917) *On growth and form*. Cambridge University Press p. 793.
- [242] FL Bookstein (1994) Can biometrical shape be a homologous character?, En: *Homology: the hierarchical basis of comparative biology* (Ed: BK Hall) Academic Press, San Diego, p. 197-227.
- [243] N MacLeod (1999) Generalizing and extending the eigenshape method of shape space visualization and analysis. *Paleobiology* 25:107-138.
- [244] M Zelditch, D Swiderski, DH Sheets, W Fink (2004) *Geometric Morphometrics for Biologists: a primer*. Elsevier Academic Press, New York and London.
- [245] F Giri, SJ de Paggi (2006) Geometric morphometric and biometric analysis for the systematic elucidation of *Brachionus caudatus* Barrois and Daday, 1894 (Rotifera Monogononta Brachionidae) forms. *Zoo Anz* 244:171-180.
- [246] MA Davis, MR Douglas, ML Collyer, ME Douglas (2016) Deconstructing a species-complex: geometric morphometric and molecular analyses define species in the Western Rattlesnake (*Crotalus viridis*). *PloS One* 11 (1).
- [247] SX Cadrin (2000) Advances in morphometric identification of fishery stocks. *Rev Fish Biol Fish* 10 (1):91-112.

- [248] F Giri, A Loy (2008) Size and shape variation of two freshwater crabs in Argentinean Patagonia: the influence of sexual dimorphism, habitat, and species interactions. *J Crustac Biol* 28 (1):37-45.
- [249] EM Barría, RD Sepúlveda, CG Jara (2011) Morphologic variation in *Aegla* Leach (Decapoda: Reptantia: Aeglidae) from central-southern Chile: interspecific differences, sexual dimorphism, and spatial segregation. *J Crustac Biol* 31 (2):231-239.
- [250] LU Hepp, R Fornel, RM Restello, A Trevisan, S Santos (2012) Intraspecific morphological variation in a freshwater crustacean *Aegla plana* in southern Brazil: effects of geographical isolation on carapace shape. *J Crustac Biol* 32:511-518.
- [251] AB Marchiori, R Fornel, S Santos (2015) Morphometric variation in allopatric populations of *Aegla platensis* (Crustacea: Decapoda: Anomura): possible evidence for cryptic speciation. *Zoomorphology* 134:45-53.
- [252] R Metri, AR de Oliveira, C Baptista-Metri (2016) Carapace shape of some aeglid crabs: plasticity at different levels. *Lat Am J Aquat Res* 44 (3).
- [253] HJ Boos, D da Silva-Castiglioni, K Schacht, L Buckup, G Bond-Buckup (2006) Growth of *Aegla jaraí* Bond-Buckup & Buckup (Crustacea, Anomura, Aeglidae). *Rev Bras Zool* 23 (2):490-496.
- [254] BG Stevens (2012) Growth of juvenile red king crabs, *Paralithodes camtschaticus*, through sequential molts in the laboratory. *J Crustac Biol* 32 (2):215-222.
- [255] M Rufino, P Abelló, AB Yule (2004) The effect of alcohol and freezing preservation on carapace size and shape in *Liocarcinus depurator* (Crustacea, Brachyura), En: *Morphometrics—applications in biology and paleontology* (Ed: AMT Elewa) Springer, p.45-53.
- [256] FJ Rohlf, D Slice (1990) Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Syst Biol* 39 (1):40-59.
- [257] L Marcus, E Hingst-Zaher, H Zaher (2000) Application of landmark morphometrics to skulls representing the orders of living mammals. *Hystrix Ital J Mammal* 11:27-47.

