

ANÁLISIS MORFOLÓGICO DE POBLACIONES DE *ORCHESTOIDEA TUBERCULATA* NICOLET, 1849 (CRUSTACEA: AMPHIPODA: TALITRIDAE) DEL SUR DE CHILE

Jorge Pérez-Schultheiss

Centro de Estudios en Biodiversidad (CEBCh), Magallanes 1979, Osorno. jperezsch@gmail.com

Resumen

Se presenta un análisis morfológico de poblaciones del anfípodo talítrido *Orchestoidea tuberculata* Nicolet, 1849, con el objeto de evaluar su variación morfológica interpoblacional y establecer caracteres diagnósticos que aporten a su diferenciación. Se estudiaron especímenes de cuatro playas de la Región de Los Lagos, en los cuales se midieron 55 variables morfológicas, que fueron estudiadas mediante análisis discriminante multivariado. Los resultados mostraron que este tipo de análisis permite la diferenciación de poblaciones de la especie y que la discriminación más efectiva se logró utilizando únicamente especímenes machos. La variación fenotípica observada podría estar asociada a características ambientales, especialmente en el caso de los machos, como también a la disponibilidad de alimento o la variabilidad genética particular de las distintas poblaciones. No obstante, es necesario efectuar nuevos estudios, especialmente de la estructura genética poblacional y los patrones filogeográficos de la especie, para determinar la naturaleza de las diferencias reportadas.

Palabras claves: *Orchestoidea tuberculata*, morfometría, poblaciones, Sur de Chile.

Morphologic analysis of populations of *Orchestoidea tuberculata* Nicolet, 1848 (Crustacea: Amphipoda: Talitridae) of Southern Chile.

Abstract

A morphological analysis of populations of the talitrid amphipod *Orchestoidea tuberculata* Nicolet, 1849 is presented in order to assess their interpopulational morphological variation and establish diagnostic characters that contribute to its differentiation. Specimens from 4 beaches in the Región de Los Lagos have been examined, in which 55 morphological variables were measured and studied by multivariate discriminant analysis. The results showed that this kind of analysis allows the differentiation of populations of the species and most effective discrimination was achieved by using only male specimens. The observed phenotypic variation could be associated with environmental features, especially in males, as well as food availability or particular genetic variability of different populations. However, further studies are needed, especially the population genetic structure and phylogeographic patterns of the species, to determine the nature of the differences here reported.

Keywords: *Orchestoidea tuberculata*, morphometry, populations, southern Chile.

Introducción

Las diferencias morfológicas que generalmente permiten discriminar entre especies son producto de la discontinuidad genética resultante del aislamiento en la reproducción y la interacción de esta información genotípica con el ambiente (Wcislo, 1989). Aunque se ha observado que el efecto de las variables ambientales locales puede, en una misma especie, dar origen a diversos grados de plasticidad fenotípica (Stearn, 1989), la variabilidad en el fenotipo proporciona una herramienta útil en estudios taxonómicos, pues generalmente es un indicador efectivo a nivel específico (Futuyma, 1998), aún importante a pesar de los nuevos métodos moleculares de discriminación de especies (Dunn, 2003).

Los anfípodos talítridos constituyen uno de los grupos más representativos de la fauna de comunidades costeras, ocupando diversos hábitats intermareales y supralitorales (Friend & Richardson, 1986; Morrit, 1998; Tsubokura *et al.*, 1998). Numerosos estudios han mostrado un alto grado de diferenciación interpoblacional en algunas especies de estos crustáceos, tanto genéticamente (De Matthaeis *et al.*, 1994, 1995, 1996, 1998, 2000a; Bulnheim & Scholl, 1986; Bulnheim & Schwenzer, 1999), como en aspectos de la historia de vida de las especies (Berglioli *et al.*, 1999; Elgtari *et al.*, 2000; Fanini *et al.*, 2005), sugiriendo que algunas características de las playas tendrían gran influencia en el fenotipo de las poblaciones de talítridos. Scapini *et al.* (1999) realizan un estudio de diferenciación morfológica de siete poblaciones de *T. saltator* del Mediterráneo y zonas adyacentes del Atlántico, utilizando cuatro variables (*i.e.* peso, longitud corporal, número de artículos de la segunda antena izquierda, número de artículos de la segunda antena derecha) y encontraron que las variaciones fenotípicas observadas podrían ser producto de adaptaciones a características específicas del hábitat (*e. g.* pendiente y orientación de la playa), como también de la deriva genética producto del aislamiento geográfico. Henzler & Ingólfsson (2007) estudian poblaciones noratlánticas de *Orchestia gammarellus* (Pallas), utilizando información morfológica y genética; sin embargo, encontraron escasa diferenciación, debido probablemente a una conexión relativamente reciente entre las poblaciones. De acuerdo a lo anterior, es importante señalar que los patrones de variación observados en estos estudios pueden ser producto de distintos procesos cuya acción afecta la frecuencia genética de las poblaciones (*e. g.* flujo génico, deriva génica, selección natural, etc.) o actúa únicamente a nivel del fenotipo (*e. g.* plasticidad fenotípica).

En Chile, la pulga de arena *Orchestoidea tuberculata* Nicolet, 1849, se distribuye desde Antofagasta (23°38' S; 70°25' W) a Quellón Viejo (43°07' S; 73°37' W) (Jaramillo, 1987; Jaramillo *et al.*, 1998; González, 1991), con un reporte aislado en la localidad de Mejía, Perú (Bousfield, 1982). Esta especie habita la zona supralitoral y los niveles superiores y medios de la zona mesolitoral, donde preferentemente permanece enterrada (Varela, 1983), para evitar la exposición a las condiciones ambientales extremadamente dinámicas que caracterizan estos ambientes costeros (Brown & McLachlan, 1990; Tsubokura *et al.*, 1997). *O. tuberculata* ha sido incluida en numerosos estudios ecológicos, donde se analiza su distribución, abundancia (Brazeiro *et al.*, 1998; Jaramillo, 1987; Jaramillo *et al.*, 2000), características de historia de vida (Contreras *et al.*, 2003; Duarte *et al.*, 2009) y hábitos de orientación en la superficie de playas (Scapini & Dugan, 2008). Estos trabajos muestran la presencia de variabilidad intra e interpoblacional en esta especie. Sin embargo, en la actualidad no existen estudios relacionados con la variabilidad de las poblaciones desde el punto de vista morfológico.

En este trabajo se caracterizó morfológicamente cuatro poblaciones de *O. tuberculata* de la Región de Los Lagos, mediante análisis discriminante multivariado, con el propósito de evaluar el grado de diferenciación fenotípica interpoblacional y establecer variables morfológicas diagnósticas para poblaciones de la especie, información básica que puede ser de utilidad en futuros análisis de su biología y taxonomía a lo largo de su distribución geográfica.

Material y métodos

Los especímenes fueron colectados en cuatro playas de la Región de Los Lagos: Tril-Tril ($41^{\circ}36' S$; $73^{\circ}45' W$), Pangal ($41^{\circ}37' S$; $73^{\circ}39' W$), Mar Brava ($41^{\circ}44' S$; $73^{\circ}43' W$) y Carelmapu ($41^{\circ}44' S$; $73^{\circ}41' W$) (Figura 1).

