

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LAS POBLACIONES DE**  
*Agononida longipes* Y *Munida flinti* (CRUSTACEA: DECAPODA:  
GALATHEIDAE) EN EL MAR CARIBE COLOMBIANO

ADRIANA BERMÚDEZ TOBÓN

Cod. 191090

Magister Scientiae Biología – Línea Biología Marina

Director

Dr. *rer. nat.* NESTOR HERNANDO CAMPOS CAMPOS

Prof. Asoc. Instituto de Ciencias Naturales ICN

Universidad Nacional

Codirector

Dr. *rer. nat.* Bernd Werding

Justus Liebig University Giessen Alemania

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
FACULTAD DE CIENCIAS, DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA  
Bogotá D. C., 2005

## Dedicado A:

Adela Trujillo  
Margarita Tobón  
Andrés Bermúdez  
Gabriel Navas

## Agradecimientos

Hay muchas cosas que agradecer y muchas personas a quienes agradecer, es difícil empezar y además hay demasiadas categorías que incluir: Instituciones de apoyo logístico y económico, Instituciones de formación académica, profesores, colegas, compañeros, amigos, estudiantes, etc.

Empezare tal vez por las de rigor:

Parte de esta investigación se realizó gracias al apoyo financiero de los proyectos “*Caracterización de la macrofauna del Caribe colombiano. Fase 1*” (cod. 2105-13-079-97) y “*Fauna marina colombiana: Caracterización de la macrofauna de la plataforma continental del Mar Caribe colombiano*” (cod. 210509-10401), financiados por el INVEMAR, el Ministerio del Medio Ambiente y COLCIENCIAS con el apoyo de la Unidad Administrativa Especial del Sistema de Parques Nacionales Naturales, Corporación Autónoma Regional de la Guajira y Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca.

Quiero agradecer muy especialmente la colaboración de los museos que me han facilitado material para este estudio: Senckenberg Forschungsinstitut und Naturmuseum (Alemania), National Museum of Natural History –NMNH– Smithsonian Institution (USA), Museum of Comparative Zoology (USA).

Gracias por todo el apoyo que me brindó el grupo de trabajo del Institut für Tierökologie und Spezielle Zoologie der Justus-Liebig-Universität (Gießen, Alemania) liderado por el Prof. Dr. Volkmar Wolters, especialmente al Prof. Dr. Bernd Werding por su infinita paciencia, apoyo, y sus muy acertados comentarios. La colaboración de la Bióloga Alexandra Hiller en el trabajo de laboratorio. Este trabajo contó también con la valiosa ayuda del Dr. Klemens Ekschmitt quien compartió conmigo sus conocimientos en estadística y biología.

En esta larga lista de agradecimientos no puede faltar el Dr. Rafael Lemaitre del NMNH quien se ha convertido en un apoyo incondicional en la distancia.

Obviamente el Prof. Dr. Néstor Hernando Campos Campos, ¿Qué sería de mi trabajo en la carcinología sin su apoyo, sus comentarios y su experiencia? Gracias, sobretodo por la paciencia.

Gracias al Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras “INVEMAR”,

además de ser uno de los gestores del proyecto, fue la primera entidad que me recibió como profesional y en la cual he desarrollado gran parte de mi trabajo de investigación. El apoyo que el instituto me ha brindado ha sido fundamental para mi proyección académica y profesional. Gracias a todas las personas del grupo de trabajo del Museo de Historia Natural Marina de Colombia y al personal del INVEMAR disculpen que no los mencione a todos pero son muchos (afortunadamente) y estos agradecimientos ocuparían buena parte del trabajo de tesis.

A mi alma mater: la UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA donde me formé como profesional y realicé mi postgrado. Sería muy difícil nombrar a todos los profesores de la Facultad de Ciencias, del Departamento de Biología y del Instituto de Ciencias Naturales, que han tenido algo que ver con mi carrera. A todos muchas GRACIAS. Claro que hay algunas personas muy especiales que han hecho de mi curso por la Biología más fácil o más difícil pero igual de enriquecedor.

Ahora los que tal vez tenga que ver menos con la parte académica y más con la emocional, cuyo apoyo ha sido totalmente desinteresado.

Los de aquí: Vicky porque siempre estas y estarás ahí, a Nelson, Edgar, Luz Marina, Patricia, María Isabel (Crales) y María Isabel (Aguilar) y Margarita. A mi querido Gabriel que más que un amigo se ha convertido en mi compañero y el impulsor de mi trabajo profesional, gracias por ser tan terco.

Los de allá y que tienen su corazón acá: Juan Pablo, Mónica, Carlos, Pilar, Holger, Helge, Jan, Johana, Hendrik, que me acompañaron en los fríos inviernos, maravillosas primaveras, soleados veranos y lluviosos otoños. Gracias por sus risas, llantos y por compartir un poquito de su vida conmigo.

A mi familia por su comprensión, a mi Grandiosa Madre que siempre ha estado ahí dándome valentía, fuerza y razón para seguir adelante. A mi hermano que me ha demostrado lo mucho que vale y que nada es imposible cuando se usa el corazón y se hace realmente lo que uno ama. A mis queridos tíos, María Cecilia, María Cristina y Álvaro. A Adolfo y a mis primos. Ellos siempre están pendientes de mis pasos y por pequeños que estos sean se alegran por mí. Realmente me siento muy orgullosa de contar con esta FAMILIA,

Gracias...

## TABLA DE CONTENIDO

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN.</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>ANTECEDENTES.</b>	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>ÁREA DE ESTUDIO.</b>	<b>18</b>
<b>3.1</b>	<b>Geomorfología.</b>	<b>18</b>
<b>3.2</b>	<b>Clima.</b>	<b>19</b>
<b>3.3</b>	<b>Oceanografía.</b>	<b>20</b>
<b>3.4</b>	<b>Aportes continentales.</b>	<b>21</b>
<b>4</b>	<b>MATERIALES Y METODOS.</b>	<b>23</b>
<b>4.1</b>	<b>Colecta de Material.</b>	<b>23</b>
<b>4.2</b>	<b>Información molecular, morfométrica, morfológica y merística.</b>	<b>23</b>
4.2.1	Información molecular.	23
4.2.1.1	Extracción de DNA.	23
4.2.1.2	RAPD.	24
4.2.1.3	AFLP.	24
4.2.2	Información morfométrica, morfológica y merística.	24
4.2.3	Morfometría geométrica.	25
4.2.3.1	Obtención de imágenes.	26
4.2.3.2	Digitalización de puntos anatómicos (“landmarks”).	28
4.2.4	Caracteres morfométricos y merísticos.	29
<b>4.3</b>	<b>Comparación entre especies.</b>	<b>36</b>
4.3.1	Análisis de morfometría geométrica.	36
4.3.2	Morfometría y merística.	36
4.3.3	Determinación de alometría.	36
<b>4.4</b>	<b>Delimitación de poblaciones.</b>	<b>37</b>
4.4.1	Morfometría geométrica.	37
4.4.2	Morfometría y merística.	38
<b>5</b>	<b>RESULTADOS.</b>	<b>40</b>
<b>5.1</b>	<b>Datos moleculares.</b>	<b>40</b>
5.1.1	RAPD.	40
5.1.2	AFLP.	41
5.1.2.1	Protocolo para AFLP.	41
<b>5.2</b>	<b>Comparación entre especies.</b>	<b>44</b>
5.2.1	Análisis de morfometría geométrica.	44
5.2.2	Morfometría y merística.	56
5.2.3	Determinación de alometría.	57
5.2.3.1	<i>Agononida longipes</i> .	57
5.2.3.2	<i>Munida flinti</i> .	58
5.2.3.3	<i>Munida stimpsoni</i> .	58
<b>5.3</b>	<b>Delimitación de poblaciones en <i>Agononida longipes</i>.</b>	<b>59</b>
5.3.1	Análisis de morfometría geométrica.	59
5.3.2	Morfometría y merística.	63
<b>5.4</b>	<b>Delimitación de Poblaciones en <i>Munida flinti</i>.</b>	<b>69</b>
5.4.1	Análisis de morfometría geométrica.	69
5.4.2	Morfometría y merística.	74

<b>6</b>	<b>DISCUSIÓN.</b> .....	<b>78</b>
<b>6.1</b>	<b>Factores que pueden influir sobre las poblaciones.</b> .....	<b>79</b>
6.1.1	Patrones de circulación de aguas en el Caribe colombiano e influencia de los aportes continentales. ....	80
6.1.2	Temperatura. ....	81
6.1.3	Disponibilidad de alimento. ....	83
<b>7</b>	<b>CONCLUSIONES.</b> .....	<b>86</b>
<b>8</b>	<b>GLOSARIO.</b> .....	<b>87</b>
<b>9</b>	<b>BIBLIOGRAFIA.</b> .....	<b>91</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ecorregiones del mar Caribe colombiano .....	18
Figura 2. Criterios para establecer el balance del ejemplar durante la exploración del caparazón con el scanner .....	27
Figura 3. Criterios para establecer el balance del ejemplar durante la exploración del esternito torácico con el scanner .....	27
Figura 4. Ubicación de los puntos anatómicos dorsales en un ejemplar del complejo <i>Munida stimpsoni</i> .....	29
Figura 5. Ubicación de los puntos anatómicos ventrales en un ejemplar del complejo <i>Munida stimpsoni</i> .....	29
Figura 6. Vista dorsal del caparazón de un galatéideo .....	32
Figura 7. Vista dorsal del abdomen y el telson de un galatéideo.....	33
Figura 8. Apéndices de un galatéideo .....	34
Figura 9. Quelipedo y segundo pereiópodo de un galatéideo.....	35
Figura 10. Gel de agarosa que muestra las bandas de fragmentos de DNA amplificados al azar para <i>Munida flinti</i> .....	40
Figura 11. Resultados de la estandarización de la amplificación de fragmentos genómicos digeridos por enzimas de restricción (AFLP).....	43
Figura 12. Ordenación de las variaciones en la forma del esternito torácico explicadas por el PC1 y el PC2 para los ejemplares de <i>Agononida longipes</i> y del complejo <i>Munida stimpsoni</i> .....	44
Figura 13. Ordenación de las variaciones en la forma del esternito torácico explicadas por el PC1 y PC3 para los ejemplares de <i>Agononida longipes</i> y del complejo <i>Munida stimpsoni</i> .....	45
Figura 14. Ordenación de los ejemplares de <i>Agononida longipes</i> y del complejo <i>Munida stimpsoni</i> según los tres primeros componentes principales .....	46
Figura 15. Representación de la forma promedio ( <i>centroide</i> ) de los puntos anatómicos en los ejemplares de <i>Agononida longipes</i> .....	47
Figura 16. PCA de los ejemplares del complejo <i>Munida stimpsoni</i> según los puntos anatómicos de los esternitos torácicos. ....	48
Figura 17. Representación de la forma promedio ( <i>centroide</i> ) del esternito torácico de los ejemplares del complejo <i>Munida stimpsoni</i> colectados durante <i>INVEMAR-Macrofauna I</i> .....	49
Figura 18. Representación de la forma promedio ( <i>centroide</i> ) del esternito torácico de los ejemplares del complejo <i>Munida stimpsoni</i> colectados durante <i>INVEMAR-Macrofauna II</i> .....	49
Figura 19. Superposición de las representaciones de la forma promedio ( <i>centroide</i> ) del esternito torácico de los ejemplares del complejo <i>Munida stimpsoni</i> , colectados durante <i>INVEMAR-Macrofauna I</i> y <i>II</i> .....	50
Figura 20. Ordenación de las variaciones en la forma del caparazón explicadas por el PC1 y el PC2 para los ejemplares del complejo <i>Munida stimpsoni</i> . ....	51
Figura 21. Ordenación de las variaciones en la forma del caparazón explicadas por el PC1 y el PC3 para los ejemplares del complejo <i>Munida stimpsoni</i> .....	51
Figura 22. Ordenación de los ejemplares del complejo <i>Munida stimpsoni</i> según los puntos anatómicos dorsales, con respecto a los tres primeros componentes principales.....	52

Figura 23. Representación de la forma promedio ( <i>centroide</i> ) del caparazón de los ejemplares del complejo <i>Munida stimpsoni</i> colectados durante <i>INVEMAR-Macrofauna I</i> .....	53
Figura 24. Representación de la forma promedio ( <i>centroide</i> ) del caparazón de los ejemplares del complejo <i>Munida stimpsoni</i> colectados durante <i>INVEMAR-Macrofauna II</i> .....	54
Figura 25. Superposición de las representaciones de la forma promedio ( <i>centroide</i> ) del caparazón de los ejemplares del complejo <i>Munida stimpsoni</i> , colectados durante <i>INVEMAR-Macrofauna I</i> y <i>II</i> .....	55
Figura 26. Proyección de los ejemplares de <i>Agononida longipes</i> , <i>Munida flinti</i> y <i>M. stimpsoni</i> en el plano de los factores 1 y 2, resultado del análisis de componentes principales.....	56
Figura 27. Correlación del LC y del <i>centroide</i> con cada uno de los componente uniformes de forma <i>UniX</i> y <i>UniY</i> en <i>Agononida longipes</i> .....	57
Figura 28. Correlaciones entre LC, <i>centroide</i> y los componentes uniformes de forma <i>UniX</i> y <i>UniY</i> en <i>Munida flinti</i> .....	58
Figura 29. Correlaciones entre LC, <i>centroide</i> y los componentes uniformes de forma <i>UniX</i> y <i>UniY</i> en <i>Munida stimpsoni</i> .....	59
Figura 30. Análisis discriminante de los ejemplares de <i>Agononida longipes</i> . .....	61
Figura 31. Análisis discriminante de los machos de <i>Agononida longipes</i> .....	62
Figura 32. Análisis discriminante de las hembras de <i>Agononida longipes</i> .....	63
Figura 33. Proyección de las variables y de los ejemplares de <i>Agononida longipes</i> en el plano de factores (Factor 1 vs. 2) resultado del análisis de componentes principales.....	64
Figura 34. Proyección de las variables y machos de <i>Agononida longipes</i> , en el plano de factores (Factor 1 vs. 2) resultado del análisis de componentes principales. ....	66
Figura 35. Análisis discriminante de los machos de <i>Agononida longipes</i> .....	67
Figura 36. Proyección de las variables y hembras de <i>Agononida longipes</i> , en el plano de factores (Factor 1 vs. 2) resultado del análisis de componentes principales. ....	68
Figura 37. Análisis discriminante de las hembras de <i>Agononida longipes</i> . .....	69
Figura 38. Análisis discriminante de los ejemplares de <i>Munida flinti</i> empleando los puntos anatómicos de los esternitos torácicos .....	72
Figura 39. Análisis discriminante de los ejemplares de <i>Munida flinti</i> empleando los puntos anatómicos de los caparazones.....	73
Figura 40. Proyección de las variables y de los ejemplares de <i>Munida flinti</i> en el plano de factores (Factor 1 vs. 2) resultado del análisis de componentes principales. ....	74
Figura 41. Análisis discriminante de los machos de <i>Munida flinti</i> .....	76
Figura 42. Proyección de las variables y hembras de <i>Munida flinti</i> , en el plano de factores (Factor 1 vs. 2) resultado del análisis de componentes principales. ....	76
Figura 43. Análisis discriminante de las hembras de <i>Munida flinti</i> .....	77
Figura 44. Mapa esquemático de circulación de las corrientes en el mar Caribe colombiano a 200m de profundidad .....	81
Figura 45. Promedio anual de temperatura en el mar Caribe colombiano por ecorregiones .....	82



## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Variables merística empleadas en los análisis de estadística multivariada en <i>Agononida longipes</i> y los ejemplares del complejo <i>Munida stimpsoni</i> .....	30
Tabla 2. Variables morfométricas empleadas en los análisis de estadística multivariada en <i>Agononida longipes</i> y los ejemplares del complejo <i>Munida stimpsoni</i> .....	31
Tabla 3. Correlaciones entre LC, centroide y los componentes uniformes de forma <i>UniX</i> y <i>UniY</i> en <i>Agononida longipes</i> .....	57
Tabla 4. Correlaciones entre LC, centroide y los componentes uniformes de forma <i>UniX</i> y <i>UniY</i> en <i>Munida flinti</i> .....	58
Tabla 5. Correlaciones entre LC, centroide y los componentes uniformes de forma <i>UniX</i> y <i>UniY</i> en <i>Munida stimpsoni</i> . .....	59
Tabla 6. Análisis de similaridad a dos vías, en <i>Agononida longipes</i> empleando el efecto de los factores ecorregión y sexo simultáneamente. ....	60
Tabla 7. Distancias de Mahalanobis y diferencias significativas entre grupos de <i>Agononida longipes</i> .....	61
Tabla 8. Distancias de Mahalanobis y diferencias significativas entre los grupos de machos de <i>Agononida longipes</i> .....	62
Tabla 9. Distancias de Mahalanobis y diferencias significativas entre los grupos de hembras de <i>Agononida longipes</i> .....	63
Tabla 10. Caracteres merísticos no variables en <i>Agononida longipes</i> .....	65
Tabla 11. Cuadrados de las distancias de Mahalanobis entre los grupos de machos de <i>Agononida longipes</i> .....	66
Tabla 12. Cuadrados de las distancias de Mahalanobis entre los grupos de hembras de <i>Agononida longipes</i> .....	68
Tabla 13. Análisis de similaridad a dos vías en <i>Munida flinti</i> empleando los puntos anatómicos en los esternitos torácicos y el efecto cruzado de la ecorregión y el sexo .....	70
Tabla 14. Análisis de similaridad a dos vías en <i>Munida flinti</i> empleando los puntos anatómicos en el caparazón y el efecto cruzado de la ecorregión y el sexo .....	71
Tabla 15. Distancias de Mahalanobis y diferencias significativas entre los grupos de <i>Munida flinti</i> , empleando los puntos anatómicos en el esternito torácico .....	71
Tabla 16. Distancias de Mahalanobis y diferencias significativas entre los grupos de <i>Munida flinti</i> , empleando los puntos anatómicos en el caparazón .....	72
Tabla 17. Caracteres merísticos no variables en <i>Munida flinti</i> .....	75

## RESUMEN

En los años 1998 y 1999 el INVEMAR realizó exploraciones en la costa continental del mar Caribe colombiano, con el fin de inventariar y cuantificar la macrofauna marina presente en nuestro territorio. Los resultados obtenidos mostraron variaciones en la abundancia, riqueza y composición de especies de crustáceos con relación a un gradiente geográfico y batimétrico que podría estar relacionado con las diferencias ecológicas entre las ecorregiones, y/o la presencia de barreras ambientales, como por ejemplo, la desembocadura del río Magdalena. La presencia de barreras puede generar faunas propias dentro de las regiones y poblaciones aisladas en un área determinada.

Para comprobar la existencia de más de una población de crustáceos en el mar Caribe colombiano, se emplearon como modelo dos especies de la familia Galatheidae: *Agononida longipes* y *Munida flinti*, especies que presentaron un buen número de individuos y amplia distribución en el área. Se realizó la caracterización poblacional mediante métodos de morfometría geométrica y análisis multivariados de caracteres morfológicos. Además, se probaron métodos de análisis molecular de amplificación al azar de DNA polimórfico (Random Amplified Polimorphic DNA - RAPD) y amplificación de fragmentos genómicos digeridos por enzimas de restricción (Amplified Fragment Length Polymorphism - AFLP). Con los cuales se llegó solamente a la etapa de estandarización de las técnicas.

Los resultados de los análisis de forma y de cambios en las proporciones corporales mostraron diferencias significativas entre las poblaciones y sugieren la presencia de tres formas dentro de las especies, en el área de estudio. También se identificaron diferencias entre dos especies del complejo *Munida stimpsoni*, las cuales fueron separadas claramente por los métodos empleados. Las variaciones encontradas entre las poblaciones, estuvieron determinadas por algunos caracteres sexuales secundarios, lo que podría indicar diferencias en la fertilidad entre las poblaciones, influyendo de esta manera en la estructura poblacional. Al parecer, la distribución de las poblaciones de *A. longipes* y *M. flinti* esta más relacionada con los patrones de corrientes locales que con los aportes continentales del río Magdalena.

# 1 INTRODUCCIÓN.

La supervivencia y adaptación de las especies están determinadas por la diversidad, abundancia, biomasa, variabilidad genética y distribución de las mismas (Myers & Giller, 1988; Kraemer & Barthlott, 1998). En casi todas las especies existe algún grado de diferenciación genética entre localidades (Ehrlich & Raven, 1969; Abele, 1982; Turner *et al.*, 1982; Benzie, 2000; Knutsen *et al.*, 2003), generada por el flujo y deriva genética, la selección natural, la divergencia mutacional y la oportunidad de recombinación genética mediada por los sistemas de apareamiento (Avise, 1994).

Cuando en una región se produce una disminución prolongada en el flujo genético, las áreas separadas pueden llegar a desarrollar unidades autónomas de apareamiento (= poblaciones), que eventualmente pueden desembocar en la separación de especies (Wooten *et al.*, 1988), generando una fauna propia dentro de las regiones (Briggs, 1973 y 1974).