- [258] CP Klingenberg, GS McIntyre (1998) Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. *Evolution* 52:1363-1375.
- [259] CP Klingenberg, M Barluenga, A Meyer (2002) Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. *Evolution* 56:1909-1920.
- [260] CP Klingenberg (2015) Analyzing fluctuating asymmetry with geometric morphometrics: concepts, methods, and applications. *Symmetry* 7:843-934.
- [261] CP Klingenberg (2011) MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Mol Ecol Resour* 11:353-357.
- [262] A Cardini, P O'Higgins (2004) Patterns of morphological evolution in Marmota (Rodentia, Sciuridae): geometric morphometrics of the cranium in the context of marmot phylogeny, ecology and conservation. *Biol J Linn Soc* 82:385-407.
- [263] FJ Rohlf (2008) *tpsUtil*, versión 1.40. Department of Ecology and Evolution, State University of New York (SUNY) Stony Brook.
- [264] FJ Rohlf (2007) *tpsRelw*, versión 1.45. Department of Ecology y Evolution, State University of New York (SUNY) Stony Brook.
- [265] FL Bookstein (1990) Introduction to methods for landmark data, En: *Proceedings of the Michigan morphometrics workshop* (Ed: FJ Rohlf, Bookstein) Special publication number 2: 215-225.
- [266] MV Torres, F Giri, P A Collins (2014) Geometric morphometric analysis of the freshwater prawn *Macrobrachium borellii* (Decapoda: Palaemonidae) at a microgeographical scale in a floodplain system. *Ecol Res* 29:959-968.
- [267] FJ Rohlf (2004) *tpsDig*, versión 1.40. Department of Ecology and Evolution, State University of New York (SUNY) Stony Brook.
- [268] FJ Rohlf (2010) *tpsDig2*, versión 2.16. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, 2010.

- [269] FJ Rohlf (2007) *tpsRegr*, version 1.34. Department of Ecology y Evolution, State University of New York (SUNY) Stony Brook.
- [270] R Development Core Team (2008) R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria <http://www.R-project.org>.
- [271] V Williner, P Collins (2000) ¿ Existe Jerarquización en Poblaciones de Palemónidos del Valle Aluvial del Río Paraná?. *Natura Neotropicalis* 31(1-2):53-60.
- [272] CL Lee, DR Fielder (1983) Postlarval growth of the freshwater prawn, *Macrobrachium australiense* Holthuis, 1950 (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). *Aquaculture* 30:63-70.
- [273] AC Díaz, AM Petriella (1988) Estudio del crecimiento del langostino *Pleoticus muelleri*. *Rev Latinoam Acuic* 35:6-12.
- [274] G Bond-Buckup, AA Bueno, KA Keunecke (1996) The first juvenil stage of *Aegla prado* Schmitt (Crustacea, Decapoda, Anomura, Aeglidae). *Rev Bras Zool* 13:1049-1061.
- [275] AAP Bueno (1996) Os estágios juvenis iniciais de *Aegla violacea* Bond-Buckup & Buckup (Crustacea, Anomura, Aeglidae). *Nauplius*, 4:39-47.
- [276] CG Jara (1991) *Aegla Pewencha*, a new specie of central chilean freshwater decapod (Crustacea: Anomura: Aeglidae). *Proc Biol Soc Wash* 107:325-339.
- [277] R Ringuelet (1984) Los “cangrejos” argentinos del género *Aegla* de Cuyo y la Patagonia. *Rev Mus Plata* (N.S), *Zoología* 5 (34):297-347.
- [278] CG Jara, (1980) Dos nuevas especies de *Aegla* Leach (Crustacea, Decapoda, Anomura) del sistema hidrográfico del río Valdivia. *An Mus Hist Nat* 13:255-266.
- [279] PA Collins (1996) Ablación unilateral en el camarón de agua dulce *Macrobrachium borellii*, En: *Acuicultura en Latinoamérica. IX Congreso latinoamericano de acuicultura. 2° Simposio Avances y Perspectivas de la Acuicultura en Chile*, p. 131-135.