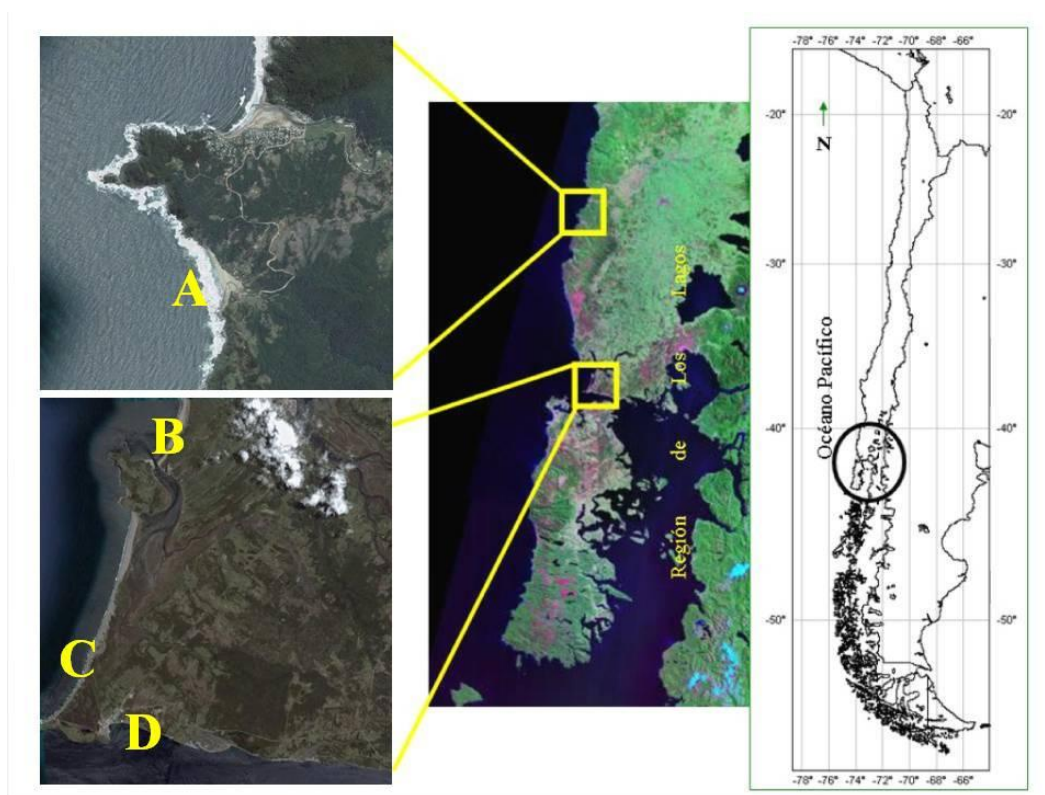


Figura 1. Ubicación geográfica de las playas estudiadas. A: Tril-Tril, B: Pangal, C: Mar Brava y D: Carelmapu.

Se usaron 30 individuos adultos (Fig. 2) de cada localidad, obtenidos en forma manual mientras permanecían enterrados en la zona supramareal de playas arenosas, desde la altura máxima alcanzada por las olas en el momento de la recolección hasta el límite superior de la playa. Los especímenes fueron fijados en alcohol al 70% en el mismo lugar de recolección y luego de 48 horas se cambiaron nuevamente a alcohol 70% para su conservación definitiva y análisis posterior. La discriminación de sexos siguió a Lecroy (2000), quien reconoce los machos adultos

por la presencia de papilas fálicas en el esterno del séptimo pereionito y las hembras por la presencia de oostegitos con setas marginales.

Se midieron un total de 55 variables morfológicas en cada individuo (Tabla 1) usando un microscopio estereoscópico provisto de ocular micrométrico. Se realizó un análisis discriminante multivariado, utilizando como factor de agrupación la localidad de origen de cada espécimen. Se consideró para seleccionar las variables que más contribuyen a la diferenciación un coeficiente discriminante $\geq 0,5$. Los análisis fueron realizados con el programa computacional STATISTICA versión 6.0 (Statsoft, Inc.).

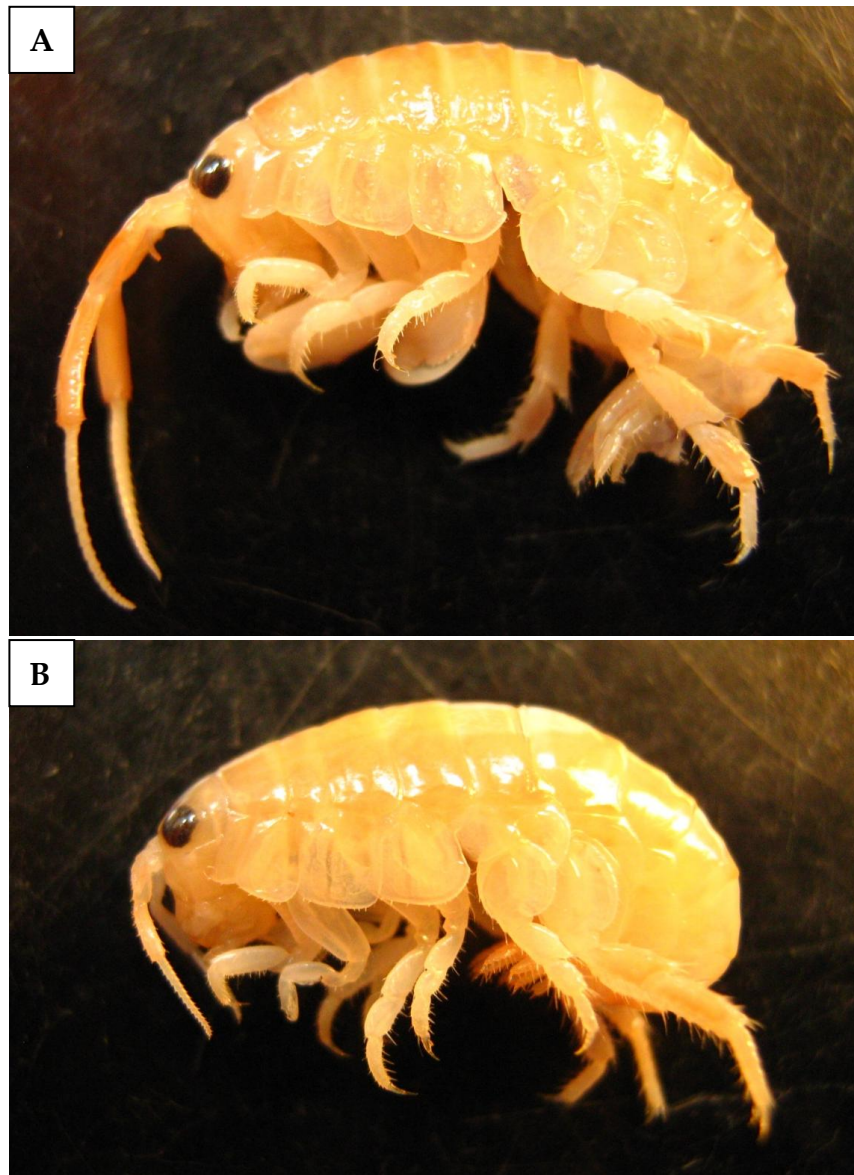


Figura 2. Habito de especímenes adultos de *Orchestoidea tuberculata* Nicolet, 1849. A. macho (LT: 22,97 mm); B. hembra (LT: 20,74 mm).

Tabla 1. Medidas morfológicas realizadas en *O. tuberculata*.