Las poblaciones se encuentran limitadas principalmente por la estructura del hábitat y el aislamiento por distancia. En los ambientes terrestres y de agua dulce, los patrones de distribución y dispersión de las poblaciones pueden circunscribirse a áreas geográficas más o menos reconocibles, debido a la presencia de barreras físicas que evitan el apareamiento entre individuos de diferentes poblaciones (Avise, 2000). En el ambiente marino, algunas barreras pueden ser fácilmente identificadas por tratarse de accidentes geográficos bien delimitados tales como islas o biotopos. Sin embargo, en el medio marino por lo general, las evidencias de la existencia de barreras generadas por eventos geológicos, oceanográficos, climáticos y ecológicos no son fácilmente detectadas. En las especies marinas existe además, un alto potencial de dispersión, dado por la continuidad de la masa de agua, que favorece la dispersión vertical y horizontal de los adultos y, de manera pasiva, la de los huevos y larvas a través de corrientes, provocando un área de distribución muy extensa de las especies. Pero a pesar de este potencial de dispersión, en las especies marinas las barreras físicas, ecológicas o biológicas que interrumpen el flujo genético de las especies, modifican la estructura poblacional y junto con la selección natural, la

distancia geográfica, los eventos geológicos y el comportamiento reproductivo determinan la separación de las poblaciones (Palumbi, 1992).

En los crustáceos marinos se reconocen ciertos patrones de distribución, que sugieren una alta dependencia de la latitud, la longitud, el tamaño del área ocupada, la heterogeneidad del hábitat, presencia y abundancia de otras especies y la profundidad. La compleja interacción de estos factores genera una subestructura poblacional en determinadas áreas geográficas (Benzie, 2000; Knutsen *et al.*, 2003), lo que hace que el reconocimiento de esta distribución de las poblaciones sea de utilidad en el manejo de los recursos pesqueros (Estrella & Cadrin, 1995; López & Pfister, 2001), estructuración de planes de conservación y monitoreo ambiental (Nadig *et al.*, 1998; Melville & Burchett, 2002; Rosse *et al.*, 2002).

A nivel global, la distribución de los crustáceos es amplia y abarca prácticamente todos los ambientes marinos posibles, encontrándose desde las zonas árticas hasta las tropicales, supralitorales y fosas hidrotermales en las dorsales oceánicas. La aparición de los principales grupos de crustáceos se remonta al Paleozoico tardío; encontrándose los primeros fósiles de decápodos en el Devónico tardío y en el Jurásico surgieron todos los Pleocyemata, incluyendo las superfamilias del Infraorden Anomura a excepción de Hippoidea (Schram, 1982). Los registros fósiles de los depósitos de la Pangea, proponen una radiación de las familias más recientes de malacostráceos, o por lo menos de sus ancestros inmediatos, hacia todos los continentes, por la dispersión a través de mares poco profundos durante un tiempo prolongado.

De los 1.200 géneros de decápodos existentes, la mayoría (56%) se presenta únicamente en los trópicos, el 10 % de ellos son circuntropicales y el 4 % son endémicos del Atlántico occidental tropical. En el Atlántico oriental se encuentra el menor número de especies, el cual se incrementa en el Pacífico oriental y a su vez en el Atlántico occidental, siendo el Indo-Pacífico occidental el océano con la mayor diversidad de especies de crustáceos a nivel mundial (Abele, 1982).

Además de la variación en la diversidad del grupo debida a los gradientes latitudinales, las evidencias apuntan a que las variaciones morfológicas son debidas a condiciones ecológicas y ambientales particulares. En estomatópodos por ejemplo, se ha comprobado una relación positiva entre el tamaño del cuerpo y la distribución geográfica (Reaka, 1980) y en otros grupos de decápodos se sugiere un incremento en el tamaño del cuerpo en relación con temperaturas bajas y aumento de la profundidad, también se ha encontrado una relación positiva entre el tamaño de las quelas y el gradiente geográfico en algunas especies de decápodos (Abele, 1982). Esta aparente plasticidad morfológica de los crustáceos puede contribuir en los estudios de reconocimiento de poblaciones locales para cada especie. Por ello se escogieron dos especies de decápodos de hábitos bentónicos, con amplia distribución, y abundancia relativamente alta para realizar análisis poblacionales en el mar Caribe colombiano.

El Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras “*José Benito Vives de Andreis*” – INVEMAR realizó en años recientes las expediciones *INVEMAR-MACROFAUNA I* y *II* (1997/2002) con el fin de realizar un inventario de la biodiversidad marina colombiana y describir las comunidades faunísticas del talud y plataforma continentales del mar Caribe colombiano. Los resultados de estos proyectos muestran un patrón de distribución de los ensamblajes de crustáceos decápodos asociado con un gradiente geográfico y batimétrico, aumentando en sentido sur-norte, el cual se evidencia por un aumento en el número de especies y su abundancia (Bermúdez, 2000; Cruz, 2001), variaciones en el tamaño de los ejemplares, diferencias entre proporciones de sexo (Fierro, 2004) y en el tamaño de algunas estructuras corporales.

Durante las expediciones *INVEMAR-MACROFAUNA I* y *II* se colectaron ejemplares de 26 especies (2087 individuos) de la superfamilia Galattheoidea y de 16 especies (371 individuos) de Paguroidea siendo estas las más abundantes después de los camarones peneoideos. Se escogieron dos de las especies más abundantes de la familia Galatheidae colectadas en estas expediciones, con el fin de emplearlas como modelo de estudios poblacionales en el área: *Agononida longipes* (Milne-Edwards,

1880) con 1117 ejemplares y *Munida flinti* Benedict, 1902 del complejo *Munida stimpsoni* con 276 ejemplares.

Durante la revisión del material y de acuerdo con la literatura, se encontraron diferencias morfológicas importantes dentro del material examinado, que sugiere la presencia de más de una especie entre el material colectado. De acuerdo con el trabajo de Melo-Filho & Melo (1992), en el Atlántico, las especies *Munida stimpsoni*, *M. benedicti*, *M. flinti* y *M. striata* constituyen el complejo *Munida stimpsoni*, y estas especies presentan problemas de identificación debido principalmente a la semejanza morfológica entre las especies y por la utilización de caracteres diagnósticos variables, lo que ha inducido a errores en varios trabajos.

Inicialmente *Munida flinti* fue descrita por Benedict (1902) con base en una serie sintipo de once ejemplares de la estación 2404 del *Albatros*. En la descripción de *Munida stimpsoni*, (Milne-Edwards & Bouvier, 1897) emplearon un ejemplar de *M. flinti* para ilustrar la especie, induciendo a muchos autores a confundir las dos especies (Melo-Filho & Melo, 1992). Además, los caracteres empleados por varios autores (Benedict, 1902; Chace, 1942; Pequegnat & Pequegnat, 1970) para separar *M. flinti* de las especies afines, tales como la espinación de los terguitos abdominales y el largo de las espinas supraoculares, son inadecuados debido a su variabilidad (Melo-Filho & Melo, 1992).

El objetivo principal de este estudio es establecer si existe más de una población de *Agononida longipes* y de *Munida flinti* en el mar Caribe colombiano, basado en las variaciones morfológicas entre los ejemplares colectados en los cruceros *INVEMAR-MACROFAUNA I* y *II*. La caracterización morfológica se realizó a través de los análisis estadísticos multivariantes y métodos de morfometría geométrica, también se realizaron algunas aproximaciones al análisis molecular de las especies, logrando la estandarización del protocolo del método de amplificación de fragmentos genómicos digeridos por enzimas de restricción (AFLP). Finalmente se discutió la posible presencia de barreras biogeográficas que podrían explicar los resultados obtenidos.

## 2 ANTECEDENTES.

En el mar Caribe colombiano uno de los estudios más recientes, fue realizado por la expedición *INVEMAR-MACROFAUNA I* entre 1998 y 1999 en las áreas de la franja superior del talud continental. Con este trabajo se detectó la presencia de cuatro ensamblajes de crustáceos decápodos (Bermúdez, 2000; Cruz, 2001) relacionados con un gradiente de profundidad y uno geográfico, determinados por la abundancia y riqueza de las especies. La evidencia más obvia sugiere que el río Magdalena influye en la formación de los ensamblajes, presentándose un grupo con mayor abundancia y riqueza desde la desembocadura del río hacia el norte hasta la Guajira y otro con una composición de especies diferente y de menor abundancia, que va desde el mismo río hacia el sur hasta el Golfo de Urabá.

En las investigaciones cuyo objetivo es el reconocimiento poblacional, se han empleado diferentes métodos de análisis, combinando la información dada por la morfología con datos moleculares que permiten dilucidar los patrones poblacionales locales. Los primeros estudios realizados para estimar el poder de la información de características genéticas, en la resolución de problemas taxonómicos y filogenéticos, fueron aplicados en aves para determinar grado de parentesco entre poblaciones (Selander, 1971) y en plantas, se demostró que las diferencias genéticas encontradas son consistentes con las predicciones acerca de la estructura poblacional de los taxa, basada en los sistemas de apareamiento, morfología floral, ciclos de vida, tiempo de reproducción y estados sucesionales, demostrando la influencia de los factores ecológicos e historias de vida sobre la estructura de las poblaciones (Loveless & Hamrick, 1984).

Dentro de los principales estudios en organismos marinos, se encuentran los realizados con *Homarus americanus* (Astacidea) y *Balanus glandula* (Cirripedia) en los cuales se detectaron variaciones de alozimas que evidencian una divergencia genética a escalas macro y microgeográficas, debido a la posible diferenciación local de poblaciones conespecíficas a pesar de la dispersión larval (Hedgecock, 1986). En

erizos, los trabajos realizados en el Archipiélago de Indonesia demostró que las especies congénicas tienen un origen reciente, divergiendo desde el Pleistoceno (Palumbi, 1996); y que las poblaciones son heterogéneas genéticamente a pesar del alto potencial de dispersión. Se encontró además, que los patrones de variación del mtDNA son similares a los patrones de la diversidad del total de la fauna, los cuales presentan un gradiente geográfico a lo largo del Archipiélago.

En peces, se compararon las poblaciones simpátricas de dos especies de bagres del río Senegal empleando técnicas morfométricas, variación de alozimas, microsatélites y RFLPs de DNA mitocondrial, las cuales confirmaron la presencia de dos especies *Clarias gariepinus* y *C. anguillaris* ambas estrechamente relacionadas genéticamente y siendo claramente distinguidas por tres de los cuatro métodos empleados (morfometría, alozimas y microsatélites) (Agnèse *et al.*, 1997). En un estudio similar en nueve poblaciones de las mismas especies (*C. gariepinus* y *C. anguillaris*), se encontraron congruencias entre los datos morfométricos y de alozimas en el reconocimiento de las poblaciones (Rognon *et al.*, 1998).

En estudios realizados sobre la variación morfológica en relación con los gradientes geográficos, se encuentra el realizado en diez poblaciones de *Mugil cephalus*, empleando morfometría geométrica para el análisis de la variación morfológica de la especie (Corti & Crosetti, 1996). Los resultados de este estudio sugieren que en parte, el análisis morfométrico refleja el origen geográfico de las muestras, y que la comparación entre caracteres moleculares tales como alozimas y DNA mitocondrial no proveen una evidencia contundente de las causas puramente filogenéticas de los patrones de variación geográfica.

En *Bufo viridis* se encontraron variaciones en el canto y en la morfometría de la especie, que al parecer están relacionadas con un gradiente geográfico (Castellano *et al.*, 1998; Castellano *et al.*, 2000). En estos trabajos, las poblaciones encontradas difieren significativamente con respecto al tamaño y forma del cuerpo, determinando diferencias entre los ejemplares que habitan en regiones más secas que otras, separadas entre si por una gran distancia geográfica, y sugieren que las diferencias



en la forma están más relacionadas con distancias geográficas, que con diferencias ecológicas. Este aislamiento por distancia, juega un papel importante en la determinación de los patrones de variación morfológica entre las poblaciones de la misma especie de *B. viridis* (Castellano *et al.*, 1998).

Para crustáceos, las secuencias de fragmentos de DNA mitocondrial (mtDNA) han resultado útiles en la determinación de diferencias genéticas entre “sibling species” de camarones peneideos. Por medio de las secuencias, se encontró una alta diferencia genética entre especies morfológica y ecológicamente similares (Palumbi & Benzie, 1991). En *Panulirus argus*, se identificaron dos poblaciones diferentes separando la población del Brasil de la del Atlántico occidental y el Caribe, también con base en genes mitocondriales y patrones de coloración (Sarver *et al.*, 1998). Esta separación poblacional podría estar relacionada con la existencia de una barrera geográfica ocasionada por los ríos Orinoco, Amazonas, Tocantins y Parnaíba, debida a la baja salinidad, alta turbidez y la sedimentación originadas por los ríos.

### 3 ÁREA DE ESTUDIO.

#### 3.1 Geomorfología.

El Caribe colombiano está localizado en el extremo nor-occidental de Suramérica; limita al este con Venezuela, en la zona de Castilletes (N 11°50' W 71°18') y al oeste con Panamá, en la zona de Cabo Tiburón (N 08°42' W 77°19'). Tiene una longitud de línea de costa de 1.642 km, (Fig. 1) (Steer *et al.*, 1997; Posada & Rozo, 2002). El área de estudio abarca las ecorregiones Guajira (GUA), Palomino (PAL), Tayrona (TAY), Magdalena (MAG), Archipiélagos Coralinos (ARCO) y Darién (DAR) del mar Caribe colombiano en las franjas batimétricas de 150 y 300 m de profundidad.



**Figura 1.** Ecorregiones del mar Caribe colombiano. Guajira (GUA), Palomino (PAL), Tayrona (TAY) Magdalena (MAG), Archipiélagos Coralinos (ARCO) y Darién (DAR). Proporcionado por la oficina SIG del INVEMAR

Las características geológicas de esta zona fueron originadas por el desplazamiento de la placa tectónica del Caribe hacia el noreste, el hundimiento de la placa bajo el cratón suramericano y el surgimiento definitivo, en el Plioceno, del istmo de Panamá, con el consecuente aislamiento entre el mar Caribe y el océano Pacífico. Las variaciones sucesivas en el nivel del mar en el Pleistoceno contribuyeron a moldear la costa y el precontinente (CORPES, 1992).

La plataforma continental colombiana es variable y los puntos de amplitud máxima y mínima aparecen distribuidos en toda el área. Al norte de Punta Gallinas, en la península de la Guajira, la amplitud es de 10 Km, y aumenta progresivamente en dirección este-oeste hasta un máximo de 40 Km. En el sector de la Sierra Nevada de Santa Marta la plataforma es prácticamente ausente y el talud desciende bruscamente desde la costa. A partir de este punto, la plataforma comienza a ampliarse hacia el oeste, alcanzando una amplitud de 1.2 Km frente al río Magdalena y la máxima de 75 Km frente al Golfo de Morrosquillo (Tabares *et al.*, 1996).

El talud continental comienza a los 200 m y termina aproximadamente a 2700 m de profundidad, en la cuenca colombiana. Hacia el norte de la península de la Guajira el talud desciende en forma regular. Desde el sur de la Guajira hasta Barranquilla el talud presenta un relieve irregular formado por cuatro cañones: Ranchería, Aguja, Magdalena y Turipaná y dos valles: Guajira y Taganga. Desde el cañón Turipaná, ubicado al oeste del río Magdalena, hasta Cartagena, el talud presenta una pendiente constante y una morfología poco accidentada. Entre Cartagena y el Golfo de Morrosquillo se vuelve a presentar un relieve irregular caracterizado por numerosas colinas y en el extremo sur, el talud continental vuelve a ser regular y desciende con una pendiente suave (Tabares *et al.*, 1996).

### **3.2 Clima.**

El régimen pluviométrico regional depende en mayor grado del paso de la zona de confluencia intertropical (ZCIT) sobre el país (HIMAT, 1985) y la presencia de los vientos Alisios en la región del Caribe colombiano; presentándose dos estaciones

climáticas principales determinadas por la acción de los vientos del noreste. La estación seca se presenta durante los meses de influencia de los vientos, que ocurre entre diciembre y mayo; y la estación húmeda se manifiesta en ausencia de ellos, de junio a noviembre. Los vientos Alisios también afectan en forma significativa el patrón de circulación de masas de agua marina y son los causantes directos del fenómeno de surgencia de aguas subsuperficiales, como el que ocurre frente a las costas de la Guajira (Álvarez-León *et al.*, 1995) y Santa Marta (Blanco, 1988). A esta influencia sobre las aguas marinas, se suma el efecto de las perturbaciones atmosféricas denominadas “Easterly waves” ligadas a sistemas de baja presión y huracanes (CORPES, 1992).

### **3.3 Oceanografía.**

En aguas del mar Caribe colombiano se distingue una estratificación de la columna de agua constituida por varias capas: a) aguas superficiales; b) aguas superficiales intermedias; c) aguas intermedias con bajo contenido de oxígeno; d) aguas subantárticas intermedias; y e) aguas profundas del Atlántico norte; de éstas, las tres primeras capas son determinantes en la composición planctónica debido a la concentración diferencial de nutrientes disueltos en cada una. A partir de los 100 m de profundidad las condiciones de segregación en las masas de agua se conservan sin modificar su disposición a lo largo del año, a no ser que algún factor externo al sistema pelágico interfiera en la estratificación y la identidad de las masas de agua, haciendo que varíen en algunos sectores del mar Caribe. La capa de aguas intermedias con un bajo contenido de oxígeno, se separa de la capa subtropical por una termoclina por debajo de los 100 a 200 m, con temperatura promedio de 15° C, y por debajo de los 400 a 600 m de profundidad, disminuyen los valores mínimos de concentración de oxígeno disuelto a 3 ml/L (CORPES, 1992).

Las corrientes en el mar Caribe colombiano son gobernadas por los vientos Alisios y por la corriente del Caribe que pasa al norte de la Guajira con dirección oeste, también influye la contracorriente que se dirige al este desde el golfo de Urabá hasta el Departamento del Atlántico y que se ve acentuada por vientos locales del suroeste, sin embargo, un ligero aumento en la intensidad de los Alisios es suficiente

para frenar su desplazamiento e incluso puede llegar a invertir su dirección. Existen corrientes regionales, como la de Isla de Salamanca con dirección oeste, obligando a las aguas del río Magdalena vertidas por Bocas de Ceniza a dirigirse a mar abierto, impidiendo el transporte superficial costero de sus aguas hacia el este. Los Alisios promueven además corrientes desde la costa hacia mar abierto en áreas donde el perfil de la línea de costa es paralelo a la dirección de los vientos, como ocurre con el litoral que se extiende al este de Santa Marta hasta la Guajira (CORPES, 1992).

### **3.4 Aportes continentales.**

Los principales aportes de agua dulce presentes en la zona de estudio son: el río Magdalena con un caudal promedio de 6500 m<sup>3</sup>/s, el río Atrato, 5000 m<sup>3</sup>/s, el río Sinú (342 m<sup>3</sup>/s), la Ciénaga Grande de Santa Marta (CGSM) (167 m<sup>3</sup>/s) y el río León 111 m<sup>3</sup>/s, (CORPES, 1992). Las aguas del Magdalena son transportadas perpendicularmente a la costa, desde Bocas de Ceniza hacia mar afuera cuando los vientos Alisios son mínimos y en ocasiones continúan al este hacia la Guajira, o al norte, afectando las aguas del Caribe central próximas a Haití, República Dominicana y Jamaica sin llegar a la zona costera del departamento del Magdalena; sin embargo, cuando predominan los Alisios, las aguas del río Magdalena afectan la zona costera al suroeste de Bocas de Ceniza (Blanco, 1988).

Desde el Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT) hasta el norte de la Guajira, los vertimientos de los ríos menores de la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM) influyen en las aguas costeras; y sus máximos de descarga coinciden con los de los demás ríos que desembocan en el mar Caribe colombiano, generalizándose así las condiciones de aportes continentales en todo el litoral desde el mes de junio hasta diciembre (CORPES, 1992).

De no estar presentes los vientos Alisios, se torna predominante la deriva de Coriolis, la cual hace que las aguas descargadas se desplacen con dirección noreste. Esto es más notorio en el caso de las aguas del río Magdalena en mar abierto, de la CGSM y de los ríos de la SNSM en la zona litoral. Por el contrario durante la acción de los vientos, las plumas de los ríos y de la CGSM invierten su curso

distribuyéndose en la bahía de la Ciénaga, y las aguas de los ríos de la sierra logran afectar el sector próximo al PNNT variando las condiciones hidrográficas en superficie (Blanco, 1988).

Por su parte, las aguas del río Atrato y del río León se distribuyen en superficie gracias a una corriente con sentido sur-norte, con velocidades menores de 0.01 m/s, influyendo sobre la zona costera desde Urabá hasta el Departamento de Córdoba. Las aguas descargadas desde el continente sólo se mezclan gradualmente con las marinas, formando capas superficiales de distinta salinidad y originando frentes más o menos definidos. Por la turbidez que conllevan, se reduce el espesor de la capa fótica, limitándose así la productividad en las aguas superficiales (CORPES, 1992).

En resumen las condiciones ambientales superficiales del mar Caribe colombiano están determinadas por: 1) la influencia de los vientos Alisios, de carácter regional con un aumento en intensidad y duración en la parte noreste y decreciendo en sentido suroeste; 2) la surgencia costera, la cual sigue el patrón de los vientos Alisios y muestra un efecto notable en la Guajira y menor intensidad en el sector de Santa Marta y 3) la incidencia de grandes estuarios, especialmente el del río Magdalena y de los pequeños sectores estuarinos asociados a los ríos de la vertiente de la SNSM (CORPES, 1992).