- [280] M Ibarra, PM Arana (2011) Crecimiento del camarón excavador *Parastacus pugnax* (Poeppig, 1835) determinado mediante técnica de marcaje. *Lat Am J Aquat Res* 39 (2):378-384.
- [281] M Schuldt, MC Damborenea (1989) Infección de *Palaemonetes argentinus* (Crustacea Palaemonidae) con *Probopyrus* cf. *oviformis* (Crustacea Bopyridae) en el canal Villa Elisa (Selva marginal de Punta Lara, Provincia de Buenos Aires, Argentina) I. Estructura poblacional del consorcio, interacción y fluctuación. *Biota* 5:21-53.
- [282] F Sardà (1983) Determinación de los estados de intermuda en *Nephrops norvegicus* (L.), mediante la observación de los pleópodos. *Investig Pesq* 47 (1):95-112.
- [283] F Vega-Villasante, E Cortés-Jacinto, M García-Guerrero (2007) Contribution to the knowledge of moulting and growth of *Callinectes arcuatus* Ordway, 1863 (Brachyura, Portunidae) in Baja California Sur, Mexico. *Crustaceana* 80 (7):769-778.
- [284] SE Sultan, HG Spencer (2002) Metapopulation structure favors plasticity over local adaptation. *Am Nat* 160:271-283.
- [285] RA Ringuelet (1949) Consideraciones sobre las relaciones filogen éticas entre las especies del género *Aegla* Leach (Decápodos, Anomuros). *Notas Mus Plata Zool* 14 (120):111-118.
- [286] RW Hill, GA Wyse, M Anderson (2012) *Animal Physiology*, 3rd edition. Sinauer Associates, Sunderland.
- [287] E Díaz-Iglesias, F Díaz-Herrera, AD Re-Araujo, M Báez-Hidalgo, M López-Zenteno, G Valdés-Sánchez, AK López-Murillo (2004) Temperature preference and circadian oxygen consumption of the red spiny lobster, *Panulirus interruptus* (Randall, 1842). *Cienc Mar* 30 (1B):169-178.
- [288] M Daoud, L Tamine, M Boughanem, B Chebaro (2007) Learning implicit user interests using ontology and search history for personalization, En: *International Conference on Web Information Systems Engineering*, Springer, Berlin, Heidelberg, p. 325-336.
- [289] D Chabot, JF Steffensen, AP Farrell (2016) The determination of standard metabolic rate in fishes: measuring smr in fishes. *J Fish Biol* 88 (1):81-121.

- [290] PJ Rosewarne, JM Wilson, JC Svendsen (2016) Measuring maximum and standard metabolic rates using intermittent-flow respirometry: a student laboratory investigation of aerobic metabolic scope and environmental hypoxia in aquatic breathers. *J Fish Biol* 88 (1): 265-283.
- [291] CA Radford, ID Marsden, W Davison (2004) Temporal variation in the specific dynamic action of juvenile New Zealand rock lobsters, *Jasus edwardsii*. *Comp Biochem Physiol* 139:1-9.
- [292] SR Doyle, FR Momo (2009) Effects of body weight and temperature on the metabolic rate of *Hyalella curvispina* Shoemaker, 1942 (Amphipoda). *Crustaceana* 82:1423-1439.
- [293] AJ Hulbert, PL Else (2004) Basal metabolic rate: history, composition, regulation, and usefulness. *Physiol Biochem Zool* 77:869-876.
- [294] CR White, NG Schimpf, P Cassey (2013) The repeatability of metabolic rate declines with time. *J Exp Biol* 216:1763-1765.
- [295] V Careau, ME Gifford, PA Biro (2014) Individual (co) variation in thermal reaction norms of standard and maximal metabolic rates in wild-caught slimy salamanders. *Funct Ecol* 28:1175-1186.
- [296] JC Valverde, MD Hernández, F Aguado-Giménez, B García García (2009) Oxygen consumption in spider crab (*Maja brachydactyla*): Effect of weight, temperature, sex, feeding and daily light–dark cycle. *Aquaculture* 298 (1-2): 131-138.
- [297] D Tomalá, J Chavarría, BE Escobar (2014) Evaluación de la tasa de consumo de oxígeno de *Colossoma macropomum* en relación al peso corporal y temperatura del agua. *Lat Am J Aquat Res* 42 (5):971-979.
- [298] F Gándara (2003) Efecto de diversos factores sobre el consumo de oxígeno de juveniles de seriola (*Seriola dumerili* Risso, 1810) en condiciones de cultivo. Tesis Doctoral, Universidad de Murcia, Instituto Español de Oceanografía.
- [299] C Nerici, G Merino, A Silva (2012) Effects of two temperatures on the oxygen consumption rates of *Seriola violacea* (palm fish) juveniles under rearing conditions. *Aquac Eng* 48:40-46.