Sigla	Medida	Procedimiento
LT	Longitud total	según técnica recomendada por Barnard & Drummond (1978) y Barnard & Karaman (1991), dibujando con cámara clara una línea desde el rostro a la base del telson y luego transformarla a mm
LC	Longitud cabeza	en vista lateral, dorsalmente desde el borde anterior de la zona rostral hasta la unión del borde posterior de la cabeza con el 1º pereonito.
AC	Ancho cabeza	en vista dorsal, la distancia máxima entre los bordes laterales de la cabeza.
HC	Altura cabeza	en vista lateral, desde la unión del borde posterior de la cabeza con el 1º pereonito hasta el vértice del ángulo anteroventral de la mejilla.
LOI, HOI, LOD, HOD	Altura y ancho ocular	en vista lateral, longitud máxima en el eje vertical y horizontal respectivamente. Medidas en ambos ojos.
DI	Distancia interocular	en vista dorsal, distancia mínima entre los márgenes dorsales de los ojos.
DPR	Distancia preocular	en vista lateral, distancia mínima entre el margen anterior del ojo y el borde anterior de la cabeza.
DS	Distancia supraocular	en vista lateral, distancia mínima entre el margen antero-dorsal del ojo y el borde frontal de la cabeza.
DSU	Distancia subocular	en vista lateral, distancia entre el margen inferior del ojo y el vértice del ángulo antero-ventral de la mejilla.
DP	Distancia postocular	en vista lateral, distancia entre el margen posterior del ojo y la unión del borde posterior de la cabeza, 1º pereonito y 1º coxa.
LA1, LA2, LA3	Longitud artículo 1º, 2º y 3º antena 1	en vista dorsal, distancia máxima entre el extremo proximal y distal del artículo correspondiente
LFA	Longitud flagelo antena 1	en vista dorsal, distancia entre los extremos proximal y distal del flagelo
L32, L42, L52	Longitud artículo 3º, 4º y 5º antena 2	en vista lateral, distancia máxima entre los extremos proximal y distal de cada artículo
A32, A42, A52	Ancho artículo 3º, 4º y 5º antena 2	en vista lateral, distancia transversal máxima de cada artículo
LF2	Longitud flagelo antena 2	en vista lateral, distancia entre los extremos proximal y distal del flagelo
LP1-LP7	Longitud pereonitos 1º - 7º	en vista dorsal, distancia máxima entre el margen anterior en eje longitudinal de cada pereonito.
API-AP7	Ancho pereonitos 1º - 7º	en vista dorsal, distancia máxima entre los bordes laterales de cada pereonito.
LG2	Longitud artículo 2º gnatópodo 2	en vista lateral interna, longitud máxima entre el borde proximal y distal
AG2	Ancho artículo 2º gnatópodo 2	en vista lateral externa, distancia máxima entre los bordes anterior y posterior
LG3	Longitud artículo 3º gnatópodo 2	en vista lateral externa, distancia máxima entre los extremos proximal y distal del borde posterior

Tabla 1. Continuación.

Sigla	Medida	Procedimiento
AG3	Ancho artículo 3º gnatópodo 2	en vista lateral interna, distancia máxima entre los bordes anterior y posterior
LG4	Longitud artículo 4º gnatópodo 2	en vista lateral interna, distancia máxima longitudinal medida desde el extremo proximal del borde posterior hasta el ápice del lóbulo distal del artículo
AG4	Ancho artículo 4º gnatópodo 2	en vista lateral externa, distancia máxima transversal entre el borde posterior y el margen que limita con el artículo 5º
LG5	Longitud artículo 5º gnatópodo 2	en vista lateral externa, distancia máxima entre los extremos proximal y distal del borde posterior del artículo. En hembras medido en el borde anterior
AG5	Ancho artículo 5º gnatópodo 2	en vista lateral externa, distancia máxima entre el vértice formado por el ángulo de la unión del borde posterior del artículo 5º con el margen posterior del artículo 6º y el extremo distal del margen anterior del artículo 5º. En hembras, distancia máxima entre los bordes anterior y posterior del artículo
HG6	Altura artículo 6º gnatópodo 2	en vista lateral externa, distancia máxima transversal entre el vértice del ángulo borde posterior – palma y el borde anterior. En hembras, distancia máxima transversal entre los bordes anterior y posterior
PG2	Longitud palma gnatópodo 2	en vista lateral interna, distancia entre el ángulo borde posterior – palma y el borde posterior de la base del dácilo. Medida no aplicable en hembras
BP2	Longitud borde posterior artículo 6º gnatópodo 2	en vista lateral externa, distancia entre el extremo proximal del artículo 6º y el ángulo borde posterior–palma. En hembras, distancia entre el extremo proximal y distal del artículo 6º
BA2	Longitud borde anterior artículo 6º gnatópodo 2	en vista lateral externa, distancia entre los extremos proximal y distal del borde anterior del artículo 6º
LD	Longitud dácilo gnatópodo 2	en vista lateral, distancia máxima entre los extremos proximal y distal del artículo 7º. Medida no aplicable en hembras
AD	Ancho máximo dácilo gnatópodo 2	en vista lateral, distancia máxima entre los bordes anterior y posterior del artículo 7º en la zona donde aparece una prominencia que calza en la escotadura de la palma . Medida no aplicable en hembras
PL1-PL3	Longitud pleonito 1, 2 y 3	en vista lateral, distancia máxima medida entre el margen anterior y posterior del borde dorsal del somito correspondiente
LTE	Longitud telson	en vista dorsal, distancia máxima longitudinal desde la base al extremo distal del apéndice
ATE	Ancho telson	en vista dorsal, distancia máxima transversal desde la base al extremo distal del apéndice

Resultados

Análisis sin distinción de sexos: Al considerar todos los especímenes sin distinción de sexo, el análisis permitió explicar un 95% de la variación entre las poblaciones con las primeras dos

Morfometría *Orchestoidea tuberculata*

funciones discriminantes. La primera función explicó un 83% ($p < 0,001$) de la variación asociada a la longitud total (LT), la cabeza (DPR, HC y LA2), pereión (LP6, LP1, LP3 y AP7) y gnatópodo (L52, LG2, BA2 y L42). La segunda función discriminante explicó un 12% ($p < 0,001$) de la variabilidad total con mayores coeficientes discriminantes asociados a las variables LFA, A32, PL3 y PL1 (Tabla 2).

Tabla 2. Coeficientes estandarizados de las tres funciones discriminantes obtenidas en el análisis morfológico de *O. tuberculata*.

	Función 1	Función 2	Función 3
DPR	-0,56034	0,13326	-0,15417
AG2	-0,26018	-0,37209	0,07543
HC	-0,53527	-0,09312	-0,43075
LFA	0,49143	1,17644	0,74901
LP6	-1,05968	0,44836	0,30812
LT	0,86773	-0,59934	-0,09512
L52	3,81701	-4,25588	-0,53124
AP2	-0,13894	-0,07329	1,10347
A32	-0,36912	1,21507	-0,96614
LG2	-1,01931	-0,95485	0,20046
LP5	0,24601	-0,38357	-0,21205
LTE	-0,02995	0,14150	-0,26886
DP	0,28820	-0,46752	0,01656
PL3	-0,03985	0,67632	0,31981
PL1	0,05539	-0,54384	-0,52611
BA2	-1,48211	0,69925	0,57139
AG4	0,10804	0,52777	-0,33058
L42	0,91836	0,68167	-1,82257
DSU	-0,13234	0,42477	1,07815
AP1	-0,34041	0,14256	-0,86958
LG3	-0,19699	0,09520	-0,68938
BP2	0,22611	0,38167	0,90251
ATE	-0,35342	0,10153	-0,10031
LP4	0,39180	-0,08661	-0,13354
LP2	-0,40897	0,38870	0,64801
AP5	-0,07092	0,32050	0,46521
HOY	0,17617	0,07319	-0,49704
AP3	0,17478	0,10924	-0,30255
LP1	-0,52556	0,20414	0,28154
LP3	0,56263	-0,03772	0,03001
AP7	-0,72294	-0,30268	0,25387
LA2	-1,01713	0,00138	1,48876
LA1	0,41361	0,32533	-0,79756
LC	-0,00644	-0,19957	-0,40110
Eigenvalue	13,69958	1,96387	0,66187
%	83,916	95,946	100,000

Asimismo, se observó que Tril Tril se diferencia claramente de las demás poblaciones, como fue corroborado a través del cálculo de la distancia de Mahalanobis², cuyos valores fueron siempre >70 con respecto a las otras tres poblaciones (Tabla 3). Lo anterior se ve reflejado en la matriz de clasificación, donde únicamente los especímenes de Tril Tril fueron correctamente clasificados en un 100% (Tabla 4), patrón confirmado al analizar la representación gráfica de las primeras dos funciones discriminantes (Figura 3). De igual manera, la comparación entre la distancia geográfica en km y la distancia de Mahalanobis² mostró una alta correlación (Figura 4), lo que puede constituir un indicador relativo del grado de influencia ambiental en la diferenciación morfológica de cada una de las poblaciones.