## **4 MATERIALES Y METODOS.**

### **4.1 Colecta de Material.**

El material utilizado fue colectado durante las expediciones *INVEMAR-MACROFAUNA I y II*, y se encuentra depositado en el Museo de Historia Natural Marina de Colombia. Las expediciones se hicieron a bordo del barco de investigaciones *B/I Ancón*, el cual cuenta con un winche con dos tambores, cada uno con 750 m de cable de acero (1.25 cm de diámetro), con aparejos de pesca y una bodega refrigerada de 8 m<sup>3</sup>, para almacenamiento de muestras. Para los arrastres se utilizó una red demersal de cuatro tapas, tipo “semi-ballon”, con dos compuertas metálicas tipo “V” (91 cm x 63 cm) a velocidad de 3 nd y tiempo de 10 min (comenzando desde la finalización del calado y el inicio del izado de la red) en las isobatas 20, 70, 150, 300 y 500 m de profundidad aproximadamente.

### **4.2 Información molecular, morfométrica, morfológica y merística.**

Para la caracterización de las poblaciones de *Agononida longipes* y del complejo *Munida stimpsoni* se emplearon diversas aproximaciones, tales como la merística, la morfometría, la morfometría geométrica y se probaron dos métodos para el análisis de datos genéticos:

#### **4.2.1 Información molecular.**

En los laboratorios de la Justus Liebig Universität en Giessen Alemania se probaron dos técnicas moleculares para la comparación de poblaciones: a) amplificación al azar de DNA polimórfico (Random Amplified Polimorphic DNA -RAPD) y b) amplificación de fragmentos genómicos digeridos por enzimas de restricción (Amplified Fragment Length Polymorphism -AFLP).

##### **4.2.1.1 Extracción de DNA.**

Se aisló el DNA de 40 ejemplares *Agononida longipes* y 40 de *Munida flinti* de 25 mg de tejido muscular del abdomen, mediante el paquete de extracción DNeasy® Tissue (Quiagen Inc.) y siguiendo el protocolo sugerido en la guía de usuario,

posteriormente fueron guardados a -20° C.

#### **4.2.1.2 RAPD.**

El método de RAPD consiste básicamente en la amplificación al azar de ADN polimórfico, mediante el uso de Primers o cebadores de secuencia arbitraria y el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Una vez extraído el DNA, se probaron 17 Primers marca Roth – Random Primer Kit E y Kit J para la amplificación de fragmentos por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Se empleó un blanco control sin DNA, un control con DNA de artrópodos, que amplificaba algunos fragmentos de DNA de otras especies y DNA de las muestras de galatéidos.

#### **4.2.1.3 AFLP.**

El método de amplificación de fragmentos genómicos digeridos por enzimas de restricción (AFLP), es una técnica basada en la amplificación de subgrupos de fragmentos de genómicos usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Vos *et al.*, 1995). Los AFLP involucran tres pasos: 1) restricción del DNA y ligamiento de adaptadores oligonucleótidos, 2) amplificación selectiva de fragmentos de restricción por medio de la PCR y 3) análisis de los fragmentos obtenidos mediante electroforesis de los fragmentos en un gel de poliacrilamida.

### **4.2.2 Información morfométrica, morfológica y merística.**

La merística y morfometría multivariada emplean caracteres que poseen algún significado biológico o funcional para el organismo, pero que no contienen necesariamente información sobre la forma geométrica como distancias, ángulos, relaciones de distancias y áreas (Monteiro & dos Reis, 1999). La mayoría de las variables empleadas en los estudios de morfometría multivariada son usualmente medidas en cm, mm u otras unidades métricas o transformaciones logarítmicas de dichos datos y otras no lineales, como por ejemplo grados de un ángulo (Bookstein, 1990).

Por otro lado, los análisis del cambio en la forma (morfometría geométrica) son un



potencioso complemento para la resolución de problemas taxonómicos (Daniels *et al.*, 2001) y, en la identificación de poblaciones, puede aportar datos útiles que permitan aclarar las interpretaciones biológicas. Estos métodos permiten la identificación de grupos dentro de las especies con dinámicas poblacionales diferentes (Cadrin, 2000). La morfometría geométrica es un método matemático que ofrece la posibilidad de darle un tratamiento estadístico a los caracteres geométricos de las formas biológicas (Bookstein *et al.*, 1985; Bookstein, 1991; Monteiro & dos Reis, 1999) y se define como: “el estudio estadístico de la covarianza entre cambios de forma y factores causales” (Bookstein, 1991) dejando explícito que la morfometría estudia exactamente las causas de las diferencias de forma entre organismos, sean ellas ecológicas o filogenéticas (Monteiro & dos Reis, 1999).

La morfometría geométrica analiza los cambios de la *forma*, definida ésta como “todas las propiedades de una configuración de puntos que no se alteran por efectos del tamaño, posición u orientación” (Bookstein, 1989), obligando a que los datos se den en forma de coordenadas geométricas, que posteriormente pueden ser empleadas en estadística multivariada en análisis tales como: Análisis de Varianza (ANOVA o MANCOVA), Análisis de Componentes Principales (PCA) y Análisis de Correlación Canónica que permiten observar los patrones de distribución de los ejemplares.

#### **4.2.3 Morfometría geométrica.**

Para los análisis de cambio de forma de las especies, se requiere emplear estructuras fijas y puntos anatómicos homólogos en las especies estudiadas, con el fin de reducir los errores debidos a la posición o movimiento de las estructuras, ubicación de los puntos, o interpretaciones inadecuadas de los resultados; tampoco es recomendable usar apéndices corporales para este tipo de análisis (Cadrin, 2000).

En la mayoría de los ejemplares colectados de la familia Galatheidae, las estructuras corporales mejor conservadas y que cumplían los requerimientos anteriores fueron el caparazón y el esternito torácicos de los ejemplares.

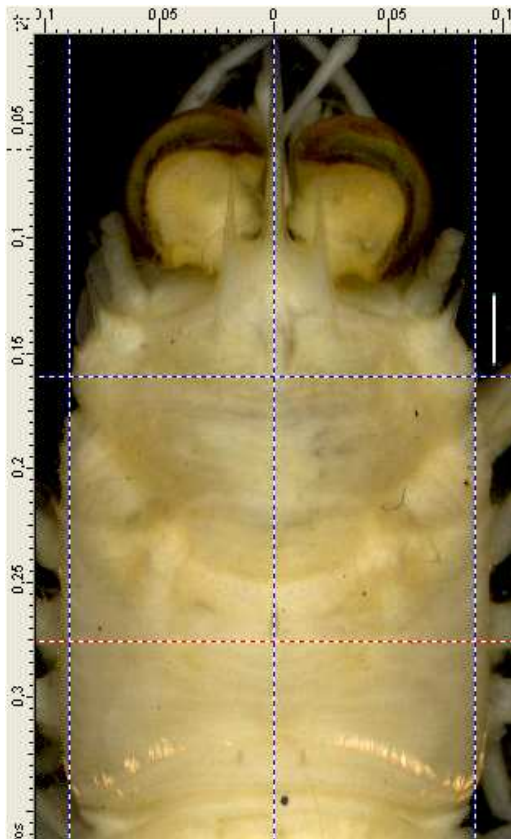
En *Agononida longipes* se emplearon los esternitos torácicos de 259 ejemplares, se

ubicaron 16 puntos anatómicos en la mitad izquierda de los ejemplares, omitiendo la otra mitad para evitar la redundancia de los datos y un posible error debido a la simetría de los ejemplares (Cadrin, 2000).

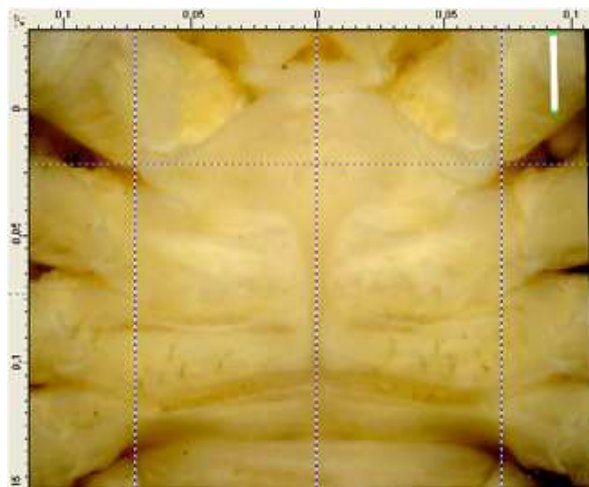
Al igual que para *Agononida longipes*, para los análisis de los 242 ejemplares del complejo *Munida stimpsoni*, se emplearon los esternitos torácicos con los mismos 16 puntos anatómicos. Además se incluyeron los análisis de diez puntos anatómicos sobre el caparazón ya que parece existir, dentro de las especies del complejo *Munida stimpsoni*, una variación en el tamaño del caparazón y la posición relativa de las espinas (Melo-Filho, 1992; Melo-Filho & Melo, 1992), información que podría ser de utilidad en el reconocimiento de poblaciones. El caparazón también permite la ubicación de regiones anatómicas relacionadas con la distribución interna de ciertos órganos como el estomago, las branquias y el corazón, y se pueden asumir como puntos homólogos entre las especies.

#### **4.2.3.1 Obtención de imágenes.**

La obtención de las imágenes digitalizadas se realizó mediante la exploración de cada ejemplar con un scanner Epson de cama plana y resolución 3200 X 3200 dpi, con un acuario adosado, escala 1:1 y a la mayor resolución posible (Reyes & Navas, 2000). Para cada una de las imágenes se revisó la simetría de la imagen para evitar los errores debidos a la posición del ejemplar. Para el caparazón se midió, a la altura de la región epigástrica y la región branquial, la distancia de cada uno de los lados del caparazón hasta la línea media proyectada desde la punta del rostro hasta el borde posterior del caparazón (Fig. 2). Para las imágenes del esternito torácico, se midió la distancia entre el borde distal de la coxa del segundo pereiópodo izquierdo hasta la línea media, proyectada desde la mitad del esternito del tercer maxilípodo hasta el borde posterior de la placa esternal, y se comparó con la distancia entre el mismo punto del lado derecho (Fig. 3). En ambos casos, se asumió un buen balance del ejemplar, cuando la distancia entre las dos mitades de la imagen era semejante o igual ( $\pm 0.1\text{mm}$ ).



**Figura 2.** Criterios para establecer el balance del ejemplar durante la exploración del caparazón con el scanner. Las líneas punteadas muestran la proyección de la línea media desde el rostro hasta el borde posterior del caparazón y los bordes laterales del caparazón a la altura de la región epigástrica.



**Figura 3.** Criterios para establecer el balance del ejemplar durante la exploración del esternito torácico con el scanner. Las líneas punteadas muestran la proyección de la línea media desde la mitad del esternito del tercer maxilípodo hasta el borde posterior de la placa esternal y el borde distal de la coxa de los pereiópodos

En cada una de las imágenes se colocaron las escalas de 1mm y se guardaron en formato TIF, posteriormente se exportaron a formato JPG, sin comprimir y optimización de la conversión 4:4:4, para mantener la calidad de las imágenes. El formato JPG es recomendado en el trabajo con los programas de morfometría geométrica debido al tamaño pequeño de los archivos y la calidad de la imagen. Estas imágenes fueron empleadas posteriormente para formar los archivos de trabajo con los programas de morfometría geométrica.

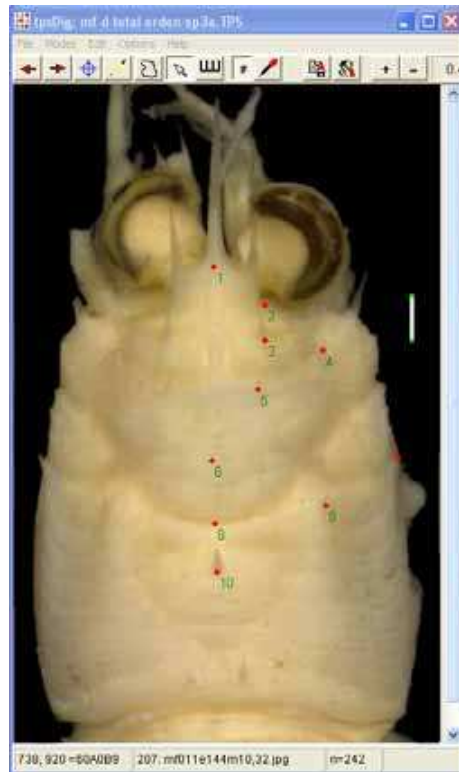
#### **4.2.3.2 Digitalización de puntos anatómicos (“landmarks”).**

Para analizar los cambios en la forma de los esternitos torácicos de las especies analizadas, se usó el método de deformación de grillas (*Thin-plate-spline*) (Bookstein, 1991; Rohlf, 1993); los datos fueron obtenidos y procesados mediante los programas de libre acceso, disponibles en el sitio de Internet <http://www.life.bio.sunysb.edu/morph/index.html> de *Morphometrics at Suny Stony Brook*. Para la creación, digitalización y análisis de los cambios de forma de las especies estudiadas se siguieron los siguientes pasos<sup>1</sup>:

Primero se creó el archivo de imágenes mediante el programa TpsUTIL ver. 1.29 © 2004 (Rohlf, 2004a), en el cual se colocaron los puntos anatómicos (*landmarks*) usando el programa TpsDig ver. 1.40 © 2004 (Rohlf, 2004b). Una vez creado el archivo de las imágenes (Ej. C:/mflinti.tps) se colocaron diez puntos anatómicos en cada una de las imágenes de los caparazones de los ejemplares del complejo *Munida stimpsoni* (Fig. 4), 16 en los esternitos torácicos del complejo *M. stimpsoni* y 16 en *Agononida longipes* (Fig. 5) incluyendo la escala en cada imagen. En total se emplearon 498 ejemplares en los análisis estadísticos, 256 de *A. longipes* y 242 de los ejemplares del complejo *M. stimpsoni*.

---

<sup>1</sup> Con el fin de mantener los términos usados frecuentemente en la literatura y facilitar la comparación con otros trabajos, se colocan entre paréntesis los nombres en inglés de los métodos. Al final del documento se puede encontrar un Glosario con las definiciones de los términos empleados.



**Figura 4.** Ubicación de los puntos anatómicos dorsales en un ejemplar del complejo *Munida stimpsoni*. Caparazón del ejemplar No. mf011, macho, arrastre 144, LC 10,32 mm. Escala 1mm



**Figura 5.** Ubicación de los puntos anatómicos ventrales en un ejemplar del complejo *Munida stimpsoni*. Esternito torácico del ejemplar No. mf071, macho, arrastre 145, LC 13.36 mm. Escala 1mm.

#### 4.2.4 Caracteres morfométricos y merísticos.

Se emplearon 29 variables merísticas (Tabla 1) y 37 morfométricas (Tabla 2) (Figs. 6 – 9) de 254 ejemplares de *Agononida longipes* y 253 ejemplares del complejo

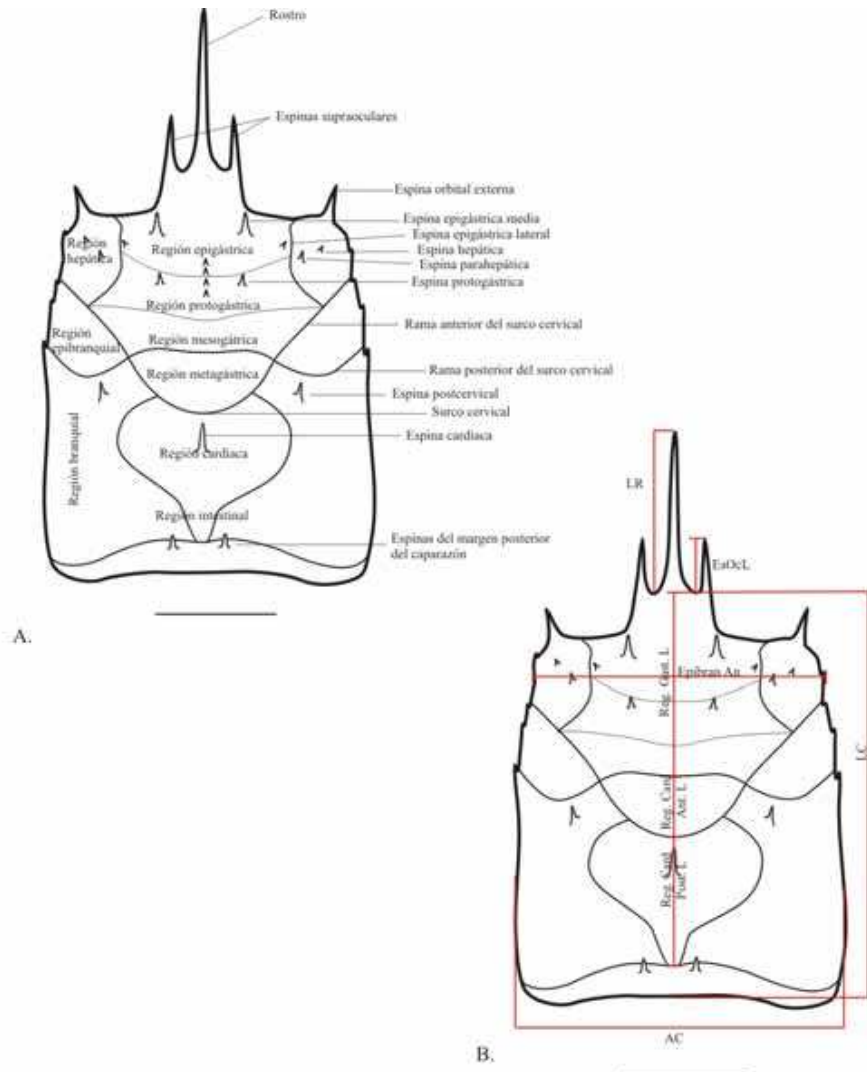
*Munida stimpsoni*. Cada uno de los caracteres morfométricos se midió con un calibrador digital Schneider + Klein precisión de 0.02 mm y un esteroscopio con escala milimétrica de 0.1 mm y se dividieron entre el largo del caparazón (LC) de cada ejemplar.

**Tabla 1.** Variables merística empleadas en los análisis de estadística multivariada en *Agononida longipes* y los ejemplares del complejo *Munida stimpsoni*

	<b>Nombre de la variable</b>	<b>Sigla</b>	<b>Descripción</b>
1	Número de espinas en la región gástrica	Gastric. Esp	Figura 6A
2	Número de espinas postcervicales	Post.Esp	Figura 6A
3	Número de espinas en la región protogástrica	Prot. Esp	Figura 6A
4	Número de espinas en la región metagástrica	Metaga. Esp	Figura 6A
5	Número de espinas en la región cardíaca	Cardíaca Esp.	Figura 6A
6	Número de espinas adicionales a la espina cardíaca en la región mesocardiaca	Mesocarid adic.	Figura 6A
7	Número de espinas en el margen posterior del caparazón	Mg Post C Esp	Figura 6A
8	Número de espinas en el margen lateral de la región hepática	Reg Hep. Esp. Lat	Figura 6A
9	Número de espinas en el margen lateral de la región epibranchial	Reg Epibran. Esp. Lat	Figura 6A
10	Número de espinas en el margen lateral de la región branquial	Reg Bran. Esp. Lat	Figura 6A
11	Número de espinas parahepáticas	Parahep. Esp.	Figura 6A
12	Número de espinas en el lado izquierdo del segundo segmento abdominal	Ab2EspLad Izq	Figura 7A
13	Número de espinas en el centro del segundo segmento abdominal	Ab2EspCentro	Figura 7A
14	Número de espinas en el lado derecho del segundo segmento abdominal	Ab2EspLad der	Figura 7A
15	Número de espinas en el lado izquierdo del tercer segmento abdominal	Ab3EspLad Izq	Figura 7A
16	Número de espinas en el centro del tercer segmento abdominal	Ab3EspCentro	Figura 7A
17	Número de espinas en el lado derecho del tercer segmento abdominal	Ab3EspLad der	Figura 7A
18	Número de espinas en el lado izquierdo del cuarto segmento abdominal	Ab4EspLad Izq	Figura 7A
19	Número de espinas en el centro del cuarto segmento abdominal	Ab4EspCentro	Figura 7A
20	Número de espinas en el lado derecho del cuarto segmento abdominal	Ab4EspLad der	Figura 7A
21	Número de espinas en el margen posterior del cuarto segmento abdominal	Ab4Esp Post	Figura 7B
22	Número de espinas en el primer segmento antenular	A1S1Esp	Figura 8B
23	Número de espinas en el segundo segmento antenular	A1S2Esp	Figura 8B
24	Número de espinas en el tercer segmento antenular	A1S3Esp	Figura 8B
25	Número de espinas en el primer segmento antenal	A2S1Esp.	Figura 8C
26	Número de espinas externas en el segundo segmento antenal	A2S2EspExt	Figura 8C
27	Número de espinas internas en el segundo segmento antenal	A2S2Esp Int.	Figura 8C
28	Número de espinas en el tercer segmento antenal	A2S3	Figura 8C
29	Número de espinas en el cuarto segmento antenal	A2S4	Figura 8C