- [300] B Salvato, V Cuomo, P Di Muro, M Beltramini (2001) Effects of environmental parameters on the oxygen consumption of four marine invertebrates: a comparative factorial study. *Mar Biol* 138:659-668.
- [301] SR Narum, NR Campbell, KA Meyer, MR Miller, RW Hardy (2013) Thermal adaptation and acclimation of ectotherms from differing aquatic climates. *Mol Ecol* 22 (11): 3090-3097.
- [302] AF Bennett (1980) The thermal dependence of lizard behaviour. *Anim Behav* 28: 752-762.
- [303] D Schluter (2000) The ecology of adaptive radiation. Oxford University Press, Oxford.
- [304] RF Nespolo (2000) Desempeño fisiológico, estacionalidad y plasticidad fenotípica en pequeños mamíferos: microevolución de la capacidad de cambio en rasgos termorregulatorios. *Rev Chil Hist Nat* 73 (3):553-563.
- [305] MJ Angilletta (2009) Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis. Oxford University Press.
- [306] RB Huey, D Berrigan (1996) Testing evolutionary hypotheses of acclimation, En: *Animals and temperature: Phenotypic and evolutionary adaptation* (Ed: IA Johnson, AF Bennett) U. Press. Great Britain 59:205-237.
- [307] SM Scheiner (1993) Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annu Rev Ecol Syst* 24 (1):35-68.
- [308] CD Schlichting, M Pigliucci (1998) *Phenotypic evolution: a reaction norm perspective*. Sinauer Associates Incorporated.
- [309] M Pigliucci (2001) Phenotypic plasticity: beyond nature and nurture. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- [310] G De Jong (1990) Quantitative genetics of reaction norms. *J Evol Biol* 3:447-468.
- [311] TJ DeWitt, SM Scheiner (2004) Phenotypic plasticity: functional and conceptual approaches. Oxford University Press, USA.

- [312] M Petit, F Vézina (2014) Reaction norms in natural conditions: how does metabolic performance respond to weather variations in a small endotherm facing cold environments?. *PloS One* 9 (11)e113617.
- [313] JE Brommer (2013) Phenotypic plasticity of labile traits in the wild. *Curr Zool* 59:485-505.
- [314] A Charmantier, RH McCleery, LR Cole, C Perrins, LE Kruuk, BC Sheldon (2008) Adaptive phenotypic plasticity in response to climate change in a wild bird population. *Science* 320:800-803.
- [315] DH Nussey, AJ Wilson, JE Brommer (2007) The evolutionary ecology of individual phenotypic plasticity in wild populations. *J Evol Biol* 20:831-844.
- [316] AE McKechnie (2008) Phenotypic flexibility in basal metabolic rate and the changing view of avian physiological diversity: a review. *J Comp Physiol* 178:235-247.
- [317] EC Lopretto (1995) Crustacea eumalacostraca. *Ecosistemas de aguas Continentales* Vol. 3, p.1001-1039.
- [318] H Pörtner (2001) Climate change and temperature-dependent biogeography: oxygen limitation of thermal tolerance in animals. *Naturwissenschaften* 88 (4):137-146.
- [319] NA Fangue, M Hofmeister, PM Schulte (2006) Intraspecific variation in thermal tolerance and heat shock protein gene expression in common killifish, *Fundulus heteroclitus*. *J Exp Biol* 209 (15):2859-2872.
- [320] MA Lardies, JL Muñoz, KA Paschke, F Bozinovic (2011) Latitudinal variation in the aerial/aquatic ratio of oxygen consumption of a supratidal high rocky-shore crab: Latitudinal variation in crab metabolism. *Mar Ecol* 32 (1):42-51.
- [321] JD Gaitán-Espitia, M Belén Arias, MA Lardies, RF Nespolo (2013) Variation in Thermal Sensitivity and Thermal Tolerances in an Invasive Species across a Climatic Gradient: Lessons from the Land Snail *Cornu aspersum*. *PLoS ONE* 8 (8)e70662.
- [322] JD Gaitán-Espitia, LD Bacigalupe, T Opitz, NA Lagos, T Timmermann, MA Lardies (2014) Geographic variation in thermal physiological performance of the intertidal crab *Petrolisthes violaceus* along a latitudinal gradient. *J Exp Biol* 217 (24): 4379-4386.