Tabla 3. Matriz de distancias de Mahalanobis² de las cuatro poblaciones de *O. tuberculata*, sin distinción de sexos.

	Tril Tril	Caremapu	Pangal	Mar Brava
Tril Tril	0,00000	76,06316	82,39889	70,44786
Caremapu	76,06316	0,00000	13,89678	12,58731
Pangal	82,39889	13,89678	0,00000	5,81103
Mar Brava	70,44786	12,58731	5,81103	0,00000

Tabla 4. Matriz de clasificación de los especímenes de *O. tuberculata*, sin distinción de sexos.

	%	Tril Tril	Caremapu	Pangal	Mar Brava
Tril Tril	100,0000	30	0	0	0
Caremapu	96,6667	0	29	1	0
Pangal	86,6667	0	0	26	4
Mar Brava	86,6667	0	1	3	26
Total	92,5000	30	30	30	30

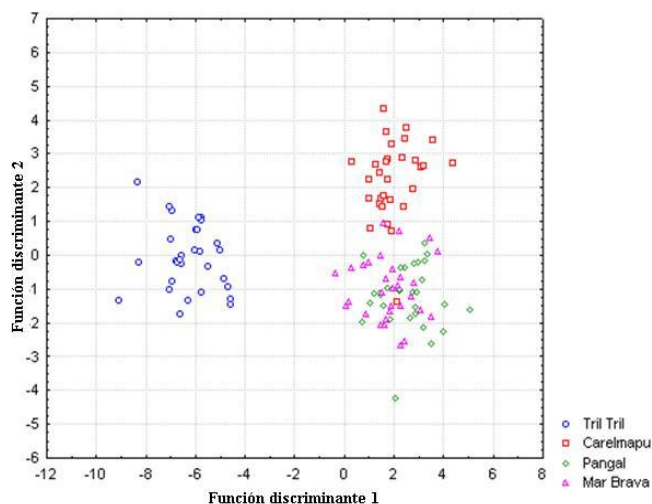


Figura 3. Representación gráfica de las primeras dos funciones discriminantes obtenidas, sin distinción de sexos.

Morfometría *Orchestoidea tuberculata*

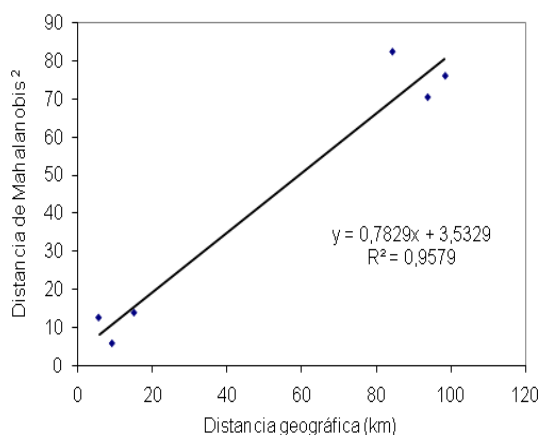


Figura 4. Regresión lineal entre la distancia geográfica y la distancia de Mahalanobis² de las cuatro poblaciones de *O. tuberculata*, sin distinción de sexos.

Tabla 5. Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes obtenidas en machos.

	Función 1	Función 2	Función 3
LP4	0,41552	0,51955	-0,05799
LTE	-0,42719	-0,98501	1,21767
DPR	-0,71788	0,02250	-0,84480
AP1	-0,43059	0,91775	0,24355
LA1	0,29019	-0,51387	-0,01934
LG2	-0,58127	2,19725	-0,90762
L52	1,14853	-0,12852	0,14072
A32	-1,19714	-0,78234	1,84465
LP6	-0,49388	0,22828	-1,47170
LC	-0,03927	-0,28197	0,26518
DSU	0,72252	-0,28414	-1,13038
AD	0,28236	-1,41732	-1,01270
LT	0,59290	0,93389	1,33755
LP1	-0,15356	-1,33507	-1,44140
HC	0,10781	-1,18597	0,23605
PL1	0,22115	1,89203	-0,11267
LA3	0,26231	-0,55907	0,69309
HOD	0,34494	0,46345	0,58951
BA2	-0,35676	0,44186	-0,53437
LP7	-0,23711	-0,89989	1,15513
AP7	-0,00298	-0,86942	-3,82774
AP5	-0,05355	-2,05084	2,05367
PG2	0,08248	1,82641	-2,51836
LFA	-0,37593	-1,47663	-1,94389
BP2	-0,06163	-1,58434	-1,53311
LD	-0,33368	0,50482	2,11897
A42	-0,13887	-0,39320	-1,66593
HG6	-0,97772	0,08291	1,86879
LP2	-0,65904	0,19323	0,63691
L42	1,00979	1,29864	1,06829
AP6	0,09569	2,29075	1,42162
PL3	-0,13364	-0,60142	0,28826
Eigenvalue	20,77684	12,77259	3,24040
%	56,474	91,192	100,000

de la región cefálica (DPR, A32, L52, L42 y DSU), gnatópodo (LG2 y HG6) y la longitud total (LT). La segunda función, que explica un 35% ($p < 0,001$) de la variabilidad total, presenta los más altos coeficientes discriminantes en 13 variables de la región cefálica (LA1, HC y LFA), del pereión (LP4, AP1, LP1, AP5 y AP6), del gnatópodo (PG2, BP2 y AD), del pleón (PL1) y telson (LTE) (Tabla 5).

Los especímenes de Tril Tril y Carelmapu se diferencian fácilmente, con una distancia de Mahalanobis² de 140,9. Por el contrario, las poblaciones de Pangal y Mar Brava se muestran más similares entre sí, como lo indica la distancia de Mahalanobis² de 26,5 (Tabla 6). De igual modo, los resultados que se presentan en la matriz de clasificación de los especímenes incluidos en el análisis, muestran que sólo un individuo perteneciente a la población de Mar Brava fue asignado a la población de Pangal (Tabla 7). El patrón observado es confirmado por la representación gráfica de las primeras dos funciones discriminantes que se presenta en la Figura 5. La comparación entre la distancia geográfica y la distancia de Mahalanobis² se presenta en la Figura 6.

Tabla 6. Matriz de distancias de Mahalanobis² de machos de cuatro poblaciones de *O. tuberculata*.

	Tril Tril	Carelmapu	Pangal	Mar Brava
Tril Tril	0,0000	140,9606	130,4799	124,3994
Carelmapu	140,9606	0,0000	78,2512	87,9539
Pangal	130,4799	78,2512	0,0000	26,5922
Mar Brava	124,3994	87,9539	26,5922	0,0000

Tabla 7. Matriz de clasificación para machos de cuatro poblaciones de *O. tuberculata*.