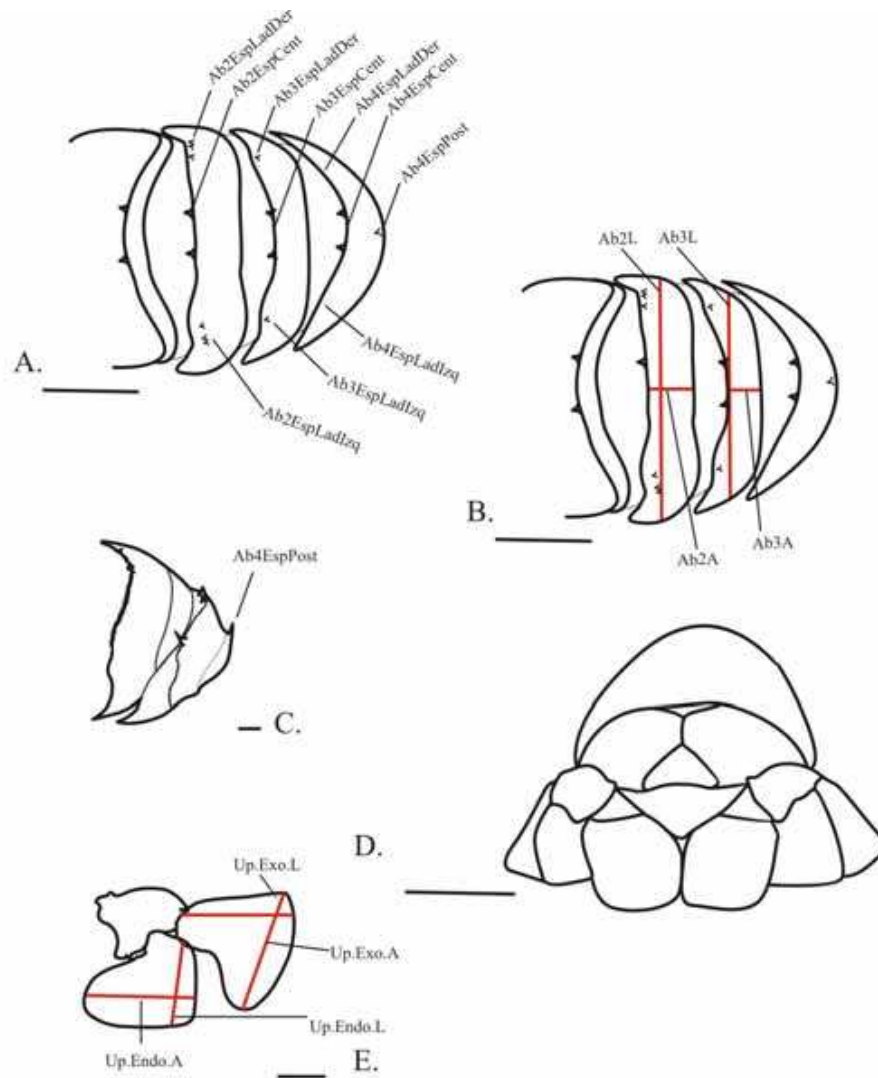
**Tabla 2.** Variables morfométricas empleadas en los análisis de estadística multivariada en *Agonida longipes* y los ejemplares del complejo *Munida simpsoni*

	Nombre de la variable	Sigla	Descripción
1	Longitud del Caparazón	LC	Figura 6B
2	Ancho del Caparazón	AC	Figura 6B
3	Ancho del caparazón en la región epibranchial	EpibranAn	Figura 6B
4	Longitud de la región gástrica	RegGastL.	Figura 6B
5	Longitud de la región cardiaca anterior	RegCardAntL	Figura 6B
6	Longitud de la región cardiaca posterior	RegCardPostL.	Figura 6B
7	Longitud del rostro	LR	Figura 6B
8	Longitud de las espinas supraoculares	EsOcL	Figura 6B
9	Longitud del segundo segmento abdominal	Ab2L	Figura 7B
10	Ancho del segundo segmento abdominal	Ab2A	Figura 7B
11	Longitud del tercer segmento abdominal	Ab3L	Figura 7B
12	Ancho del tercer segmento abdominal	Ab3A	Figura 7B
13	Longitud del exopodito del urópodo	UpExoL	Figura 7E
14	Ancho del exopodito del urópodo	UpExoA.	Figura 7E
15	Longitud del endopodito del urópodo	UpEndoL	Figura 7E
16	Ancho del endopodito del urópodo	UpEndoA	Figura 7E
17	Longitud del pedúnculo ocular	POcL	Figura 8A
18	Diámetro de la córnea	Dco	Figura 8A
19	Longitud del primer segmento antenular	A1LS1	Figura 8B
20	Longitud del tercer segmento antenular	A1S3L	Figura 8B
21	Longitud de la espina antenular externa	A1EsEx	Figura 8B
22	Longitud del cuarto segmento antenal	A2S4L	Figura 8C
23	Longitud del isquio del tercer maxilípodo	Mxp3IsqL	Figura 8D
24	Ancho del isquio del tercer maxilípodo	Mxp3IsqA	Figura 8D
25	Longitud de la espina del tercer maxilípodo	Mxp3EsL	Figura 8D
26	Longitud del dactilo del tercer maxilípodo	Mx3DacL.	Figura 8D
27	Ancho del dactilo del tercer maxilípodo	Mx3DacAn.	Figura 8D
28	Longitud de la quela	QuelaL	Figura 9A
29	Ancho de la quela	QuelaA	Figura 9A
30	Longitud del mero del quelípodo	QpMeroL.	Figura 9A
31	Longitud del carpo del quelípodo	QpCarpoL	Figura 9A
32	Longitud del propodo del quelípodo	QpPalmaL	Figura 9A
33	Longitud del dactilo del quelípodo	QpDacL.	Figura 9A
34	Longitud del mero del segundo pereopodo	2PpMeroL	Figura 9B
35	Longitud del carpo del segundo pereopodo	2PpCarpoL	Figura 9B
36	Longitud del propodo del segundo pereopodo	2PpPropodL	Figura 9B
37	Longitud del dactilo del segundo pereopodo	2PpDacL.	Figura 9B

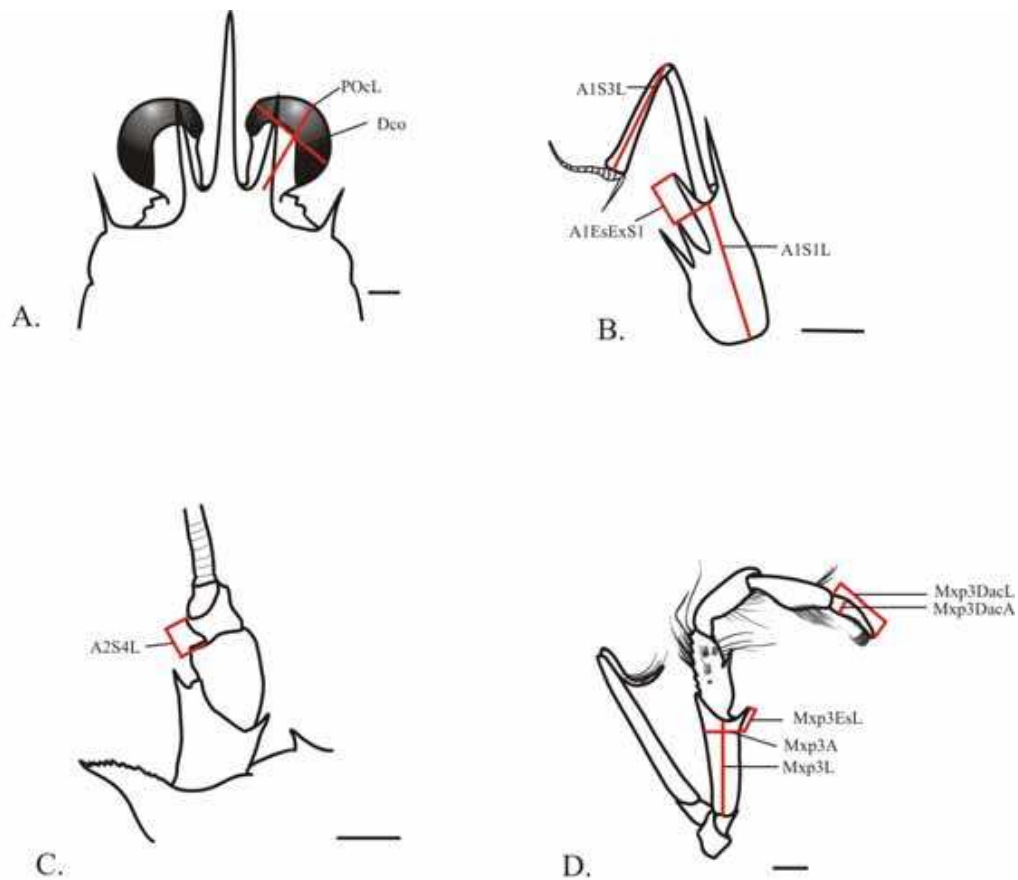


**Figura 6.** Vista dorsal del Caparazón: **A.** Ubicación de las áreas y espinas del Caparazón. **B.** Caracteres morfométricos: Longitud del caparazón (LC), Ancho del caparazón (AC), Ancho del caparazón en la región epibranquial (EpibranAn), Longitud de la región gástrica (Reg.Gast.L), Longitud de la región cardíaca anterior (Reg.Card.Ant.L), Longitud de la región cardíaca posterior (Reg.Card.Post.L), Longitud del rostro (LR), Longitud de las espinas postoculares (EsOcL). Escala 5 mm. Las líneas rojas muestran la manera como se tomaron las medidas.

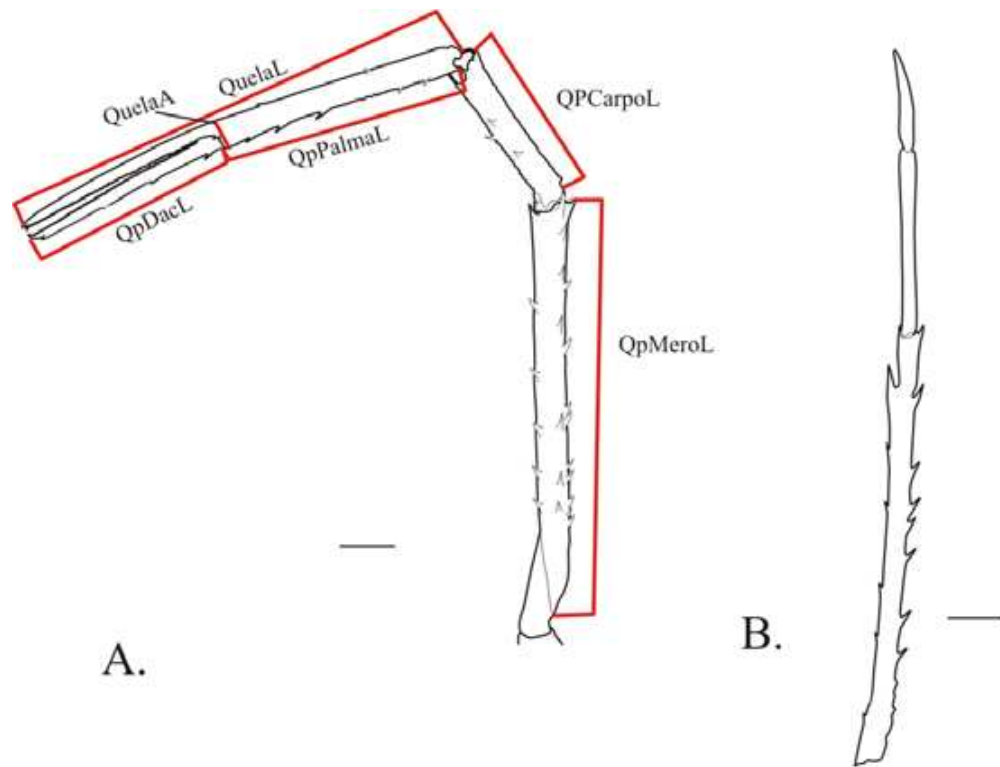




**Figura 7. A. Vista dorsal de los cuatro primeros segmentos abdominales:** Número de espinas en el segundo segmento abdominal: Lado izquierdo (*Ab2EspLadIzq*), centro (*Ab2EspCen*), Lado derecho (*Ab2EspLadDer*). Número de espinas en el tercer segmento abdominal: Lado izquierdo (*Ab3EspLadIzq*), centro (*Ab3EspCen*), Lado derecho (*Ab3EspLadDer*). Número de espinas en el cuarto segmento abdominal: Lado izquierdo (*Ab4EspLadIzq*), centro (*Ab4EspCen*), Lado derecho (*Ab4EspLadDer*). Espina en el margen posterior (*Ab4EspPost*). **B. Vista dorsal de los cuatro primeros segmentos abdominales:** Segundo segmento abdominal: Longitud (*Ab2L*), Ancho (*Ab2A*). Tercer segmento abdominal: Longitud (*Ab3L*), Ancho (*Ab3A*). **C. Vista lateral del tercer y cuarto segmentos abdominales.** **D. Vista dorsal del Telson y los Urópodos.** **E. Detalle del Urópodo derecho.** Largo del Exopodito (*UpExoL*), Ancho del Exopodito (*UpExoA*); Largo del Endopodito (*UpEndoL*), Ancho del Endopodito (*UpEndoA*). Escala A, B y D = 5 mm, C y E = 1 mm. Las líneas rojas muestran la manera como se tomaron las medidas.



**Figura 8. Apéndices.** A. Vista dorsal del frente del caparazón: Longitud del pedúnculo ocular (POcL), Diámetro de la córnea (Dco). B. Anténula: Longitud del primer segmento antenular (A1LS1), Longitud del tercer segmento antenular (A1S3L), Longitud de la espina antenular externa (A1EsExS1). C. Antena: Longitud del cuarto segmento antenal (A2S4L). D. Tercer maxilpedo: Longitud del isquio del tercer maxilpedo (Mxp3IsqL), Ancho del isquio del tercer maxilpedo (Mxp3IsqA), Longitud de la espina del tercer maxilpedo (Mxp3EsL), Longitud del dactilo del tercer maxilpedo (Mxp3DacL), Ancho del dactilo del tercer maxilpedo (Mxp3DacA). Escala 1 mm. Las líneas rojas muestran la manera como de tomaron las medidas.



**Figura 9. A. Quelipedo.** Largo de la quela (QuelaL), Ancho de la quela (QuelaA), Longitud del mero (QpMeroL), Longitud del carpo (QpCarpol), Longitud de la palma (QpPalmaL), Longitud del dactilo (QpDacL). **B. Segundo pereopodo.** Longitud del mero (2PpMeroL), Longitud del carpo (2PpCarpol), Longitud del propodo (2PpPropodL), Longitud del dactilo (2PpDacL). Escala A y B = 5mm.

### **4.3 Comparación entre especies.**

#### **4.3.1 Análisis de morfometría geométrica.**

Con los puntos anatómicos de los esternito torácico de *Agononida longipes* y del complejo *Munida stimpsoni*, se realizó un análisis de mínimos cuadrados (*procrustes fit*) y se generaron los datos de vectores propios (*partial warps scores*) que permiten la comparación de las configuraciones de los puntos anatómicos de las dos especies y generar la matriz “W” (*weight matrix*), en la que cada individuo tiene como variables los puntos anatómicos representados como coordenadas  $x,y$ . Este procedimiento se realizó mediante el programa TpsRelW ver. 1.39 © 2004 (Rohlf, 2004c) y permitió el análisis de componentes principales (PCA) sobre los datos de vectores propios (*partial warps scores*), mostrando la distribución de cada uno de los individuos en un espacio de coordenadas cartesianas.

#### **4.3.2 Morfometría y merística.**

Con la matriz de datos morfométricos y merísticos de los ejemplares de *Agononida longipes* y los del complejo de *Munida stimpsoni*, se realizó un análisis de componentes principales y un análisis discriminante. Además se realizó un análisis factorial para establecer que variables tenían mayor influencia en la separación entre especies. Cada una de las variables morfométricas se dividió entre la longitud del caparazón de los individuos para eliminar el efecto del tamaño en la separación de especies.

#### **4.3.3 Determinación de alometría.**

Dentro del grupo de los decápodos, se ha determinado que varias especies tienen crecimiento alométrico (Templeman, 1935; Alunno-Bruscia & Sainte-Marie, 1998; Díaz *et al.*, 2000; Hartnoll, 2001; Castilho *et al.*, 2004; Hirose & Negreiros-Fransozo, 2004), definido como los cambios en la forma corporal como respuesta a los cambios en el tamaño del animal (<http://www.zoo.utoronto.ca/able/volumes/vol-20/1-colton/scalingtutorial/isometric.html>).

Para determinar si existe o no alometría en las especies, usualmente se busca la correlación entre el largo del cuerpo, el largo del caparazón y las relaciones talla/peso, u otro tipo de variables morfológicas. En los análisis de morfometría geométrica se emplea comúnmente el *centroide* por ser considerado un buen descriptor de forma (Bookstein, 1996; Slice *et al.*, 1996). Con base en este supuesto, se realizó un análisis de correlación (*Spearman*), para establecer si existe o no un crecimiento alométrico en las especies, para ello se emplearon como variables independientes la longitud del caparazón (LC) y *centroide*, y como variables dependientes los componentes uniformes de forma *UniX* y *UniY* en el programa STATISTICA © (StatSoft, 1984-2002). Como criterio de decisión se utilizó el valor del índice de correlación y la significancia, en donde los índices de correlación altos (>0.5) y las probabilidades significativas (<0.05), indican que el cambio en la forma es alométrico a ese nivel del análisis de forma (P. Ej. ese componente) y cambia dependiendo del incremento en el tamaño de los ejemplares (Birch, 1999).

#### **4.4 Delimitación de poblaciones.**

##### **4.4.1 Morfometría geométrica.**

En *Agononida longipes* y en los ejemplares del complejo *Munida stimpsoni* se extrajeron las coordenadas cartesianas de cada uno de los puntos anatómicos digitalizados, guardando los datos en un archivo de texto con formato NTS, proporcionado por el programa TpsDig Ver 1.40. Esta matriz de coordenadas se utilizó en el programa MOGWin Ver 2 © (Dujardin, 2003) para realizar la traslación, escalamiento y rotación de los puntos anatómicos de cada uno de los ejemplares de las especies en estudio y extraer los vectores propios de cada individuo. Con esta matriz de vectores propios, se realizó un análisis de similaridad a dos vías cruzado (ANOSIM) de las distancias euclidianas entre muestras, en el programa PRIMER 5 Ver. 5.2.2 © (Primer-E, 2001). Este análisis prueba las hipótesis nulas de:

Ho: No hay diferencias significativas entre los ejemplares de cada grupo.

Ho: No hay diferencias significativas entre sexos.

y realiza una comparación del efecto de los dos factores simultáneamente en la separación de los grupos, e indica las diferencias significativas entre ellos.

Posteriormente se realizó un análisis discriminante (AD) para corroborar los resultados obtenidos con el ANOSIM, ya que este último no es un método empleado frecuentemente para probar las diferencias significativas entre grupos, empleando los vectores propios como variables. El análisis discriminante se realizó con el programa PADWin\_47 Ver. 2 (Dujardin, 2002), que evalúa la significancia estadística de las distancia de Mahalanobis entre los grupos.

Para *Agononida longipes* se emplearon 252 ejemplares (colectados a 300 m de profundidad) y se definieron cinco grupos *a priori*: 1) 93 ejemplares de la ecorregión Guajira (GUA), 2) 48 en Palomino (PAL), 3) 18 en Darién (DAR), 4) los ejemplares de la ecorregión Magdalena se subdividieron en dos grupos, 96 colectados en estaciones ubicadas hacia la parte norte del río Magdalena (MAGn) y 5) 24 colectados en las estaciones ubicadas hacia el sur de la desembocadura del río (MAGs), esta subdivisión se realizó con el fin de probar si existe alguna influencia significativa del río Magdalena en la separación entre poblaciones.

Para *Munida flinti* se emplearon 144 ejemplares (colectados a 150 m de profundidad) y se definieron cinco grupos *a priori*: 1) 24 ejemplares colectados en la ecorregión de Palomino (PAL), 2) 23 de la ecorregión Tayrona (TAY), 3) 66 en la región de Archipiélagos Coralinos (ARCO), 4) 20 en Darién (DAR) y 5) 11 ejemplares en Magdalena (MAG) los cuales no se separaron por presentarse todos en la misma estación ubicada en frente de la desembocadura del río.

La mayoría de los ejemplares de la especie *Munida stimpsoni* se colectaron en las ecorregiones Archipiélagos Coralinos (ARCO) y Darién (DAR), y solamente ocho ejemplares fueron colectados en la parte norte del Caribe colombiano. Este limitado número de ejemplares en la parte norte no permite la comparación a nivel de poblaciones en la especie.

#### **4.4.2 Morfometría y merística.**

Para establecer las diferencias entre las poblaciones dentro de cada una de las

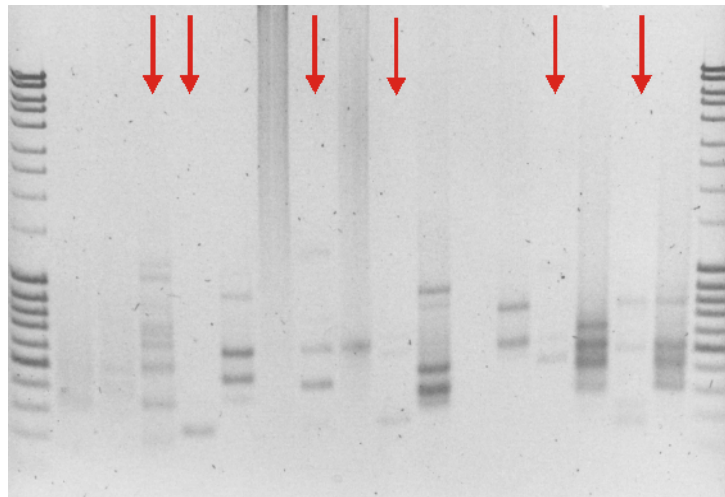
especies, se utilizaron los mismos ejemplares y grupos de *Agononida longipes* y de *Munida flinti* empleados para los análisis de morfometría geométrica. Las variables estandarizadas (divididas entre el LC de los ejemplares) se sometieron a un PCA y un AD con el programa STATISTICA ver. 6 (StatSoft, 1984-2002). Además se hizo un análisis factorial para determinar cuáles variables son las responsables de la separación entre grupos. *Munida stimpsoni* se excluyó de los análisis poblacionales por no presentarse en toda el área de estudio.