- [323] MA Lardies, LD Bacigalupe, F Bozinovic (2004) Testing the metabolic cold adaptation hypothesis. *Evol Ecol Res* 6 (4):567-578.
- [324] TH Waterman (1960) The physiology of crustacea, metabolism and growth, Vol I. Academic Press, New York.
- [325] M Almerão, G Bond-Buckup, y MS Mendonça (2010) Mating behavior of *Aegla platensis* (Crustacea, Anomura, Aeglidae) under laboratory conditions *Japan Ethological Society and Springer* 28:87-94.
- [326] F Mizera, G Meszéna (2003) Spatial niche packing, character displacement and adaptive speciation along an environmental gradient. *Evol Ecol Res* 5:362-382.
- [327] N Myers, RA Mittermeier, CG Mittermeier, GA Da Fonseca, J Kent (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853-858.
- [328] VP Diawol, PA Collins (2012) Caracterización de los estadios del ciclo de muda del pseudocangrejo dulceacuicola *Aegla uruguayana* Schmitt, 1942 (Decapoda, Anomura) *Natura Neotropicalis* 43 (1-2):21-28.
- [329] MC Montagna, PA Collins (2008) Oxygen consumption and ammonia excretion of the freshwater crab *Trichodactylus borellianus* exposed to chlorpyrifos and endosulfan insecticides. *Pestic Biochem Physiol* 92:150-155.
- [330] D Bates, M Mächler, B Bolker, S Walker (2015) Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J Stat Softw* 67 (1):1-48.
- [331] J Fox, S Weisberg (2011) An R companion to applied regression, Second Edition. Thousand Oaks CA: Sage.
- [332] WN Venables, BD Ripley (2002) Modern Applied Statistics with S. Fourth Edition. Springer, New York.
- [333] CJ Monaco, KB Brokordt, CF Gaymer (2010) Latitudinal thermal gradient effect on the cost of living of the intertidal porcelain crab *Petrolisthes granulosus*. *Aquat Biol* 9 (1):23-33.
- [334] K Roy, KK Martien (2001) Latitudinal distribution of body size in north-eastern Pacific marine bivalves. *J Biogeogr* 28:485-493.

- [335] JFGillooly, SI Dodson (2000) Latitudinal patterns in the size distribution and seasonal dynamics of new world, freshwater cladocerans. *Limnol Oceanogr* 45:22-30.
- [336] D Pincheira-Donoso (2012) Selección y evolución adaptativa: fundamentos teóricos y empíricos desde la perspectiva de los lagartos. *Ediciones de la Universidad Católica de Chile*, Santiago de Chile.
- [337] TM Blackburn, KJ Gaston, N Loder (1999) Geographic gradients in body size: a clarification of Bergmann's rule. *Diversity and Distributions* 5:165-174.
- [338] WU Blanckenhorn, M Demont (2004) Bergmann and Converse Bergmann Latitudinal Clines in Arthropods: Two Ends of a Continuum?. *Integr Comp Biol* 44:413-424.
- [339] WA Van Voorhies (1996) Bergmann size clines: a simple explanation for their occurrence in ectotherms. *Evolution* 50:1259-1264.
- [340] D Atkinson, RM Sibly (1997) Why are organisms usually bigger in colder environments? Making sense of a life history puzzle. *Trends Ecol Evolut* 12:235-239.
- [341] G Chapelle, LS Peck (1999) Polar gigantism dictated by oxygen availability. *Nature* 399:114-115.
- [342] MJ Angilletta, RS Wilson, CA Navas, RS James (2003) Tradeoffs and the evolution of thermal reaction norms. *Trends Ecol Evolut* 18:234-240.
- [343] K Schmidt-Nielsen (1984) Scaling: why is animal size so important? Cambridge University Press.
- [344] TM Blackburn, KJ Gaston (1994) Animal body size distributions: patterns, mechanisms and implications. *Trends Ecol Evol* 9:471-474.
- [345] JH Connell (1961) The influence of interspecific competition and other factors on the distribution of the barnacle *Chthamalus stellatus*. *Ecology* 42:710-723.
- [346] RT Paine (1974) Intertidal community structure: experimental studies on the relationship between a dominant competitor and its principal predator. *Oecologia* 15 (2):93-120.
- [347] E. Sanford (2002) Water temperature, predation, and the neglected role of physiological rate effects in rocky intertidal communities. *Integr Comp Biol* 42:881-891.