	%	Tril Tril	Carelmapu	Pangal	Mar Brava
Tril Tril	100,0000	15	0	0	0
Carelmapu	100,0000	0	15	0	0
Pangal	100,0000	0	0	15	0
Mar Brava	93,3333	0	0	1	14
Total	98,3333	15	15	16	14

Análisis para hembras: El uso de 21 variables en el modelo permitió explicar un 95% de la variabilidad en base a las primeras dos funciones discriminantes (Tabla 8). La primera función permitió explicar un 81% ($p < 0,001$) de la variabilidad total en base a la longitud total (LT), variables de la cabeza (HC y LFA), pereión (LP6, LP4, AP7, AP3 y AP6), gnatópodo (LG2, LG5 y AG5) y telson (LTE). La segunda función discriminante explica un 13% ($p < 0,001$) de la variabilidad total en base a tres variables (AG3, DP y A42).

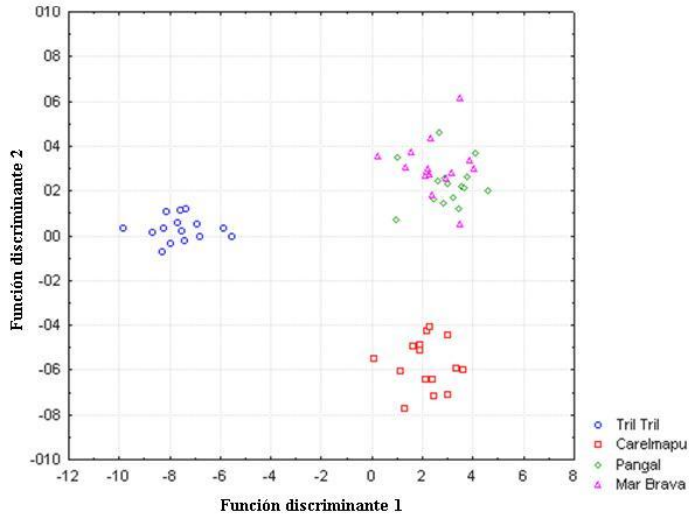


Figura 5. Representación gráfica de las primeras dos funciones discriminantes obtenidas para machos de *O. tuberculata*.

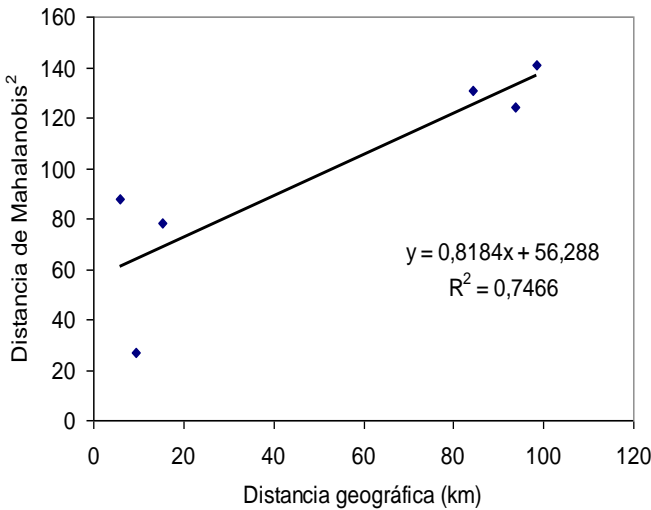


Figura 6. Regresión lineal entre la distancia geográfica y la distancia de Mahalanobis² para ejemplares machos de *O. tuberculata*.

La diferenciación de los especímenes de Carelmapu-Mar Brava y Pangal-Mar Brava, es menos notable, con una distancia de Mahalanobis² de sólo 19,6 y 10,9 respectivamente (Tabla 9). Lo anterior es confirmado al analizar la matriz de clasificación, donde un espécimen de la población de Carelmapu es clasificado en la población de Mar Brava (Tabla 10). Las primeras dos funciones discriminantes representadas en el gráfico de la Figura 7 muestran un patrón similar al observado en machos. La Figura 8 presenta la correlación entre la distancia geográfica y la distancia de Mahalanobis².

Tabla 8. Coeficientes estandarizados de las tres funciones discriminantes obtenidas en el análisis morfológico de hembras de *O. tuberculata*.

	Función 1	Función 2	Función 3
HC	0,67235	0,152817	0,48318
AG2	0,35996	0,435927	-0,43246
LFA	-0,63422	-0,824221	0,54583
LT	-1,41932	1,056109	0,36641
LP6	1,02430	-0,955688	0,21099
AP7	1,92666	-0,144561	2,42644
AG3	-0,04796	-0,907346	0,04222
LG2	0,69812	0,218288	-0,13956
PL3	-0,27960	-0,265440	-0,43555
DP	0,04261	0,584522	-0,74678
AP3	0,66424	-0,585963	-0,52829
LP4	-0,56420	-0,148270	0,47725
DPR	0,35311	-0,316953	0,39638
HOD	0,40374	-0,289280	-0,52695
LG5	-1,12320	0,015657	-0,46415
LTE	-0,65717	-0,109034	0,30027
A42	0,43746	0,889202	-0,52397
AG5	-0,87551	-0,388533	-0,79510
AP6	-0,79150	0,638320	-1,58542
AP5	0,39148	-0,264680	-0,09598
DS	-0,11266	-0,098572	0,49077
Eigenvalue	19,52702	3,223480	1,30016
%	81,191	94,5941	100,000

Tabla 9. Matriz de distancias de Mahalanobis² de especímenes hembras de cuatro poblaciones de *O. tuberculata*.

	Tril Tril	Caremapu	Pangal	Mar Brava
Tril Tril	0,0000	117,2986	109,7792	103,0477
Caremapu	117,2986	0,0000	24,1074	19,6143
Pangal	109,7792	24,1074	0,0000	10,9633
Mar Brava	103,0477	19,6143	10,9633	0,0000

Tabla 10. Matriz de clasificación de los especímenes hembras de cuatro poblaciones.

	%	Tril Tril	Caremapu	Pangal	Mar Brava
Tril Tril	100,0000	15	0	0	0
Caremapu	93,3333	0	14	0	1
Pangal	86,6667	0	0	13	2
Mar Brava	93,3333	0	0	1	14
Total	93,3333	15	14	14	17

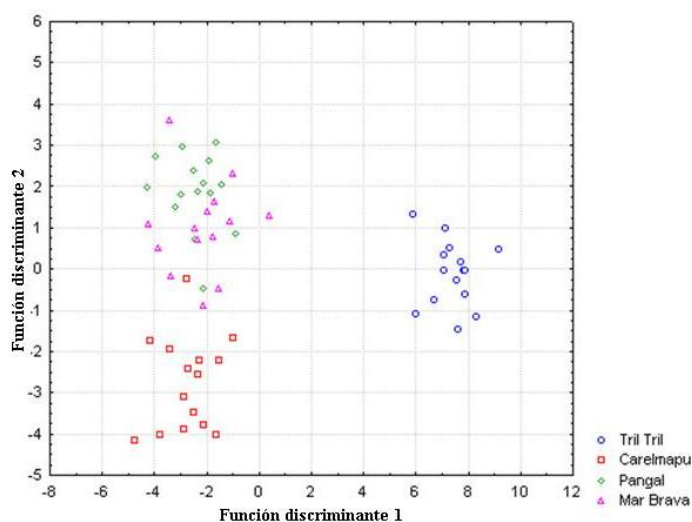


Figura 7. Representación gráfica de las primeras dos funciones discriminantes obtenidas para hembras de *O. tuberculata*.