## 5 RESULTADOS.

### 5.1 Datos moleculares.

#### 5.1.1 RAPD.

Durante los ensayos se observó la formación de bandas en los blancos de control sin DNA que fueron causadas por la polimerización de los Primers (Fig. 10). Debido a esto, cada una de las secuencias de los Primers se analizó empleando el programa VECTOR NTI 7 (1994-2001 InforMax Inc.) el cual calcula la estabilidad de los posibles dímeros o polímeros formados durante el proceso con el fin de excluir los Primers, que podrían formar polímeros.



**Figura 10.** Gel de agarosa que muestra las bandas de fragmentos de DNA amplificados al azar para *Munida flinti*. Los pozos señalados con flechas rojas muestran los blancos de control sin DNA.

Se escogieron así siete posibles Primers que no mostraban alta probabilidad de formar polímeros y se probaron seis protocolos de PCR para la amplificación de DNA, incluyendo un PCR con reducción gradual de la temperatura de amplificación (ramped PCR).

Aunque se logró la estandarización del método, empleando el ramped PCR y dos de los 17 Primers originales, siguieron apareciendo en algunos casos, bandas de dímeros



en el control sin DNA y no siempre los resultados fueron repetibles. Debido a estos problemas se decidió probar la técnica de AFLP que permite mayor seguridad en la obtención de bandas y mayor reproducibilidad de los resultados.

### **5.1.2 AFLP.**

Se realizaron pruebas con diez Primers diferentes y tres protocolos de amplificación de fragmentos de DNA, con dos especies de galatéideos, cuatro de moluscos y dos de aves, con el fin de detectar cuáles Primers podrían funcionar. Hasta el momento, solamente se ha logrado la estandarización del protocolo adecuado para la obtención de fragmentos genómicos digeridos por enzimas de restricción (AFLP) el cual será empleado en análisis poblacionales posteriores.

#### **5.1.2.1 Protocolo para AFLP.**

**1. Paquete de preparación AFLP® DNA template LI-COR:** Se diluyó en agua bidestilada (ddH<sub>2</sub>O) el DNA de manera que quedara aproximadamente 100 ng de DNA en 9 µl de solución.

**2. Digestión de restricción del DNA genómico:** Se agregaron los siguientes reactivos a un tubo de PCR de 0.2 ml (**en hielo**):

<b><u>COMPONENTES:</u></b>	<b><u>Volumen:</u></b>
5X buffer de reacción	2.5 µl
Template DNA (100ng en ≤9µl)	9.0 µl
Mezcla de enzimas EcoR1/Mse1	1.0 µl
Agua desionizada	completar a 12.5 µl
<b>Volumen total:</b>	<b>12.5 µl</b>

Se mezcló bien y se incubó la mezcla a 37° C por 2 horas. Luego se inactivaron las enzimas de restricción al calentarlas a 70° C por 15 min y se colocaron los tubos en hielo.

**3. Ligación de Adaptadores:** Se agregaron los siguientes reactivos a los tubos del paso 2 (**en hielo**):

<b>COMPONENTES:</b>	<b>Volumen:</b>
Mezcla de Adaptadores	12.0 $\mu$ l
T4 DNA ligasa	0.5 $\mu$ l
<b>Volumen combinado</b>	<b>25.5 <math>\mu</math>l</b>

Se mezcló completamente y se incubó la mezcla a 20° C por 2 horas.

Se realizó una dilución 1:10 de la mezcla de ligación, transfiriendo 10  $\mu$ l de la mezcla a un nuevo tubo de PCR, y se agregaron 90  $\mu$ l de TE buffer.

**4. Pre-amplificación:** Se agregaron los siguientes reactivos a un nuevo tubo de 0.2 ml para PCR (**en hielo**):

<b>COMPONENTES:</b>	<b>Volumen:</b>
Mezcla de ligación diluida ( <b>paso 3</b> )	2.5 $\mu$ l
Mezcla de AFLP® Pre-amp primer	20.5 $\mu$ l
Buffer de reacción de PCR (10X)	2.5 $\mu$ l
Taq DNA polimerasa (5 unidades/ $\mu$ l)	0.5 $\mu$ l
<b>Volumen total</b>	<b>25.5<math>\mu</math>l</b>

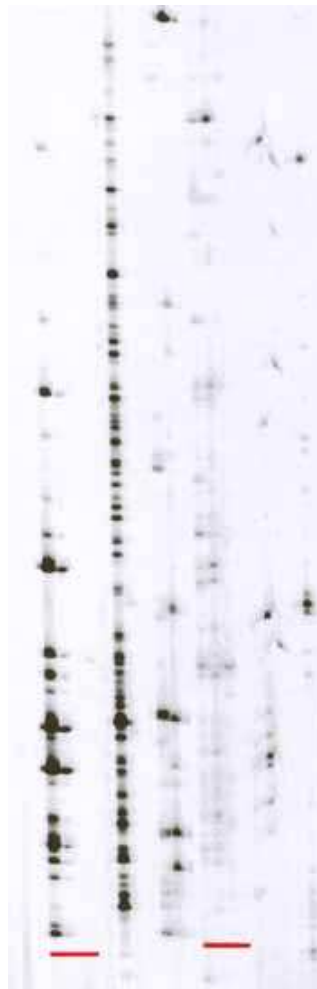
Se realizaron 20 ciclos a 94° C por 30 seg, 56° C por 1 min, y 72° C por 1 min, y se guardó a 4° C. El producto de la PCR de la mezcla de pre-amplificación se diluyó 1:20 transfiriendo 10  $\mu$ l de la mezcla a un nuevo tubo de PCR, y se agregaron 190  $\mu$ l de ddH<sub>2</sub>O.

**5. Amplificación selectiva de AFLP:** Se mezclaron 5  $\mu$ l de DNA pre-amplificado con 15  $\mu$ l de la solución de amplificación

<b>COMPONENTES:</b>	<b>Volumen:</b>
Mezcla de dNTP (2mM)	2 $\mu$ l
Buffer 10X (incluye 15mM MgCl <sub>2</sub> )	2 $\mu$ l
M- Primer	0.3 $\mu$ l
E- Primer	0.1 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	11.5 $\mu$ l
Taq polimerasa	0.08 $\mu$ l
<b>Volumen total</b>	<b>15.98<math>\mu</math>l</b>

Se realizó una PCR con 13 ciclos a 94° C por 10 seg (desnaturalización), 65° C por 30 seg (anillado) disminuyendo 0.7° C por ciclo después del primer ciclo, 72° C 60 seg (extensión). Seguidos por 25 ciclos 94° C por 10 seg, 56° C por 30 seg (anillado), 72° C por 60 seg (extensión), más 1 seg por ciclo. Finalmente un ciclo de 72° C por 2 min (extensión final) y se guardó a 4° C.

Con dos de los diez Primers probados, se logró una amplificación aceptable de los fragmentos de restricción del genoma de galateideos y de moluscos (Fig. 11), pero aun no se tienen datos adecuados para hacer los análisis poblacionales en las especies de estudio.

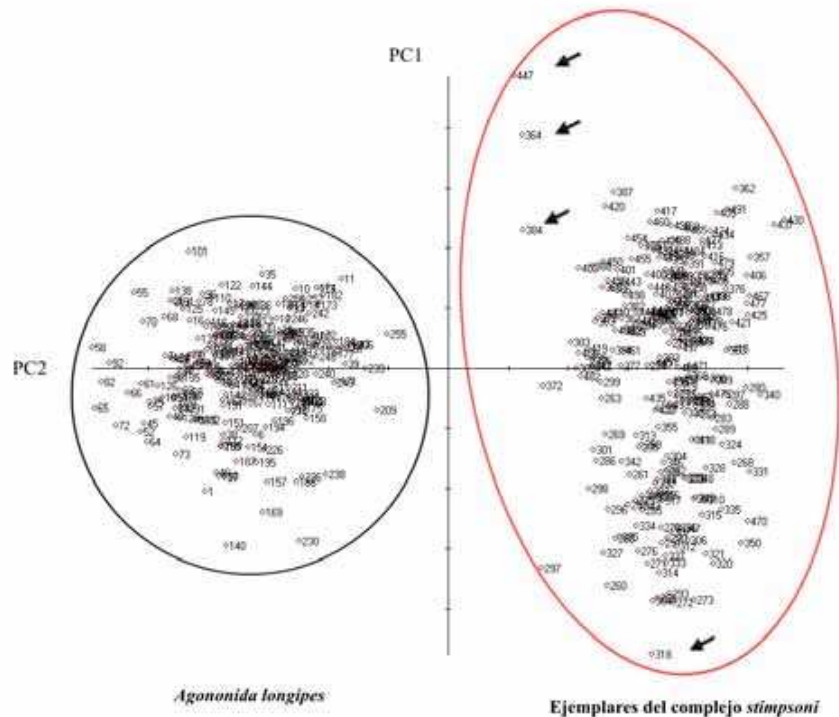


**Figura 11.** Resultados de la estandarización de la amplificación de fragmentos genómicos digeridos por enzimas de restricción (AFLP). Las bandas rojas señalan los pozos en donde se encuentran muestras de DNA de galatéideos. En los otros pozos se colocaron muestras de DNA de otros organismos como control positivo.

## 5.2 Comparación entre especies.

### 5.2.1 Análisis de morfometría geométrica.

El PCA de los esternitos torácicos de *Agononida longipes* y de los ejemplares del complejo *Munida stimpsoni*, mostró que los tres primeros componentes (PC1, PC2 y PC3) explican el 78,25 % de la variación en la forma del esternito torácico de los ejemplares de *Agononida longipes* y del complejo *M. stimpsoni*. El primero (PC1) explica el 62.42 % de la variación, el segundo (PC2) el 8.89 % (Fig. 12), el tercero (PC3) 6.95 % y el cuarto (PC4) 3.82 %, y disminuyendo en los siguientes componentes. La figura 12 muestra la distribución de los ejemplares de los dos grupos con respecto al primer y segundo componentes.

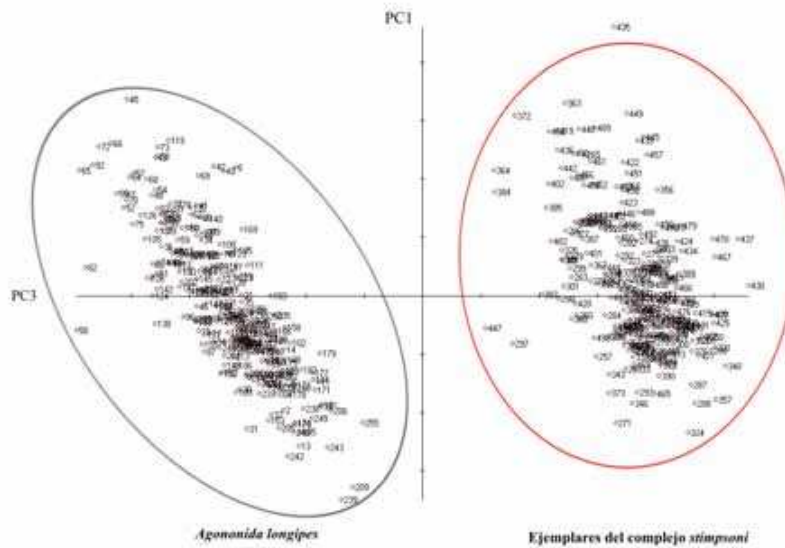


**Figura 12.** Ordenación de las variaciones en la forma del esternito torácico explicadas por el PC1 y el PC2 para los ejemplares de *Agononida longipes* y del complejo *Munida stimpsoni*. Las flechas señalan ejemplares que se separan del grupo general.

Para *Agononida longipes* la mayoría de los ejemplares se concentran alrededor del eje del segundo componente y parece existir un comportamiento similar en la variación de la forma del esternito torácico en toda la población de la especie. En el caso del complejo *Munida stimpsoni* se observan varios ejemplares muy distantes del

grupo general (p. e. 447, 364 y 384 arriba, y 318 abajo del eje del segundo componente), señalados con flechas en la figura 12 y una posible separación de los ejemplares en dos grupos, el primero conformado por los ejemplares ubicados por encima del eje del segundo componente; y el otro grupo conformado por los ejemplares que están por debajo del eje.

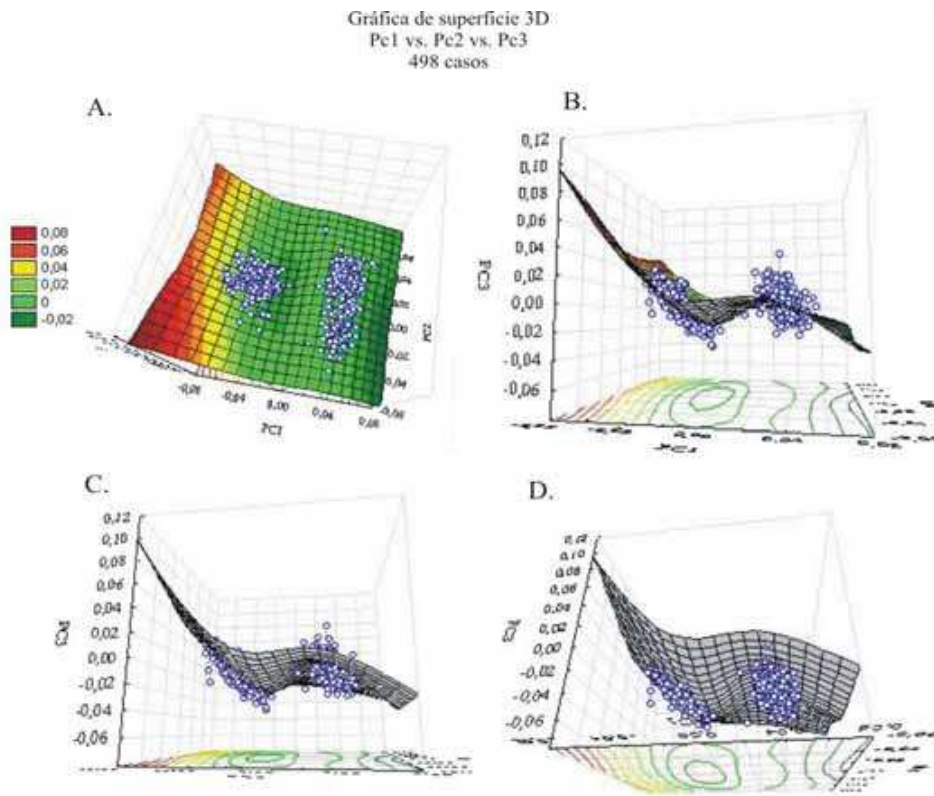
En la figura 13 se muestra la ordenación para el PC1 y el PC3, en donde se observa un patrón de distribución de los ejemplares de *A. longipes*, determinado por el tamaño, colocando a las hembras ovadas por encima del eje del PC3 y los machos por debajo. En el caso de los ejemplares del complejo *Munida stimpsoni*, los patrones de distribución de los ejemplares, no muestran una segregación de éstos en relación con el sexo, presentándose hembras ovadas y no ovadas, mezcladas con los machos en la zona adyacente al eje del PC3.



**Figura 13.** Ordenación de las variaciones en la forma del esternito torácico explicadas por el PC1 y PC3 para los ejemplares de *Agonida longipes* y del complejo *Munida stimpsoni*.

Con el programa STATISTICA ver. 6.0. (StatSoft, 1984-2002), se analizó el efecto de los tres primeros componentes principales simultáneamente, mediante la gráfica de Distancia Ponderada de Mínimos Cuadrados (*Distance-Weighted Least Squares*

*Fitting*) (Fig. 14). La gráfica de distancia ponderada de mínimos cuadrados delinea una superficie para los datos, empleando una regresión polinomial (de segundo orden), calculada para cada valor sobre la escala de la variable  $X$  y determina el correspondiente valor  $Y$ , tal que la influencia del dato individual en los puntos de la regresión, disminuyan con cada una de las distancias desde el valor particular  $X$ . Este tipo de análisis provee un método sensible para revelar los patrones no sobresalientes de los datos.

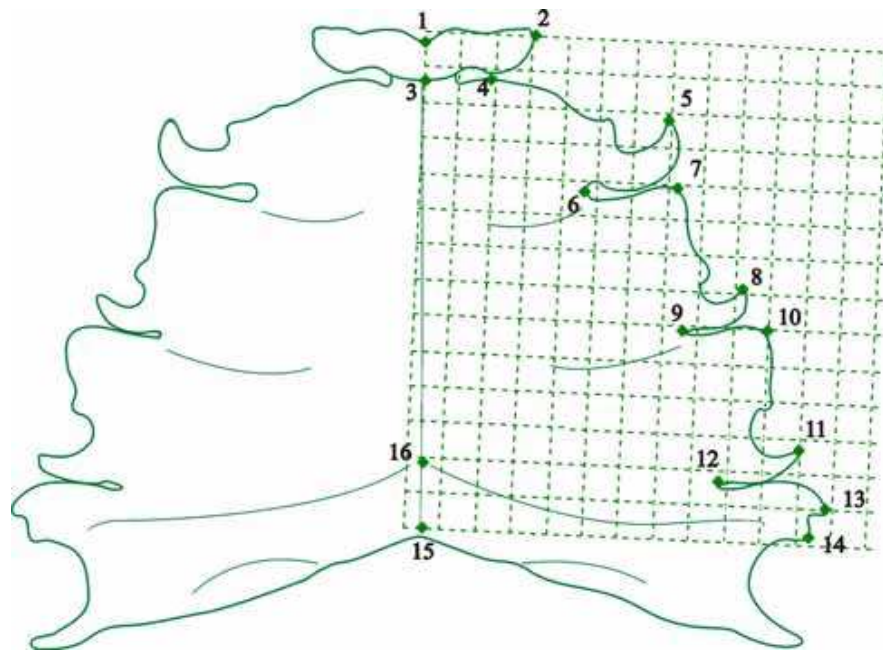


**Figura 14.** Ordenación de los ejemplares de *Agononida longipes* y del complejo *Munida stimpsoni* según los tres primeros componentes principales. La superficie de color es la ordenación de los individuos debida a la variable PC3 y es representada en colores correspondientes a los valores del eje Z. Siempre el grupo de la izquierda de la gráfica corresponde a ejemplares de *A. longipes* y el de la derecha a *M. stimpsoni*. A - D. Rotación de la gráfica en diferentes ángulos para observar varias perspectivas de la ordenación. Se suprimieron los nombres de los ejemplares para mayor claridad en la grafica.

El grupo del lado izquierdo de la figura, muestra a los ejemplares de *Agononida longipes* cerca al valor 0,0 del eje del segundo componente principal (PC2) y al grupo de los ejemplares del complejo *Munida stimpsoni* con una amplia dispersión

de los ejemplares, sugiriendo una gran variación en las formas. Perspectivas diferentes de la misma agrupación, muestran el efecto del tercer componente (PC3) en la distribución de los ejemplares de cada una de las especies.

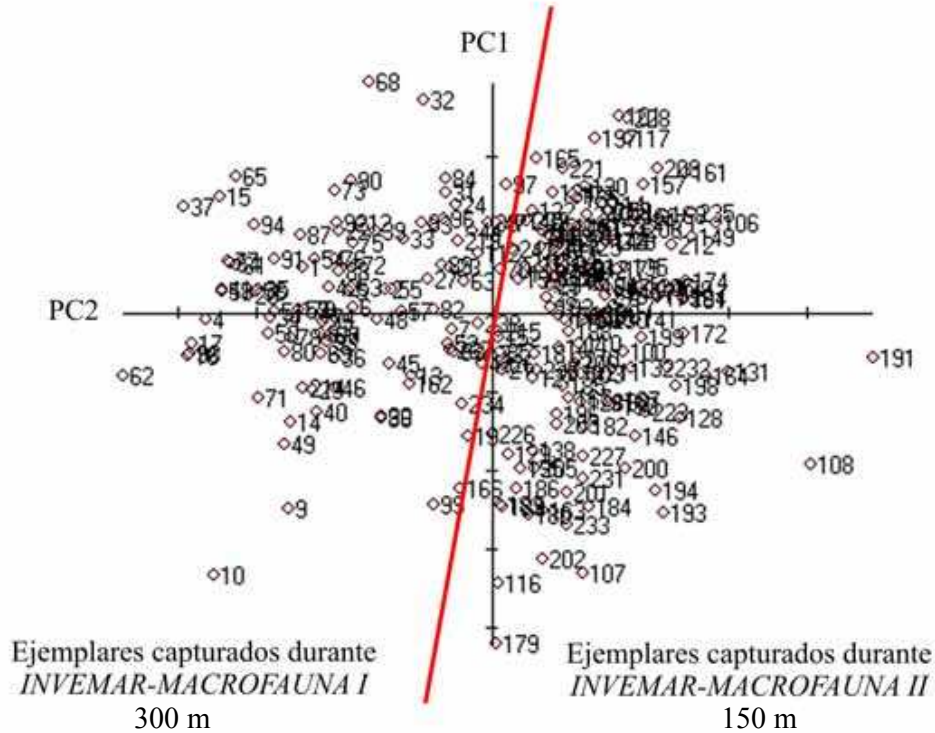
En *Agononida longipes* los patrones de distribución muestran nuevamente a las hembras ovadas por encima del eje del PC3 (representado por la superficie) y a los machos y hembras no ovadas por debajo. Una representación de la forma promedio de los ejemplares de *Agononida longipes* se muestra en la figura 15.