- [348] K Berkenbusch, AA Rowden (2008) Latitudinal variation in the reproductive biology of the burrowing ghost shrimp *Callinassa filholi* (Decapoda: Thalassinidea). *Mar Biol* 136:497-507.
- [349] B Lindgren, A Laurila (2005) Proximate causes of adaptive growth rates: growth efficiency variation among latitudinal populations of *Rana temporaria*. *J Evol Biol* 18 (4):820-828.
- [350] JC Chen, FH Nan (1993) Changes of oxygen consumption and ammonia-N excretion by *Penaeus chinensis* Osbeck at different temperature and salinity levels. *J Crustac Biol* 13:706-712.
- [351] DH Jiang, AL Lawrence, WH Neill, H Gong (2000) Effects of temperature and salinity on nitrogenous excretion by *Litopenaeus vannamei* juveniles. *J Exp Mar Bio. Ecol* 253:193-209.
- [352] NM Inyang, EL Nwankwo (2004) Effects of temperature and pH on the oxygen consumption Rate of sudanonautes (*Convexonautes aubryi*) floweri (de man) (crustacea: decapoda). *Anim Res Int* 1 (1)16-22.
- [353] W Valenzuela-Quinónez, G Rodríguez-Quiroz, JT Ponce-Palafox, HM Esparza-Leal (2011) Efecto de diferentes combinaciones de temperatura y salinidad sobre el consumo específico de oxígeno en el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. *Rev Biol Mar Oceanogr* 46:306-311.
- [354] JT Ponce-Palafox, A Ruíz-Luna, M García-Ulloa, H Esparza-Leal, JL Arredondo-Figueroa, CA Martínez-Palacios, LG Ross (2013). A response-surface analysis of the relative importance of the temperature, salinity and body weight on the respiratory metabolism of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Mar Freshw Behav Phy* 46: 399-417.
- [355] C Zhang, F Li, J Xiang (2015) Effect of temperature on the standard metabolic rates of juvenile and adult *Exopalaemon carinicauda*. *Chin J Oceanol Limnol* 33 (2):381-388.
- [356] B McMahon, F Sinclair, CD Hassall, PRH Wilkes (1978) Ventilation and control of acid-base status during temperature acclimation in the crab, *Cancer magister*. *J Comp Physiol* 128 (2):109-116.