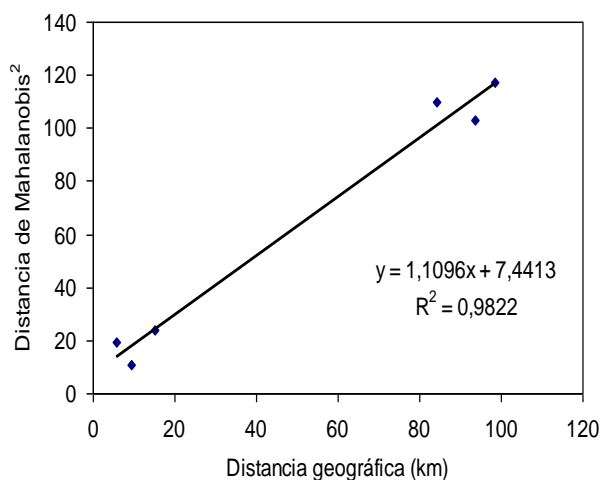


Figura 8. Regresión lineal entre la distancia geográfica y la distancia de Mahalanobis² de especímenes hembras de cuatro poblaciones de *O. tuberculata*.

Discusión y conclusión

Los resultados de este estudio corroboran la efectividad del análisis discriminante multivariado en la diferenciación de poblaciones, como ha sido demostrado en diversos grupos animales (Hontoria & Amat, 1992a, 1992b; Amssalu *et al.*, 2004). Sin embargo, los resultados se contraponen a los de Scapini *et al.* (1999), quienes indican que este tipo de análisis no permite diferenciar satisfactoriamente poblaciones del talítrido *Talitrus saltator*. Esta conclusión probablemente se deba a que estos autores sólo consideran cuatro variables y utilizan caracteres discontinuos, como el número de artículos del flagelo de las antenas, que presentan variación en función de la edad, aumentando con el número de mudas (Pereira & Ziggiatti, 2003) y pueden mostrar alteraciones relacionadas con las distintas tasas de crecimiento (Page, 1979). Lo anterior

es importante, considerando la posibilidad de presentar varias mudas luego de alcanzar la madurez sexual (Tsoi & Chu, 2005), produciendo una mayor variabilidad intrapoblacional para este carácter. Por el contrario, Henzler & Ingólfsson (2007) logran diferenciar grupos de poblaciones de *Orchestia gammarellus* en base a análisis discriminante. Sin embargo, sus resultados son menos efectivos que los obtenidos aquí en *Orchestoidea tuberculata*, como se ve reflejado en el porcentaje de clasificación correcta de sus especímenes en sus correspondientes poblaciones, que varió entre 23 y 70%, mientras que los valores aquí obtenidos variaron entre 86 y 100%. Lo anterior, como en el caso de Scapini *et al.* (1999), puede estar relacionado con el número de variables utilizadas por estos autores, que incluyeron 16 caracteres, a diferencia de los 55 caracteres usados en este estudio. En este análisis finalmente sólo ocho variables mostraron ser útiles para la discriminación de machos y 12 para el análisis de hembras y sin distinción de sexos, sugiriendo que el estudio exploratorio inicial debe incluir el mayor número posible de variables para luego seleccionar las que permitan una mejor discriminación.

Orchestoidea tuberculata habita exclusivamente la zona supramareal de playas arenosas; un hábitat restringido y rodeado de zonas con otras características que le son desfavorables (*e. g.* costas rocosas), que no permiten la distribución continua de la especie a lo largo de la costa. La ocurrencia periódica de eventos de traslado (*e. g.* rafting) de individuos entre una playa y otra es poco probable (Scapini *et al.*, 1999; Henzler & Ingólfsson, 2007), debido principalmente a sus características de historia de vida particulares, como el desarrollo directo intramarsupial (Lecroy, 2000; Winfield & Ortiz, 2003) y la conducta de excavación en el sustrato (Bousfield, 1982). Además, a pesar de la posibilidad de un tipo de dispersión pasiva vía acuática (Kalbrink, 1969), estos crustáceos presentan escasas capacidades natatorias (Vogel, 1985; Dahl, 1946).

Dadas las características biológicas de los anfípodos talítridos, es razonable esperar una gran influencia de las condiciones ambientales locales en la morfología de las poblaciones de *O. tuberculata*. A pesar de la discriminación satisfactoria (*e. g.* sin distinción de sexos, machos y hembras), los resultados indican que la población de Tril Tril presenta una mayor diferenciación con respecto a los otros grupos, como aparece reflejado en la amplia correlación entre la distancia de Mahalanobis² y la distancia geográfica. Estas diferencias pueden ser producto de las escasas posibilidades de flujo génico entre poblaciones muy separadas geográficamente (Futuyma, 1998); sin embargo, es necesario considerar también el rol de las diferencias en la disponibilidad de alimento (Duarte *et al.*, 2009).

Numerosas especies de anfípodos muestran un fuerte dimorfismo sexual (Conlan, 1991; Pereira & Leite, 2003; Tsoi & Chu, 2005) expresado principalmente en el tamaño corporal (Hume *et al.*, 2005), apéndices pereionales (Moore & Wong, 1996) y antenas (Barnard, 1971; McLaughlin, 1980). Nuestros resultados indican que existe una mejor diferenciación entre poblaciones usando especímenes machos, con las variables discriminatorias más importantes asociadas a caracteres de la cabeza y del gnatópodo, estructuras sometidas a fuertes modificaciones producto del dimorfismo sexual de la especie (Jaramillo *et al.*, 1980). Por el contrario, en el caso de las hembras, las variables más importantes en la discriminación están relacionadas con caracteres del pereión y los gnatópodos, estructuras que podrían estar involucradas en algunos aspectos reproductivos, debido a su participación en la formación de la bolsa marsupial,

presente en la zona esternal de los pereionitos 2-5 en este sexo (Barnard & Karaman, 1991; Richardson *et al.*, 2000).

Además del notable dimorfismo sexual de *O. tuberculata* (Jaramillo *et al.*, 1980; Bousfield, 1982), las diferencias en el poder discriminante en función del sexo de los especímenes podrían derivar de los patrones de comportamiento diferentes entre machos y hembras (Wen, 1993). Estas diferencias implican que ambos sexos experimentan demandas ecológicas o reproductivas diferentes (Howard, 1981). Los machos presentan conductas territoriales (Bowers, 1964) con fuertes tendencias de agresión intrasexual a diferencia de las hembras (Iyengar & Starks, 2008), lo que determina una exposición diferencial a los diversos factores ambientales que influyen sobre el fenotipo de las poblaciones y en consecuencia, los someten a diferentes presiones de selección (Kennedy *et al.*, 2000). Lo anterior es corroborado por una menor correlación entre la diferenciación de machos y la distancia geográfica, sugiriendo la posibilidad de un mayor componente ambiental en las diferencias encontradas para este sexo. De igual modo, se observa una mayor similitud (*e. g.* < distancia de Mahalanobis²) entre Mar Brava y Pangal, respecto de Mar Brava y Carelmapu, a pesar de estar separadas por una distancia geográfica mayor (9,31 km versus 5,75 km). Estas diferencias pueden estar relacionadas con la adaptación de las poblaciones a condiciones ambientales locales, considerando que Carelmapu está ubicada en el inicio de la región del mar interior, con características bióticas (*e. g.* disponibilidad de alimento) y abióticas (*e. g.* grado de exposición, oleaje, sedimentos) diferentes de la costa expuesta de más al norte (Camus, 2001). Sin embargo, también fue posible observar una alta diferenciación en la población de Tril Tril respecto de las otras tres localidades, aún cuando sus condiciones ambientales son similares a las de Pangal y Mar Brava. Estos antecedentes sugieren que las diferencias encontradas pueden responder a un complejo conjunto de factores ambientales y biológicos que influyen de modo variable, ya sea a través de plasticidad fenotípica en casos de alta diferenciación morfológica a través de una menor distancia geográfica (*e. g.* Carelmapu, Pangal y Mar Brava) o diferenciación genética, con menor flujo génico entre poblaciones alejadas geográficamente (*e. g.* probablemente el caso de Tril Tril).