**Figura 15.** Representación de la forma promedio (*centroide*) de los puntos anatómicos en los ejemplares de *Agononida longipes*

El PCA de los esternitos torácicos individuales de los ejemplares del complejo *Munida stimpsoni*, no mostró una formación clara de grupos, sin embargo, los ejemplares que fueron capturados durante la expedición *INVEMAR-MACROFUANA I* a 300 m de profundidad, se ubicaron todos hacia el lado izquierdo del PC1 y los capturados en *INVEMAR-MACROFUANA II* a 150 m de profundidad, hacia el lado derecho (Fig. 16). Durante la expedición *INVEMAR-MACROFUANA II* se realizaron algunos arrastres a 300 y 500 m, los ejemplares del complejo *M. stimpsoni* colectados a estas profundidades, se ubicaron junto con los de *INVEMAR-Macrofauna I* al lado izquierdo del PC1. De acuerdo con el análisis, los tres primeros

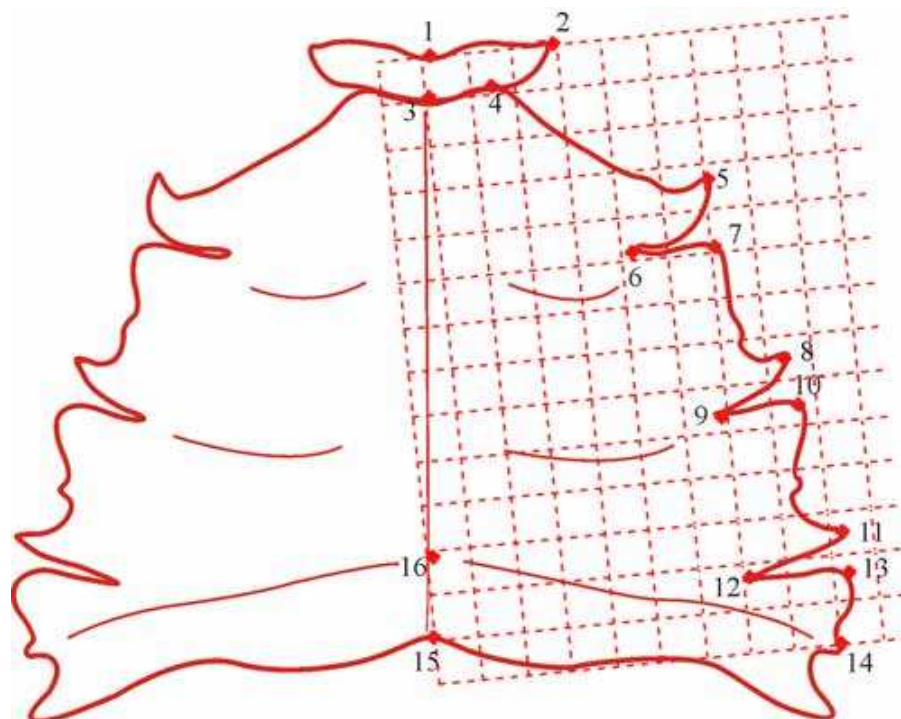
componentes principales explican el 53.28 % de la variación de la forma del esternito torácico.



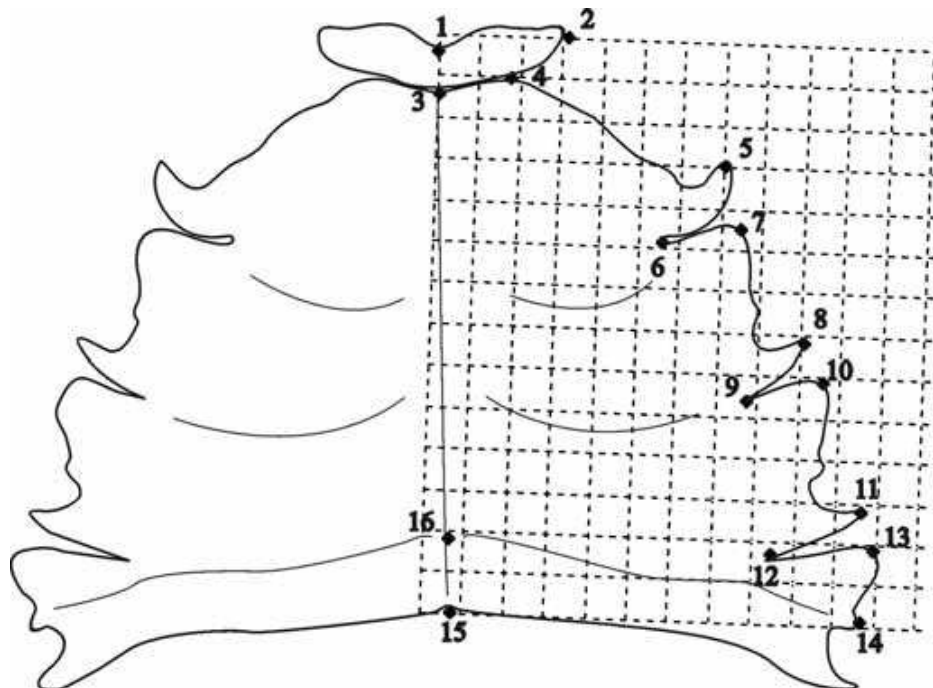
**Figura 16.** PCA de los ejemplares del complejo *Munida stimpsoni* según los puntos anatómicos de los esternitos torácicos.

La visualización de la ubicación de los puntos anatómicos permite caracterizar la forma del esternito torácico de los ejemplares del grupo capturado durante la expedición *INVEMAR-MACROFAUNA I* (Fig. 17), el cual es más estrecho y largo que los ejemplares que se colocan al lado derecho del eje del PC2 capturados en la expedición *INVEMAR-MACROFAUNA II* (Fig. 18).



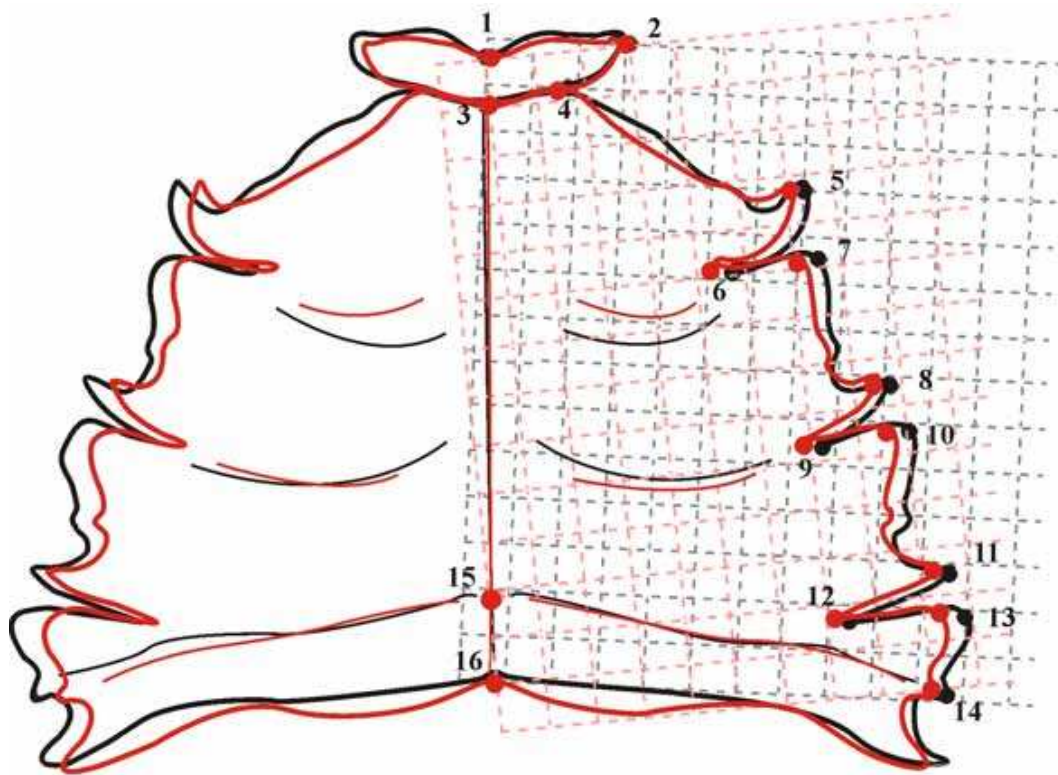


**Figura 17.** Representación de la forma promedio (*centroide*) del esternito torácico de los ejemplares del complejo *Munida stimpsoni* colectados durante *INVEMAR- Macrofauna I* (300 m de profundidad).



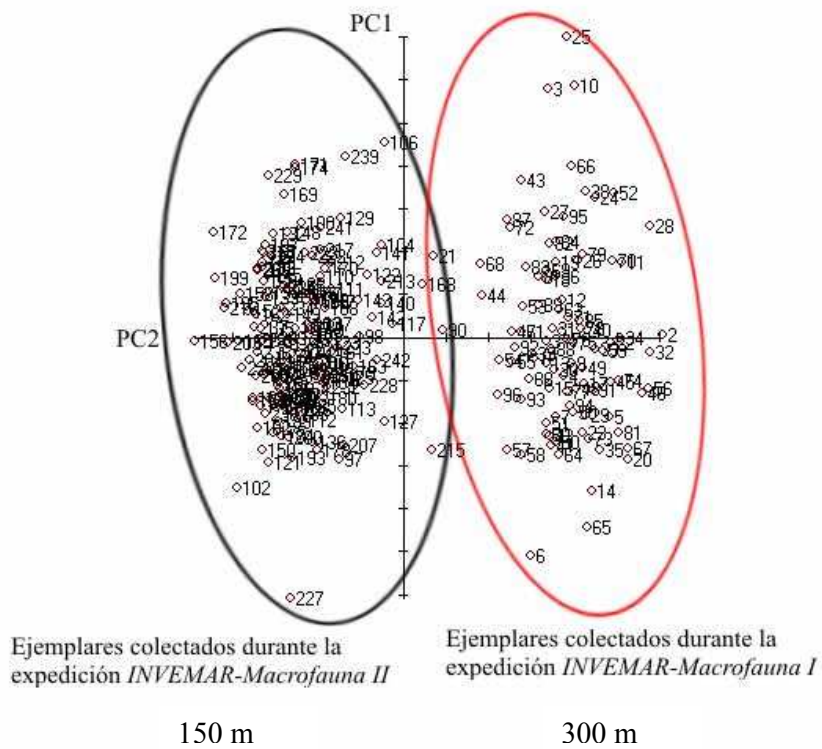
**Figura 18.** Representación de la forma promedio (*centroide*) del esternito torácico de los ejemplares del complejo *Munida stimpsoni* colectados durante *INVEMAR- Macrofauna II* (150 m de profundidad).

La superposición de las representaciones de la forma promedio de los esternitos torácicos de los dos grupos (Fig. 19), fue realizada alineando las formas promedio de cada uno de los grupos, de acuerdo con los puntos anatómicos 1 y 3 y unificando las escalas con respecto a los puntos 1, 3, 15 y 16 con el fin de evitar el efecto del tamaño en la representación.

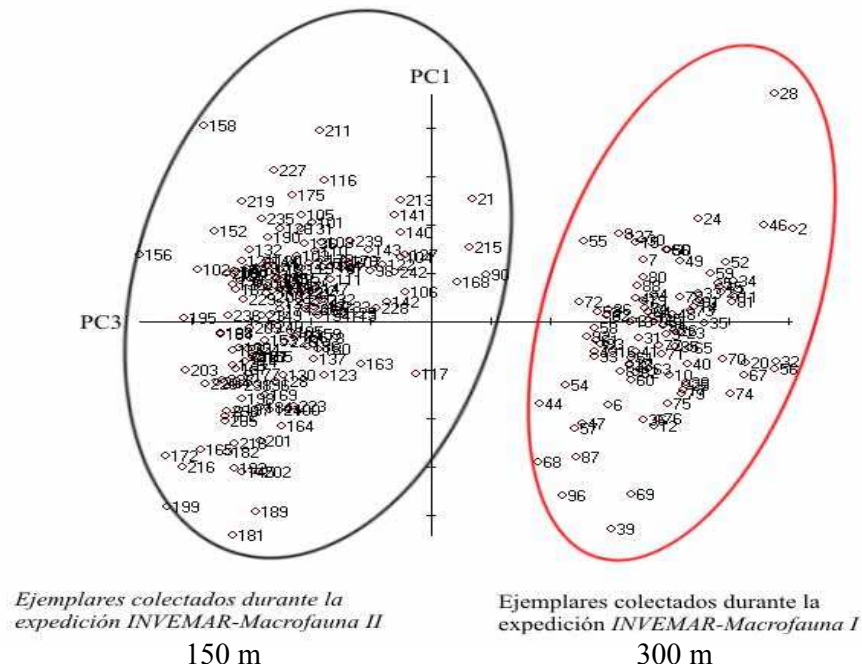


**Figura 19.** Superposición de las representaciones de la forma promedio (*centroide*) del esternito torácico de los ejemplares del complejo *Munida simpsoni*, colectados durante *INVEMAR-Macrofauna I* (rojo) y *II* (negro).

El PCA de los puntos anatómicos ubicados en el caparazón de los ejemplares del complejo *Munida simpsoni*, mostró una mejor separación de los ejemplares en dos grupos, determinados por los cuatro primeros componentes principales. Estos cuatro primeros componentes explican un 68 % de la variación en la forma del caparazón, el primero (PC1) explica el 39,13 %; el segundo (PC2), el 13,77 % (Fig. 20); el tercero (PC3) el 8,62 % (Fig. 21); y el cuarto (PC4), el 6,75 %, disminuyendo en los siguientes componentes.

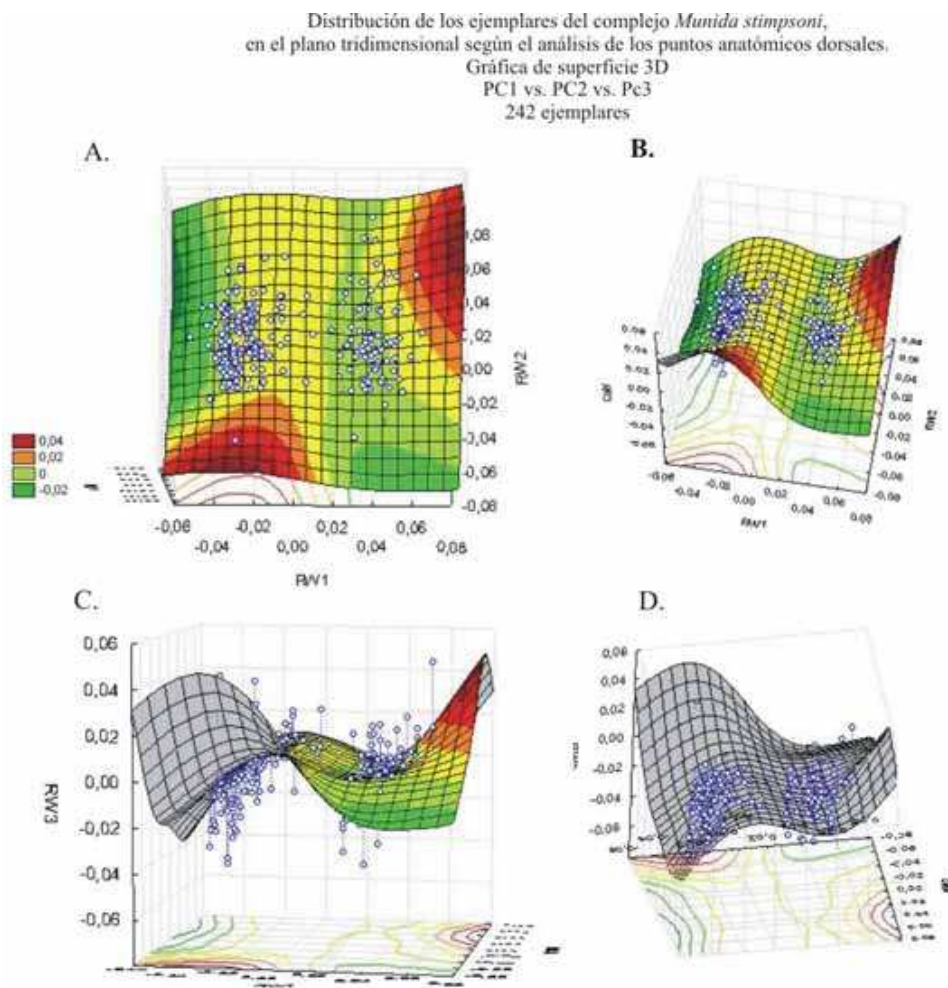


**Figura 20.** Ordenación de las variaciones en la forma del caparazón explicadas por el PC1 y el PC2 para los ejemplares del complejo *Munida simpsoni*.



**Figura 21.** Ordenación de las variaciones en la forma del caparazón explicadas por el PC1 y el PC3 para los ejemplares del complejo *Munida simpsoni*.

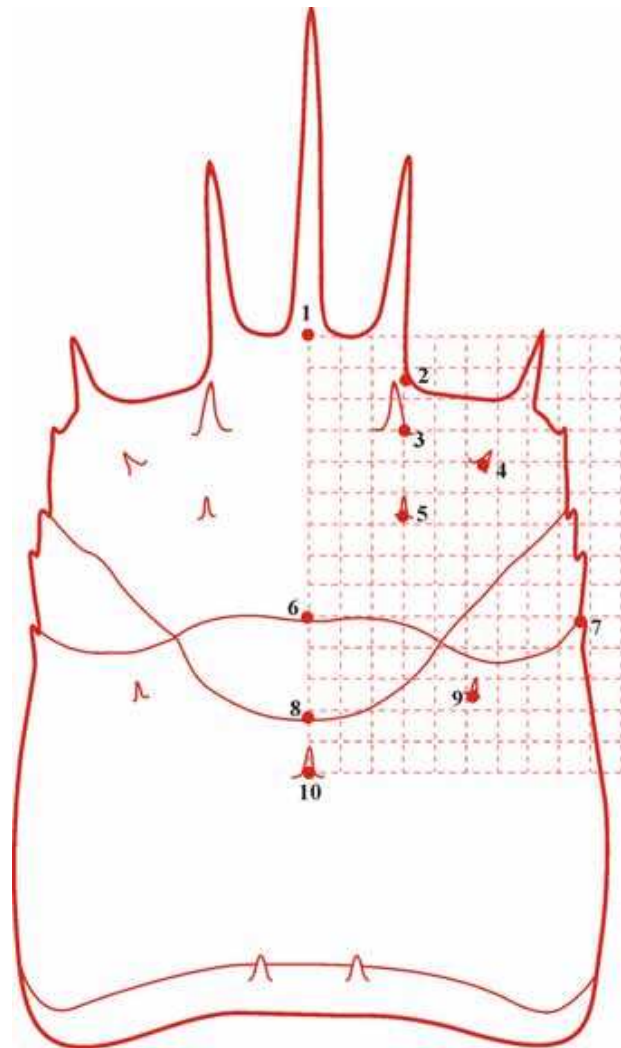
El efecto de los tres primeros componentes principales muestran claramente, la existencia de dos grupos de formas de los caparazones dentro de los ejemplares del complejo *Munida stimpsoni* (Fig. 22), y a diferencia de *Agononida longipes*, no se evidencia un patrón determinado por los tamaños o sexos de los ejemplares. En el grupo de la izquierda de la figura, se encuentran los ejemplares colectados durante la expedición *INVEMAR-MACROFAUNA I* a 150 m de profundidad, con longitudes de caparazón entre 6,0 y 13.7 mm. En el grupo de la derecha se encuentran los ejemplares colectados durante la expedición *INVEMAR-MACROFAUNA II* a 300 m de profundidad y con longitudes del caparazón entre 6,8 y 19.0 mm.



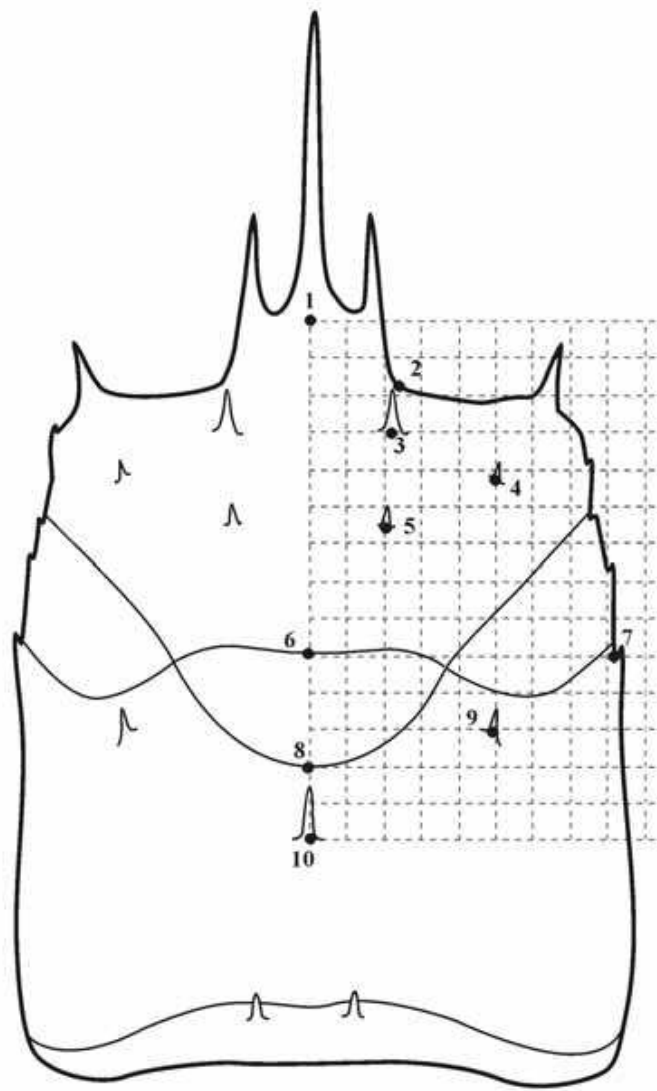
**Figura 22.** Ordenación de los ejemplares del complejo *Munida stimpsoni* según los puntos anatómicos dorsales, con respecto a los tres primeros componentes principales. La superficie coloreada es la ordenación de los individuos debida a la variable representada por el eje Z y es representada en colores correspondientes a los valores del eje Z. A - D. Rotación de la gráfica en diferentes ángulos para observar varias perspectivas de la ordenación. Se suprimieron los nombres de los ejemplares para mayor claridad en la grafica.