- [357] DL McCulloch (1990) Metabolic response of the grass shrimp *Palaemonetes kadiakensis* Rathbun, to acute exposure of sublethal changes in pH. *Aquat Toxicol* 17 (3): 263-274.
- [358] C Rosas, A Sanchez, E Escobar, L Soto, A Bolongaro-Crevenna (1992) Daily variations of oxygen consumption and glucose hemolymph level related to morphophysiological and ecological adaptations of crustacea. *Comp Biochem Physiol A Physiol* 101 (2):323-328.
- [359] Dejours P (1975) Principles of comparative respiratory physiology. Amsterdam: Elsevier/North-Holland.
- [360] DF Houlihan, AJ Innes (1984) The cost of walking in crabs: aerial and aquatic oxygen consumption during activity of two species of intertidal crab. *Comp Biochem Physiol A Physiol* 77:325-334.
- [361] T Ikeda (1985) Metabolic rates of epipelagic marine zooplankton as a function of body mass and temperature. *Mar Biol* 85:1-11.
- [362] FJ Vernberg (1959) Studies on the physiological variation between tropical and temperate zone fiddler crabs of the genus *Uca*. II. Oxygen consumption of whole organisms. *Biol Bull* 117:163-184.
- [363] NM Whiteley, EW Taylor, AJ El Haj (1977) Seasonal and latitudinal adaptation to temperature in crustaceans. *J Therm Biol* 22:419-427.
- [364] JD Gaitán-Espitia, LD Bacigalupe, T Opitz, NA Lagos, S Osoreo, MA Lardies (2017) Exploring physiological plasticity and local thermal adaptation in an intertidal crab along a latitudinal cline. *J Therm Biol* 68:14-20.
- [365] PJ Gutiérrez Yurrita, B Utrera, JR Jordá, Á Baltanás, C Montes (1994) Análisis preliminar de la tasa metabólica estándar en el cangrejo rojo, *Procambarus clarkii* (Decapoda: Cambaridae), en el Bajo Guadalquivir (S. España). *Limnética* 10:123-128.
- [366] E Senkman, V Williner, L Negro, N König, P Collins (2014) Fecundidad y consumo de oxígeno del cangrejo dulceacuícola *Trichodactylus borellianus* (Decapoda: Trichodactylidae) en el valle aluvial del Paraná Medio (Argentina). *Hidrobiológica* 24:287-296.

- [367] CE Laird, PA Haefner (1976) Effects of intrinsic and environmental factors on oxygen consumption in the blue crab, *Callinectes sapidus* (Rathbun). *J Exp Mar Biol Ecol* 22:171-178.
- [368] H Villarreal (1990) Effect of temperature on oxygen consumption and heart rate of the Australian crayfish *Cherax tenuimanus* (Smith). *Comp Biochem Physiol A Physiol* 95:189-193.
- [369] A Brante, M Fernández, L Eckerle, F Mark, H Pörtner, W Arntz (2003) Reproductive investment in the crab *Cancer setosus* along a latitudinal cline: egg production, embryo losses and embryo ventilation. *Mar Ecol Prog Ser* 251:221-232.
- [370] A Clarke, NM Johnston (1999) Scaling of metabolic rate with body mass and temperature in teleost fish. *J Anim Ecol* 68 (5):893-905.
- [371] JC Aldrich (1975) Individual variability in oxygen consumption rates of fed and starved *Cancer pagurus* and *Maia squinado*. *Comp Biochem Physiol A Physiol* 51 (1):175-183.
- [372] CK Ghalambor, JK McKay, SP Carroll, DN Reznick (2007) Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Funct Ecol* 21(3):394-407.
- [373] SJ Davies, MA McGeoch, S Clusella-Trullas (2015) Plasticity of thermal tolerance and metabolism but not water loss in an invasive reed frog. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 189:11-20.
- [374] FJ Vernberg (1962) Comparative physiology: latitudinal effects on physiological properties of animal populations. *Annu Rev Physiol* 24:517-546.
- [375] GN Somero (2002) Thermal physiology and vertical zonation of intertidal animals: optima, limits, and costs of living. *Integr Comp Biol* 42 (4):780-789.
- [376] IJ McGaw (2003) Behavioral thermoregulation in *Hemigrapsus nudus*, the amphibious purple shore crab. *Biol Bull* 204 (1):38-49.
- [377] BC Stitt, G Burness, KA Burgomaster, S Currie, JL McDermid, CC Wilson (2014) Intraspecific variation in thermal tolerance and acclimation capacity in brook trout

(*Salvelinus fontinalis*): physiological implications for climate change. *Physiol Biochem Zool* 87 (1):15-29.