La aplicación de análisis discriminante multivariado en caracteres morfológicos, permite reconocer la presencia de diferencias interpoblacionales; sin embargo, no permite identificar con certeza los verdaderos factores que producen los patrones de variación observados (Wilke *et al.*, 2002). Los antecedentes de la historia de vida de *O. tuberculata* indican una cierta independencia de este tipo de expresión fenotípica en relación con algunos factores ambientales como la morfodinámica intermareal (Contreras *et al.*, 2003; Duarte *et al.*, 2009), a diferencia de otros componentes de comunidades de playas arenosas (*e. g.* *Emerita analoga*). Sin embargo, los datos entregados por Contreras *et al.* (2003) sugieren que el tipo morfodinámico de playa donde habita cada población incidiría de manera indirecta en las diferencias encontradas, considerando que las poblaciones podrían ser afectadas por el tamaño y penetrabilidad de los granos de sedimento (Bowers, 1964; Craig, 1973; Williams, 1983), características derivadas de la morfodinámica intermareal (Brown & McLachlan, 1990). Recientemente, Scapini & Dugan (2008) sugirieron la posibilidad de que las características ambientales de las playas estudiadas por ellos, influyan en las diferencias observadas en el comportamiento de orientación de dos poblaciones de *O. tuberculata*. De igual modo, la alta disponibilidad de algas varadas en la

playa, podría explicar diferencias entre poblaciones en relación a abundancia y tasas de crecimiento (Contreras *et al.*, 2003; Duarte *et al.*, 2009). Los antecedentes mostrados por los estudios anteriores permiten corroborar la influencia de variables ambientales en diversos tipos de expresiones del fenotipo (Futuyma, 1998).

Este estudio entrega los primeros antecedentes respecto a la variabilidad morfológica interpoblacional de *O. tuberculata*, discriminando entre las poblaciones estudiadas en base a un conjunto limitado de variables. En conclusión, la población de Tril Tril aparece como el grupo más diferenciado, mientras que los individuos de Pangal y Mar Brava serían más similares entre sí y con Carelmapu. La efectividad de la discriminación de las poblaciones es mayor utilizando únicamente machos, en los cuales se logró obtener los más altos valores en las distancias de Mahalanobis²; sin embargo, la menor correlación entre ésta y la distancia geográfica sugiere una mayor influencia ambiental sobre las diferencias encontradas entre los especímenes de este sexo. En base a los caracteres que presentan más altos coeficientes discriminantes en la primera función de cada análisis, se sugiere que 12 caracteres son importantes para la discriminación sin distinción de sexos, 8 para machos y 12 para hembras. Es necesario efectuar nuevos estudios de la variabilidad interpoblacional de *O. tuberculata*, ampliando el rango geográfico y utilizando nuevos enfoques (*e. g.* ADN) para conocer la estructura genética poblacional y los patrones filogeográficos de la especie, con el objeto de explicar las diferencias encontradas.

Agradecimientos

Se agradece a los profesores José Uribe, Julio Crespo, René Espinoza y Luis Guiñez por la revisión y comentarios a la versión original de este trabajo.

Literatura Citada

- Amssalu, B., A. Nuru, S. E. Radloff & H. R. Hepburn, 2004. Multivariate morphometric analysis of honeybees (*Apis mellifera*) in the Ethiopian Region. *Apidologie* 35: 71–81.
- Barnard, J. L., 1971. Keys to the Hawaiian marine Gammaridea, 0-30 meters. *Smithsonian Contribution to Zoology*, 58: 1-135.
- Barnard, J. L. & G. S. Karaman, 1991. The families and genera of marine gammaridean Amphipoda (except marine gammaroids), Parts 1 y 2. *Records of the Australian Museum, Supplement* 13: 1-866.
- Bergioli, C., L. Martelli, F. Porri, A. D'Elia, G. M. Marchetti & F. Scapini, 1999. Orientation in *Talitrus saltator* (Montagu): trends in interpopulation variability related to environmental and intrinsic factors. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 238: 29-47.
- Bousfield, E. L., 1982. The amphipod superfamily Talitroidea in the Northeastern Pacific Region. I. family Talitridae. Systematics and distributional ecology. *Publications in Biological Oceanography*, 11: 1-73.
- Bowers, D. E., 1964. Natural history of two beach hoppers of the genus *Orchestoidea* (Crustacea: Amphipoda) with reference to their environmental distribution. *Ecology*, 45: 677-696.
- Brown, A. & A. McLachlan, 1990. *Ecology of sandy shores*. Elsevier, Ámsterdam. 328 pp.

- Brazeiro, A., N. Rozbaczylo & J. M. Fariña, 1998. Distribución espacial de la macrofauna en una playa expuesta de Chile Central: efectos de la morfodinámica intermareal. *Investigaciones Marinas*, Valparaíso, 26: 119-126.
- Bulnheim, H. P. & A. Scholl, 1986. Genetic differentiation between populations of *Talitrus saltator* and *Talorchestia deshayesii* (Crustacea: Amphipoda) from coastal areas of the north-western European continent. *Marine Biology*, 92: 525-536.
- Bulnheim, H. P. & D. E. Schwenzer, 1999. Allozyme variation and genetic divergence in populations of *Talitrus saltator* (Crustacea: Amphipoda) around the Atlantic coast, the Azores and the Canary Islands. *Cahiers de Biologie Marine*, 40: 185-194.
- Camus, P. A., 2001. Biogeografía marina de Chile continental. *Revista Chilena de Historia Natural*, 74: 587-617.
- Conlan, K. E., 1991. Precopulatory mating behaviour and sexual dimorphism in the amphipod Crustacea. *Hydrobiologia*, 223: 255-282.
- Contreras, H., E. Jaramillo, C. Duarte & A. McLachlan, 2003. Population abundances, growth and natural mortality of the crustacean macroinfauna at two sand beach morphodynamic types in southern Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 76: 543-561.
- Craig, P. C., 1973. Behaviour and distribution of the sand-beach amphipod *Orchestoidea corniculata*. *Marine Biology*, 23: 101-109.
- Dahl, E., 1946. The Amphipoda of the Sound, Part 1: Terrestrial Amphipoda. *Lunds Universitets Arsskrift*, 42: 1-53.
- De Matthaeis, E., M. Cobolli, M. Mattochia, P. Saccoccio & F. Scapini, 1994. Genetic divergence between natural populations of Mediterranean sandhoppers. 15-29 pp. In: Beaumont, A. R. (Ed.) *Genetics and Evolution of Aquatic Organisms*. Chapman & Hall, London.
- De Matthaeis, E., M. Cobolli, M. Mattochia & F. Scapini, 1995. Geographical variation in *Talitrus saltator* (Crustacea, Amphipoda): biochemical evidence. *Bollettino di Zoologia*, 62: 77-84.
- De Matthaeis, E., M. Cobolli, D. Davolos & D. Mattoccia, 1996. Stime di flusso genico tra popolazioni di *Orchestia montagui* (Amphipoda, Talitridae) delle isole circumsarde. *Biogeographia*, 18: 249-260.
- De Matthaeis, E., D. Davolos & M. Cobolli, 1998. Genetic divergence between populations and species of talitrids from Aegean Islands. *Journal of Heredity*, 89: 37-43.
- De Matthaeis, E., D. Davolos, M. Cobolli & V. Ketmaier, 2000. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations of four talitrids species in the mediterranean sea. *Evolution*, 54: 1606-1613.
- Duarte, C., E. Jaramillo, H. Contreras, K. Acuña & J. M. Navarro, 2009. Importancia del subsidio de macroalgas sobre la abundancia y biología poblacional del anfípodo *Orchestoidea tuberculata* (Nicolet) en playas arenosas del centro sur de Chile. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 44(3): 691-702.
- Dunn, C. P., 2003. Keeping taxonomy based in morphology. *Trends in Ecology and Evolution*, 18(6): 270-271.