La visualización de los puntos anatómicos de los ejemplares del grupo de la izquierda del eje del PC1, muestra la agrupación de los ejemplares con caparazones más anchos y mayor separación entre las espinas postoculares y epigástricas representados por la forma consenso en la figura 23. En el grupo de la derecha de la gráfica se ubican los ejemplares con caparazones más estrechos y bordes laterales más rectos, y menores distancias entre los puntos 2 y 3 ubicados en las bases de las espinas postoculares y epigástricas, respectivamente; representados por la forma consenso en la figura 24.

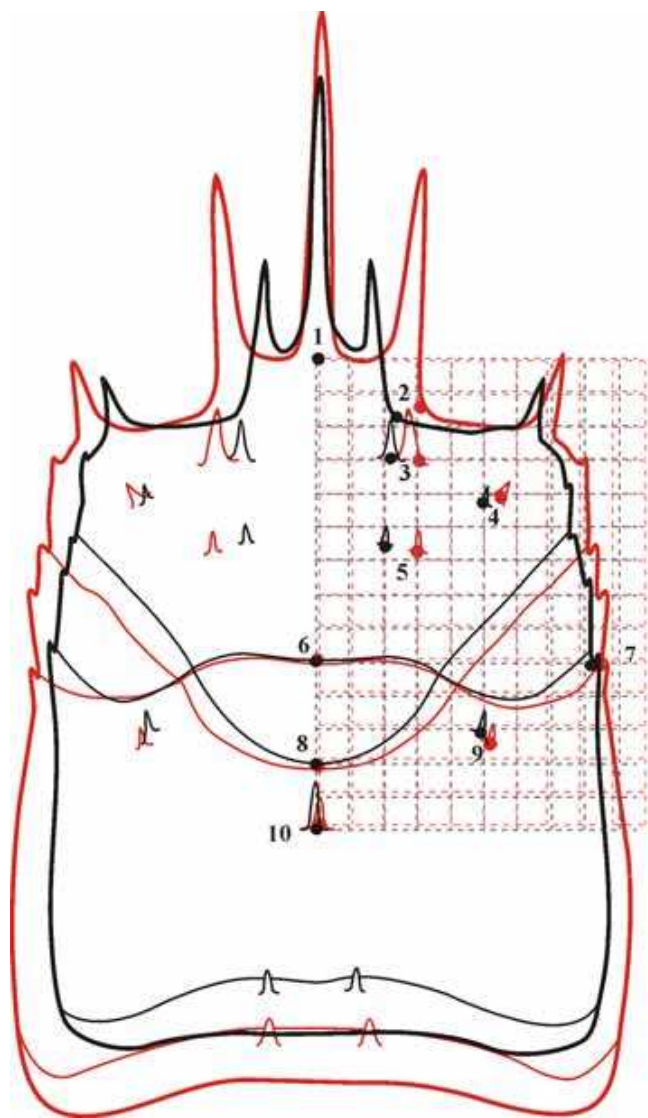


**Figura 23.** Representación de la forma promedio (*centroide*) del caparazón de los ejemplares del complejo *Munida stimpsoni* colectados durante *INVEMAR- Macrofauna I*



**Figura 24.** Representación de la forma promedio (*centroide*) del caparazón de los ejemplares del complejo *Munida stimpsoni* colectados durante *INVEMAR- Macrofauna II*

En la figura 25 se muestra la superposición de las representaciones de la forma promedio de los caparazones de los dos grupos. Con el fin de poder comparar las formas entre los grupos, las imágenes se orientaron de acuerdo a la posición del primer punto anatómico y se unificaron las escalas de las dos imágenes con respecto a los puntos anatómicos 1, 6, 8 y 10.



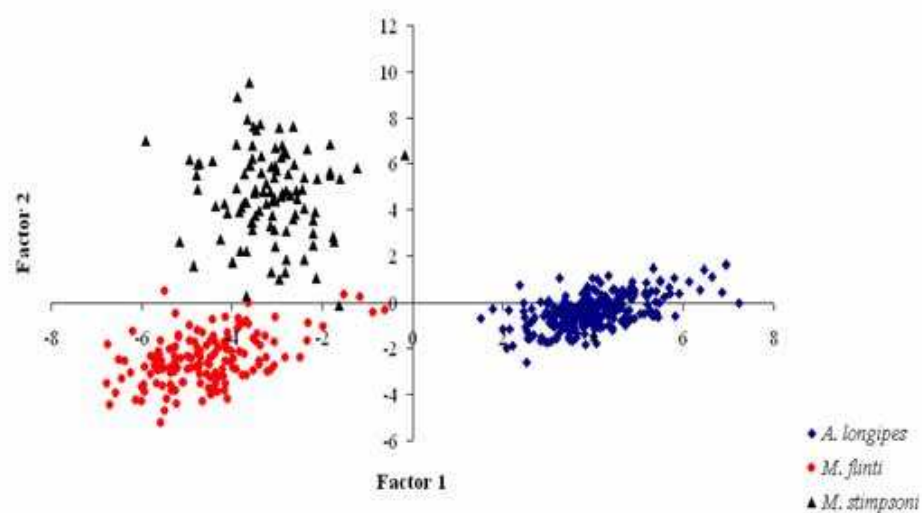
**Figura 25.** Superposición de las representaciones de la forma promedio (*centroide*) del caparazón de los ejemplares del complejo *Munida stimpsoni*, colectados durante INVEMAR- Macrofauna I (en rojo) y II (en negro)

Se realizó una nueva revisión del material empleado, debido a las notorias diferencias entre las formas de los caparazones de los dos grupos revelados por el PCA, con el fin de comprobar que los resultados obtenidos no estaban determinados por errores de identificación en la especie. Se descartaron errores en la ubicación de los puntos anatómicos por revisión de cada una de las imágenes y los debidos a la obtención de las imágenes. La revisión detallada del material colectado con base en la redefinición de *Munida flinti* realizada por Melo-Filho & Melo (1997) con detalles de los caracteres diagnósticos y descriptivos, mostró que el material utilizado para

los análisis se encontraba mezclado con *Munida stimpsoni*, especie estrechamente relacionada.

### 5.2.2 Morfometría y merística.

El PCA de los ejemplares de las tres especies utilizando los caracteres morfométricos y merísticos, mostró una clara separación entre *Agononida longipes*, *Munida flinti* y *Munida stimpsoni* explicando la variación entre las especies en un 43,67 % por los dos primeros factores (Fig. 26), el primero con un 30,32 % y el segundo con el 13,35 %.



**Figura 26.** Proyección de los ejemplares de *Agononida longipes*, *Munida flinti* y *M. stimpsoni* en el plano de los factores 1 y 2, resultado del análisis de componentes principales.

De acuerdo con los resultados, las especies *Munida flinti* y *M. stimpsoni* del complejo *Munida stimpsoni* definido por Melo-Filho & Melo (1992) se separan claramente empleando caracteres morfométricos y morfológicos, y el uso de la palabra “complejo” para sugerir las similitudes morfológicas entre las especies genera confusión acerca de la identidad de las especies. Las dos especies difieren en la posición relativa de las espinas del caparazón, las relaciones entre la longitud de las áreas y la longitud del caparazón, el ancho de la base del rostro, la longitud de las espinas supraoculares y la relación entre la longitud del rostro y las espinas supraoculares.



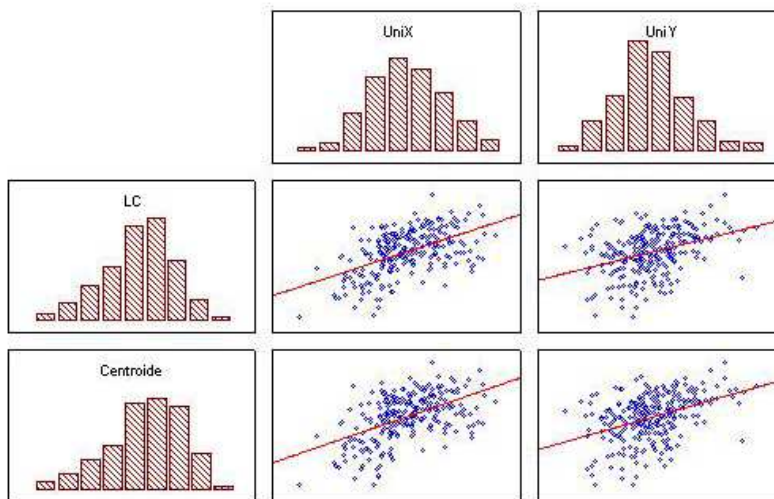
### 5.2.3 Determinación de alometría.

#### 5.2.3.1 *Agonida longipes*.

Se utilizó la longitud del caparazón (LC) y el *centroide* como variables independientes en los análisis de correlación y los componentes uniformes de forma (*UniX* y *UniY*) como variables dependientes. A cada una de las variables se les evaluó la normalidad empleando la prueba Shapiro-Wilk y se encontró que LC y el *centroide* no presenta una distribución normal (LC,  $W= 0.983$ ,  $p= 0.004$ ,  $\alpha= 0.05$ ; *centroide*  $W= 0.974$ ,  $p= 0.0000$ ,  $\alpha= 0.05$ ). Mientras que para los componentes uniformes de forma, si se puede asumir una distribución normal (*UniX*,  $W= 0.995$ ,  $p= 0.601$ ,  $\alpha= 0.05$  y *UniY*,  $W= 0.989$ ,  $p= 0.053$ ,  $\alpha= 0.05$ ). La correlación entre el LC y el *centroide* y cada uno de los componentes uniformes de forma (*UniX* y *UniY*) (Tabla 3) muestran una relación significativa entre el tamaño de los ejemplares y los descriptores de forma, lo que hace suponer crecimiento alométrico en la especie (Fig. 27).

**Tabla 3.** Correlaciones entre LC, *centroide* y los componentes uniformes de forma *UniX* y *UniY* en *Agonida longipes*.

Spearman Rank Order Correlations. Los coeficientes de correlación significativos con $p < 0,05000$ se marcan con asterisco (*)		
	UniX	UniY
LC	0.497196 *	0.377847 *
Centroide	0.490411 *	0.413163 *



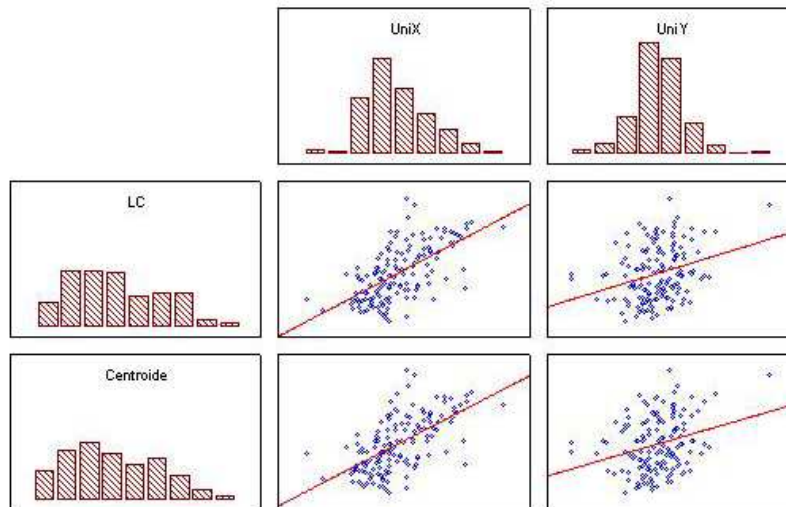
**Figura 27.** Correlación del LC y del *centroide* con cada uno de los componente uniformes de forma *UniX* y *UniY* en *Agonida longipes*

### 5.2.3.2 *Munida flinti*.

Para *Munida flinti* se realizaron los mismos análisis de correlación, para establecer si existe o no un crecimiento alométrico. Las variables LC, *centroide* y los componentes uniformes de forma no presentan una distribución normal (LC,  $W=0.964$ ,  $p=0.001$ ,  $\alpha=0.05$ ; *centroide*,  $W=0.971$ ,  $p=0.004$ ,  $\alpha=0.05$ ; *UniX*,  $W=0.975$ ,  $p=0.009$ ,  $\alpha=0.05$  y *UniY*,  $W=0.969$ ,  $p=0.002$ ,  $\alpha=0.05$ ) y una correlación significativa entre las variables dependientes y las independientes (Tabla 4) (Fig. 28).

**Tabla 4.** Correlaciones entre LC, *centroide* y los componentes uniformes de forma *UniX* y *UniY* en *Munida flinti*

Spearman Rank Order Correlations. Los coeficientes de correlación significativos con $p < 0,05000$ se marcan con asterisco (*)		
	UniX	UniY
LC	0.639858 *	0.277574 *
Centroide	0.635472 *	0.255124 *



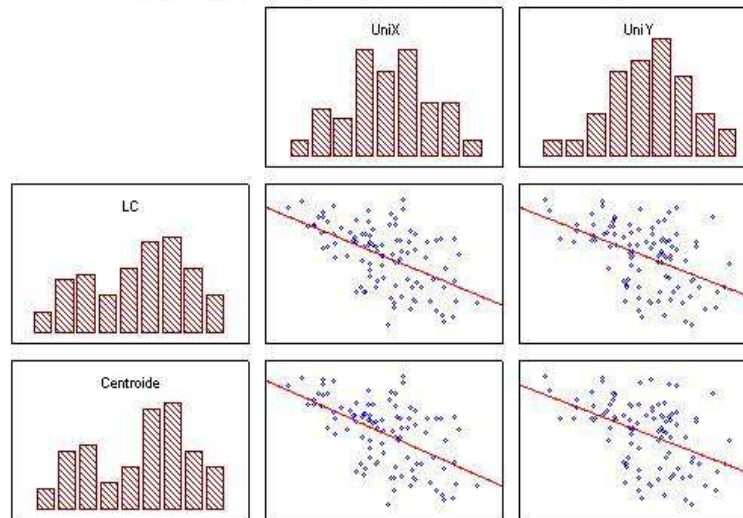
**Figura 28.** Correlaciones entre LC, *centroide* y los componentes uniformes de forma *UniX* y *UniY* en *Munida flinti*

### 5.2.3.3 *Munida stimpsoni*.

En *Munida stimpsoni* se determinó que LC y el *centroide* no tienen distribución normal (LC,  $W=0.966$ ,  $p=0.012$ ,  $\alpha=0.05$ ; *centroide*,  $W=0.957$ ,  $p=0.003$ ,  $\alpha=0.05$ ) y están inversamente relacionados con los componentes uniformes (Tabla 5) (Fig. 29).

**Tabla 5.** Correlaciones entre LC, centroide y los componentes uniformes de forma *UniX* y *UniY* en *Munida stimpsoni*.

Spearman Rank Order Correlations. Los coeficientes de correlación significativos con $p < 0,05000$ se marcan con asterisco (*)		
	UniX	UniY
LC	-0.503020 *	-0.465525 *
Centroide	-0.530925 *	-0.430357 *



**Figura 29.** Correlaciones entre LC, *centroide* y los componentes uniformes de forma *UniX* y *UniY* en *Munida stimpsoni*

### 5.3 Delimitación de poblaciones en *Agononida longipes*.

#### 5.3.1 Análisis de morfometría geométrica.

Los grupos por estaciones (GUA, PAL, MAGn, MAGs y DAR) y por sexos (machos y hembras) fueron empleados como factores para realizar el ANOSIM entre los vectores propios, en el programa PRIMER 5 Ver. 5.2.2 © (Primer-E, 2001). Los resultados del ANOSIM muestra diferencias significativas entre hembras y machos y entre los individuos de Guajira y los ejemplares de Palomino, Magdalena y Darién, sugiriendo que los ejemplares de la Guajira podrían estar mostrando formas significativamente diferentes con respecto a los ejemplares de las otras ecorregiones (Tabla 6).

**Tabla 6.** Análisis de similaridad a dos vías, en *Agononida longipes* empleando el efecto de los

factores ecorregión y sexo simultáneamente.

*Prueba para diferencias entre los GRUPOS: Ecorregión.*

*Prueba Global*

Muestra estadística (R Global): 0,12  
 Nivel de significancia estadística para la muestra: 0,1%  
 Número de permutaciones: 999  
 Número de estadísticos permutados mayores o iguales al R Global: 0

*Prueba por pares*

Grupos	R Estadístico	Nivel de significancia %	Permutaciones posibles	Permutaciones actuales	Número >= Observado
GUA, PAL	0,155	0,10 *	Muchas	999	0
GUA, MAGn	0,174	0,10 *	Muchas	999	0
GUA, MAGs	0,048	20,2	Muchas	999	201
GUA, DAR	0,327	0,10 *	Muchas	999	0
PAL, MAGn	0,025	16,2	Muchas	999	161
PAL, MAGs	-0,015	58,2	Muchas	999	581
PAL, DAR	0,155	2,4	Muchas	999	23
MAGn, MAGs	-0,036	67,6	Muchas	999	675
MAGn, DAR	0,176	1,4	Muchas	999	13
MAGs, DAR	0,187	0,3	Muchas	999	2

\* **Se puede rechazar la Ho de: “No hay diferencias entre grupos”** con  $p < 1\%$

*Prueba para diferencias entre SEXOS*

*Prueba Global*

Muestra estadística (R Global): 0,407  
 Nivel de significancia estadística para la muestra: 0,1%  
 Número de permutaciones: 999  
 Número de estadísticos permutados mayores o iguales al R Global: 0

\* **Se rechaza la Ho de: “No hay diferencias entre sexos”** con un  $p < 1\%$

Por lo tanto y con base en los resultados obtenidos se rechaza las hipótesis nulas (Ho: No hay diferencias entre ecorregiones, Ho: No hay diferencias entre sexos), con un  $p < 1\%$ .

Se corroboraron los resultados del ANOSIM mediante un AD, en éste análisis se obtuvieron cuatro valores propios (Eigenvalues: 1.221, 0.301, 0.186, 0.096) y las contribuciones de cada uno en la explicación en la variación en la forma, fueron 68 %, 17 %, 10 % y 5 %, respectivamente ( $\lambda$ -Wilks: 0.2663) (Tabla 7).

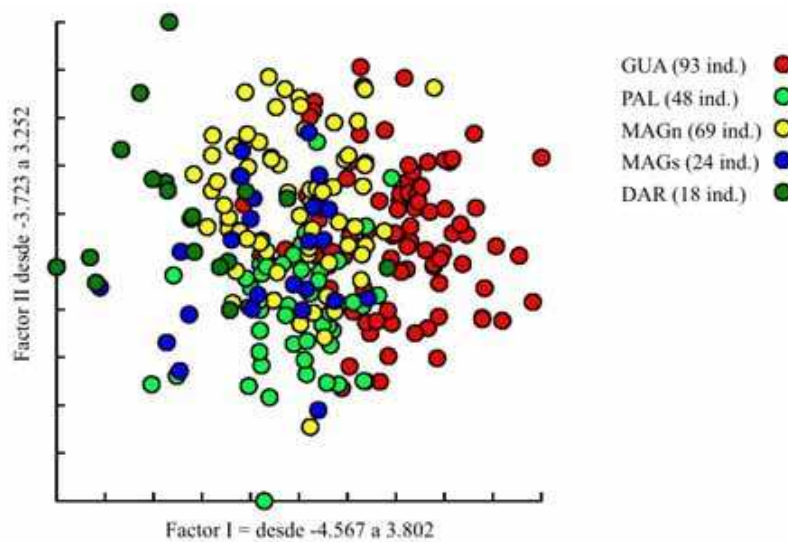
**Tabla 7.** Distancias de Mahalanobis y diferencias significativas entre grupos de *Agononida longipes*

con 999 permutaciones entre individuos y 999 permutaciones entre distancias. Guajira (GUA), Palomino (PAL), Magdalena al norte del río Magdalena (MAGn), Magdalena al sur del río Magdalena (MAGs) y Darién (DAR). Significativo a 0.05 si  $p < 0.00500$ .

	GUA	PAL	MAGn	MAGs	DAR
GUA	0.00				
PAL	2.08*	0.00			
MAGn	2.00*	1.58*	0.00		
MAGs	2.45*	1.52	1.53	0.00	
DAR	3.75*	2.73*	2.41*	2.14	0.00

\* señalan los grupos que presentan diferencias significativas entre si.

Se encontraron diferencias significativas entre los ejemplares de Guajira y los otros grupos y entre Palomino, Magdalena y Darién (Fig. 30).