- Elgtari, M., F. Charfi-Cheikhrouha, G. M. Marchetti & F. Scapini, 2000. Behavioural adaptation of *Talitrus saltator* populations to beaches with different dynamics and degree of human disturbance along Tunisian coast. *Polish Archives of Hydrobiology*, 47 (3-4): 643-650.
- Fanini, L., C. M. Cantarino & F. Scapini, 2005. Relationships between the dynamics of two *Talitrus saltator* populations and the impacts of activities linked to tourism. *Oceanologia*, 47 (1): 93-112.
- Friend, J. A. & A. M. M. Richardson, 1986. The biology of terrestrial amphipods. *Annual Review of Entomology*, 31: 25-48.
- Futuyma, D. J., 1998. *Evolutionary Biology*, 3^o ed. Sinauer Associates, Inc. 751 pp.
- González, E., 1991. Actual state of gammaridean amphipoda taxonomy and catalogue of species from Chile. *Hydrobiologia*, 223: 47-68.
- Henzler, C. M. & A. Ingólfsson, 2007. The biogeography of the beachflea, *Orchestia gammarellus* (Crustacea, Amphipoda, Talitridae), in the North Atlantic with special reference to Iceland: a morphometric and genetic study. *Zoologica Scripta*, 37(1): 57-70.
- Hontoria, F. & F. Amat, 1992a. Morphological characterization of adult *Artemia* (Crustacea, Branchiopoda) from different geographical origin. Mediterranean populations. *Journal of Plankton Research*, 14 (7): 949-959.
- Hontoria, F. & F. Amat, 1992b. Morphological characterization of adult *Artemia* (Crustacea, Branchiopoda) from different geographical origin. American populations. *Journal of Plankton Research*, 14 (10): 1461-1471.
- Howard, R. D., 1981. Sexual dimorphism in bullfrogs. *Ecology*, 62: 303-310.
- Hume, K. D., R. W. Elwood, J. T. A. Dick & J. Morrison, 2005. Sexual dimorphism in amphipods: the role of male posterior gnathopods revealed in *Gammarus pulex*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 58: 264-269.
- Iyengar, V. K. & B. D. Starks, 2008. Sexual selection in harems: male competition plays a larger role than female choice in an amphipod. *Behavioral Ecology*, 19: 642-649.
- Jaramillo, E., 1987. Sandy beach macroinfauna from the Chilean coast: zonation patterns and zoogeography. *Vie et Milieu*, 37: 165-174.
- Jaramillo, E., W. Stotz, C. Bertrán, J. Navarro, C. Román & C. Varela, 1980. Actividad locomotriz de *Orchestoidea tuberculata* (Amphipoda, Talitridae) sobre la superficie de una playa arenosa del Sur de Chile (Mehuín, Provincia de Valdivia). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 15: 9-33.
- Jaramillo, E., F. Carrasco, P. Quijón, M. Pino & H. Contreras, 1998. Distribución y estructura comunitaria de la macroinfauna bentónica en la costa del Norte de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 71: 459-478.
- Jaramillo, E., C. Duarte & H. Contreras, 2000. Sandy beach macroinfauna from the coast of Ancud, Isla de Chiloé, southern Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 73: 771-786.
- Karlbrink, F., 1969. Distribution and dispersal of Talitridae in Southern Sweden. *Oikos*, 20: 327-334.
- Kennedy, F., E. Naylor & E. Jaramillo, 2000. Ontogenetic differences in the circadian locomotor activity rhythm of the amphipod crustacean *Orchestoidea tuberculata*. *Marine Biology*, 137: 511-517.

- Lecroy, S. E., 2000. *An illustrated identification guide to the nearshore marine and estuarine gammaridean amphipoda of Florida. Volume I. Families Gammaridae, Hadziidae, Isaeidae, Melitidae and Oedicerotidae*. U. S. Environmental Protection Agency WM7424. 195 pp.
- McLaughlin, P. A., 1980. *Comparative morphology of recent Crustacea*. W. H. Freeman. 177 pp.
- Moore, P. G. & Y. M. Wong, 1996. Observations on the life history of *Orchomene nanus* (Krøyer) (Amphipoda: Lysianassoidea) at Millport, Scotland as deduced from baited trapping. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 195: 53-70.
- Morrith, D., 1998. Hygrokinetic responses of talitrids amphipods. *Journal of Crustacean Biology*, 18 (1): 25-35.
- Page, H. M., 1979. Relationship between growth, size, molting and number of antennal segments in *Orchestia traskiana* Stimpson (Amphipoda Talitridae). *Crustaceana*, 37(3): 247-252.
- Pereira, F. P. & A. Ziggiatti, 2003. Variações morfológicas dos estádios pós-marsupiais de *Sunampithoe pelagica* Milne-Edwards (Crustacea, Amphipoda, Gammaridea, Ampithoidae) da fauna de *Sargassum cymosum* C. Agardh. *Revista Brasileira de Zoologia*, 20(1): 65-73.
- Richardson, A. M. M., E. T. Chester & R. Swain, 2000. Brood plate morphology and its implications for brooding in an ecological series of talitrids amphipods. *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, 47(3-4): 631-642.
- Scapini, F., F. Campacci & M. Audoglio, 1999. Variation among natural populations of *Talitrus saltator* (Amphipoda): morphometric analysis. *Crustaceana*, 72 (7): 659-672.
- Scapini, F. & J. Dugan, 2008. Sun and landscape orientation in adult and juvenile sanhoppers *Orchestoidea tuberculata* (Amphipoda, Talitridae) from two beaches in South Central Chile. *Marine Ecology*, 29 (Suppl. 1): 19-27.
- Stearn, S. C., 1989. The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *Bioscience*, 39 (7): 436-445.
- Tsoi, K. & K. Chu, 2005. Sexual dimorphism and reproduction of the amphipod *Hyale crassicornis* Haswell (Gammaridea: Hyalidae). *Zoological Studies*, 44(3): 382-392.
- Tsubokura, T., S. Goshima & S. Nakao, 1997. Seasonal horizontal and vertical distribution patterns of the supralittoral amphipod *Trinorchestia trinitatis* in relation to environmental variables. *Journal of Crustacean Biology*, 17 (4): 674-686.
- Tsubokura, T., S. Kikuchi y S. Nakao. 1998. Distribution patterns, gill area relationships, and fine structural characteristics of the epithelia in supralittoral and terrestrial talitrids amphipods. *Journal of Crustacean Biology*, 18 (4): 625-642.
- Vogel, F., 1985. Das schwimmen des Talitridae (Crustacea, Amphipoda): funktionsmorphologie, phänomenologie und energetik. *Helgoländer Meeresunters*, 39 : 303-339.
- Wcislo, W. T., 1989. Behavioral environments and evolutionary change. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20:137-169.
- Wen, Y. H., 1993. Sexual dimorphism and mate choice in *Hyalella azteca* (Amphipoda). *American Midland Naturalists*, 129: 153-160.
- Wilke, T., M. Pfenninger & G. M. Davis, 2002. Anatomical variation in cryptic mudsnail species: Statistical discrimination and evolutionary significance. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 152: 45-66.

Williams, J. A., 1983. Environmental regulation of the burrow depth distribution of the sand-beach amphipod *Talitrus saltator*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 16: 291-298.

Winfield, I. & M. Ortiz, 2003. *Anfipodos, un enfoque biológico*. Universidad Nacional Autónoma de México. 51 pp.