**Figura 30.** Análisis discriminante de los ejemplares de *Agononida longipes*. Guajira (GUA), Palomino (PAL), Magdalena al norte de la desembocadura del río Magdalena (MAGn), Magdalena al sur de la desembocadura del río Magdalena (MAGs), y Darién (DAR)

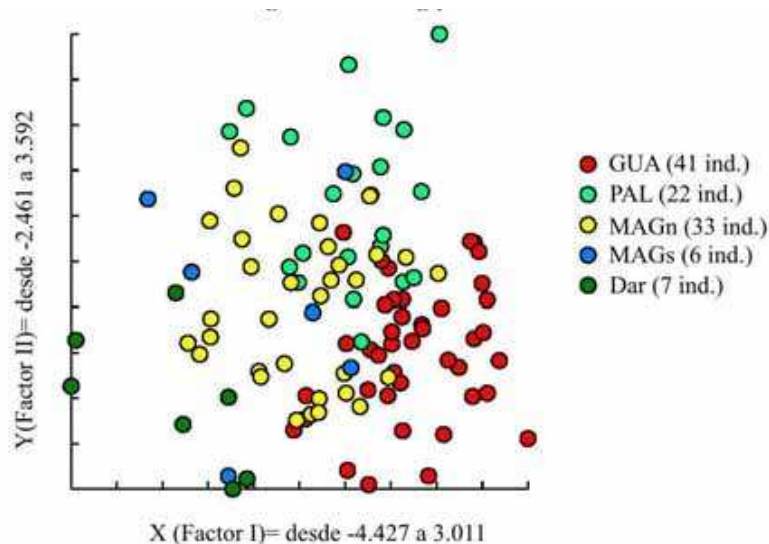
Para eliminar el efecto del sexo en el análisis discriminante de las distancias de Mahalanobis en el programa PADWin\_47 Ver. 2 (Dujardin, 2002), se realizó la comparación entre grupos con los sexos por separado. Los vectores propios de los puntos anatómicos en los machos de *Agononida longipes* fueron reducidos a cuatro valores propios (1.295, 0.674, 0.329 y 0.263). El porcentaje de variación en la forma, explicado por los valores propios desde el primero hasta el último es 51 %, 26 %, 13 % y 10 % respectivamente ( $\lambda$ -Wilks: 0.1550) (Tabla 8).

**Tabla 8.** Distancias de Mahalanobis y diferencias significativas entre los grupos de machos de *Agonida longipes*. Guajira (GUA), Palomino (PAL), Magdalena al norte del río Magdalena (MAGn), Magdalena al sur del río Magdalena (MAGs) y Darién (DAR).

	GUA	PAL	MAGn	MAGs	DAR
GUA	0.00				
PAL	2.28	0.00			
MAGn	2.15*	2.04	0.00		
MAGs	3.22	2.93	2.46	0.00	
DAR	4.15*	4.04*	3.13	3.36	0.00

\* señalan los grupos que presentan diferencias significativas entre si.

El análisis discriminante mostró diferencias significativas entre los machos de Guajira, Darién y los de las estaciones ubicadas al norte de la desembocadura del río Magdalena (MAGn); entre los de Palomino y Darién (Fig. 31).



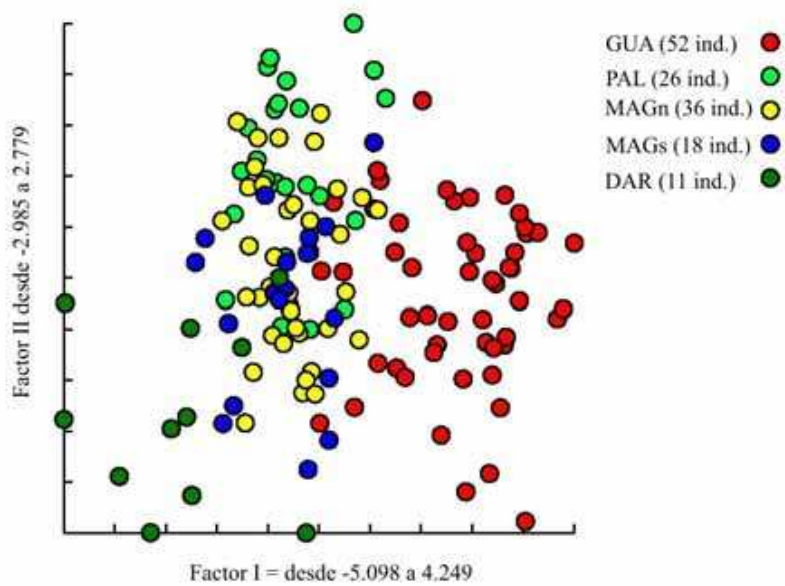
**Figura 31.** Análisis discriminante de los machos de *Agonida longipes*. Guajira (GUA), Palomino (PAL), Magdalena al norte de la desembocadura del río Magdalena (MAGn), Magdalena al sur de la desembocadura del río Magdalena (MAGs), y Darién (DAR)

En hembras, los 28 vectores propios se resumieron en cuatro valores propios (2.900, 0.467, 0.346 y 0.177) y las contribuciones del primer al último factor para la explicación de la varianza de la forma fueron 75 %, 12 %, 9 % y 4 % respectivamente ( $\lambda$ -Wilks: 0.1102). Se encontraron diferencias significativas entre: Guajira y los otros grupos, entre Palomino y Darién, y Magdalena y Darién (Tabla 9) (Fig. 32).

**Tabla 9.** Distancias de Mahalanobis y diferencias significativas entre los grupos de hembras de *Agononida longipes*. Guajira (GUA), Palomino (PAL), Magdalena al norte del río Magdalena (MAGn), Magdalena al sur del río Magdalena (MAGs) y Darién.

	GUA	PAL	MAGn	MAGs	DAR
GUA	0.00				
PAL	3.33*	0.00			
MAGn	3.21*	1.82	0.00		
MAGs	3.38*	1.89	1.80	0.00	
DAR	5.31*	3.43*	3.11*	2.82	0.00

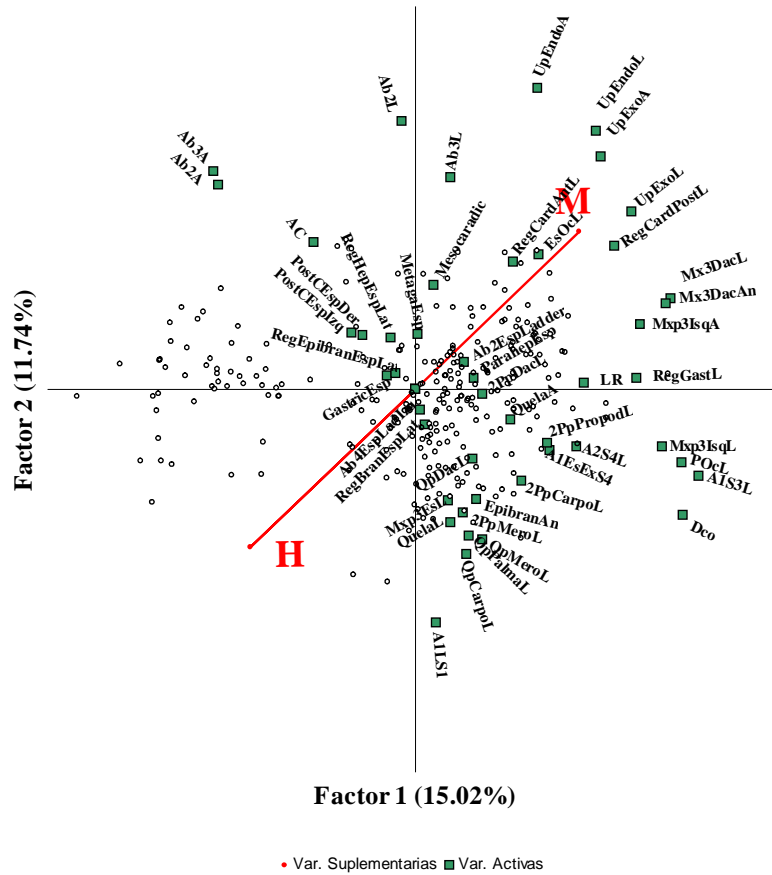
\* señalan los grupos que presentan diferencias significativas entre si.



**Figura 32.** Análisis discriminante de las hembras de *Agononida longipes*. Guajira (GUA), Palomino (PAL), Magdalena al norte de la desembocadura del río Magdalena (MAGn), Magdalena al sur de la desembocadura del río Magdalena (MAGs), y Darién (DAR)

### 5.3.2 Morfometría y merística.

El análisis de componentes principales en *Agononida longipes* empleando los caracteres morfométricos y merísticos, mostró una variación entre machos y hembras explicada en un 47.35 % por los primeros seis valores propios, con el primer componente con el 15.02 % y el segundo componente el 11.74 % y mostró una variación de los caracteres influenciada por el sexo (Fig. 33).



**Figura 33.** Proyección de las variables y de los ejemplares de *Agononida longipes* en el plano de factores (Factor 1 vs. 2) resultado del análisis de componentes principales.

Los resultados del análisis discriminante confirmaron la influencia del sexo en la separación de grupos, mostrando diferencias significativas ( $p > 0.00000$ ) entre machos y hembras.

Las diferencias entre sexos estuvieron determinadas por 1) Longitud del segundo segmento abdominal (Ab2L), 2) Longitud del endopodito del urópodo (UpEndoL), 3) Ancho del endopodito del urópodo (UpEndoA), 4) Longitud del pedúnculo ocular (POcL), 5) Diámetro de la córnea (DOc) y 6) longitud del tercer segmento antenular (A1S3L). De los caracteres merísticos, de los 30 caracteres medidos, 19 no presentaron variaciones en los 254 ejemplares de *A. longipes* empleados (Tabla 10) y los 11 caracteres restantes no mostraron una influencia significativa en las diferencias entre sexos.

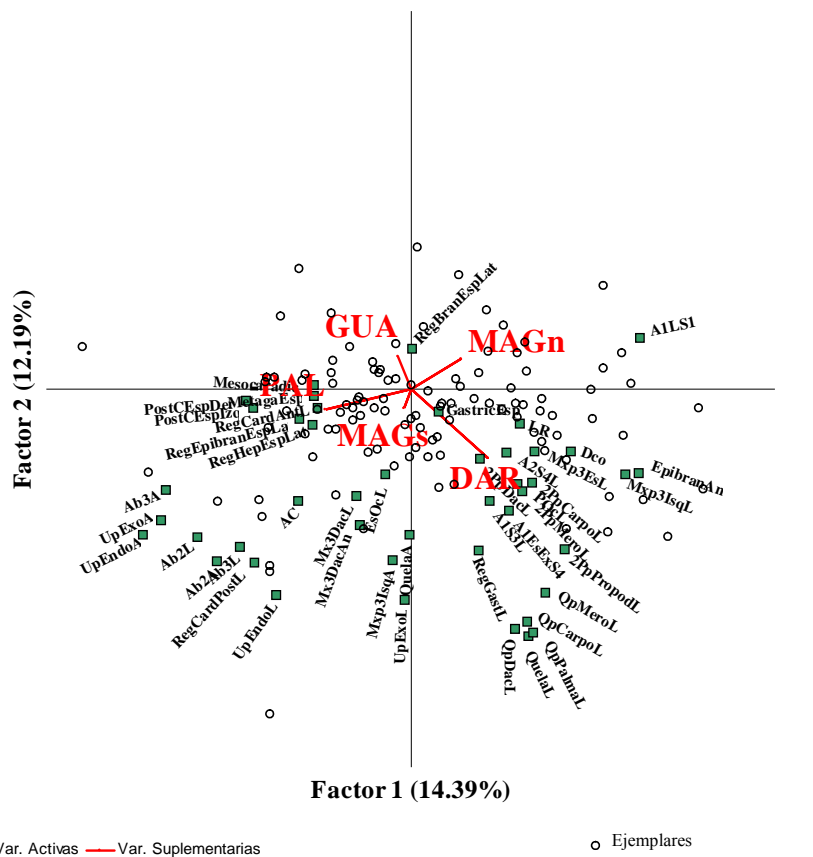


**Tabla 10.** Caracteres merísticos no variables en *Agononida longipes*

	<b>Nombre de la variable</b>	<b>Sigla</b>
1	Número de espinas en la región protogástrica	Prot. Esp
2	Número de espinas en la región cardíaca	Cardiaca Esp.
3	Número de espinas en el margen posterior del caparazón	Mg Post C Esp
4	Número de espinas en el lado izquierdo del segundo segmento abdominal	Ab2EspLad Izq
5	Número de espinas en el centro del segundo segmento abdominal	Ab2EspCentro
6	Número de espinas en el lado izquierdo del tercer segmento abdominal	Ab3EspLad Izq
7	Número de espinas en el lado centro del tercer segmento abdominal	Ab3EspCentro
8	Número de espinas en el lado derecho del tercer segmento abdominal	Ab3EspLad der
9	Número de espinas en el lado centro del cuarto segmento abdominal	Ab4EspCentro
10	Número de espinas en el lado derecho del cuarto segmento abdominal	Ab4EspLad der
11	Número de espinas en el margen posterior del cuarto segmento abdominal	Ab4Esp Post
12	Número de espinas en el primer segmento antenular	A1S1Esp
13	Número de espinas en el segundo segmento antenular	A1S2Esp
14	Número de espinas en el tercer segmento antenular	A1S3Esp
15	Número de espinas en el primer segmento antenal	A2S1Esp.
16	Número de espinas externas en el segundo segmento antenal	A2S2EspExt
17	Número de espinas internas en el segundo segmento antenal	A2S2Esp Int.
18	Número de espinas en el tercer segmento antenal	A2S3
19	Número de espinas en el cuarto segmento antenal	A2S4

Para el análisis de poblaciones, los ejemplares fueron separados por sexos, encontrándose que en los machos las variables se distribuyen en dos grupos principalmente, uno que sitúa las variables relacionadas con la longitud de las quelas y el segundo par de pereiópodos en la parte inferior derecha de la figura; otro grupo ubicado en la parte inferior izquierda de la figura, en donde las variables que parecen influir de forma importante están relacionadas con el tamaño del segundo y tercer somites abdominales y los urópodos (Fig. 34).

El análisis factorial de las variables muestra que los caracteres que influyen en mayor grado sobre el factor 1 son: 1) el ancho del endopodito del urópodo (UpEndoL), 2) el ancho del exopodito del urópodo (UpExoL), 3) ancho del tercer somite abdominal (Ab3A), 4) ancho de la región epibranchial (EpibranA) y 5) la longitud del primer segmento antenular (A1S1). Las variables con mayor influencia, con respecto al factor 2 son: 1) longitud del dactilo del quelípodo (QpDacL.), 2) longitud de la quela (QuelaL), 3) longitud del carpo del quelípodo (QpCarpoL) y 4) longitud de la palma (QpPalmaL).



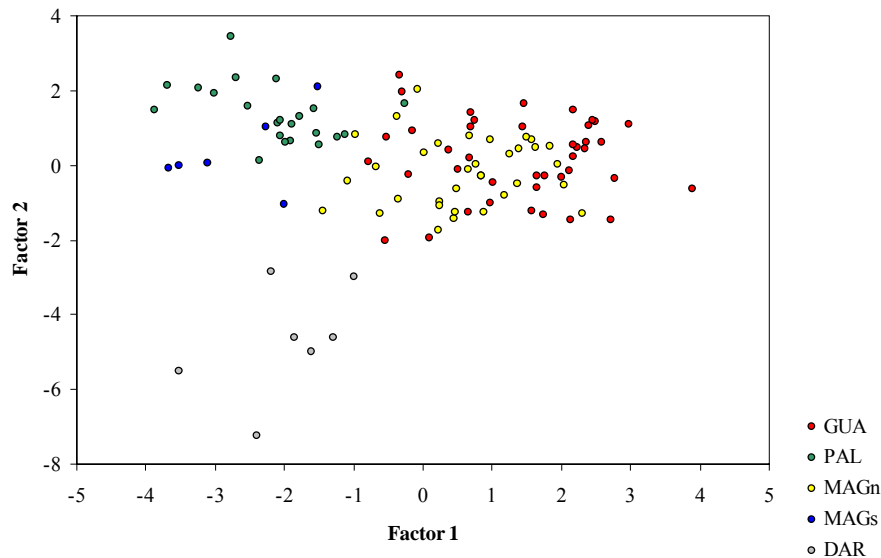
**Figura 34.** Proyección de las variables y machos de *Agononida longipes*, en el plano de factores (Factor 1 vs. 2) resultado del análisis de componentes principales.

El análisis discriminante muestra diferencias significativas entre los grupos de machos de la Guajira con respecto a Palomino y Darién; entre los de Palomino y los del norte de la desembocadura del río Magdalena y Darién; y entre los ejemplares colectados al norte de la desembocadura del río y los ejemplares de Darién (Tabla 11) (Fig. 35).

**Tabla 11.** Cuadrados de las distancias de Mahalanobis entre los grupos de machos de *Agononida longipes*. Guajira (GUA), Palomino (PAL), Magdalena al norte de la desembocadura del río Magdalena (MAGn), Magdalena al sur de la desembocadura del río Magdalena (MAGs), Darién (DAR)

	GUA	PAL	MAGn	MAGs
GUA	0.00000			
PAL	16.43057*	0.00000		
MAGn	7.63947	15.05634*	0.00000	
MAGs	27.94674	15.99774	24.24261	0.00000
DAR	36.89628*	39.39648*	34.25679*	41.08815

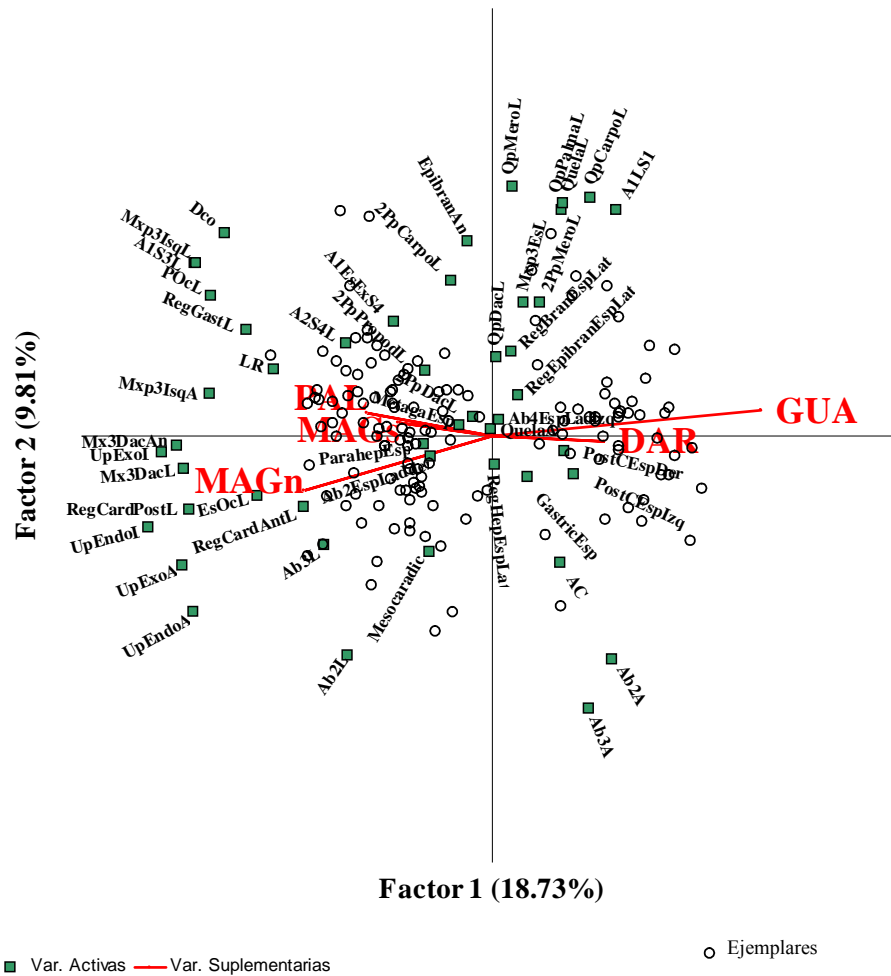
\* Señalan los grupos que presentan diferencias significativas.



**Figura 35.** Análisis discriminante de los machos de *Agonida longipes*. Guajira (GUA), Palomino (PAL), Magdalena al norte de la desembocadura del río Magdalena (MAGn), Magdalena al sur de la desembocadura del río Magdalena (MAGs) y Darién (DAR).

En hembras las variables presentaron una dispersión más uniforme en el plano de los factores 1 y 2 (Fig. 36) que la mostrada por los machos, sin embargo los caracteres que describen los quelípedos, el tamaño del abdomen y tamaño de los urópodos parecen ejercer una influencia importante en la separación de grupos.

El análisis factorial muestra que las variables más importantes, que determinan la discriminación de grupos (en orden descendente según el porcentaje de contribución) para el factor 1 son: 1) longitud del endopodito del urópodo (UpEndoL), 2) longitud del exopodito del urópodo (UpExoL), 3) ancho del dácilo del tercer maxilípodo (Mx3DacA), 4) ancho del exopodito del urópodo (UpExoA), 5) longitud del dácilo del tercer maxilípodo (Mx3DacL), 6) longitud de la región cardiaca posterior (RegCarPostL), 7) ancho del endopodito del urópodo (UpEndoA), 8) longitud del isquio del tercer maxilípodo (Mx3IsqL), 9) longitud del tercer segmento antenular (A1S3L), 10) ancho del isquio del tercer maxilípodo (Mx3IsqA), 11) longitud del pedúnculo ocular (POcL) y 12) diámetro de la córnea (DCo). La única variable que contribuyó en mayor porcentaje con el factor 2 fue la longitud del tercer somite abdominal (Ab3L).



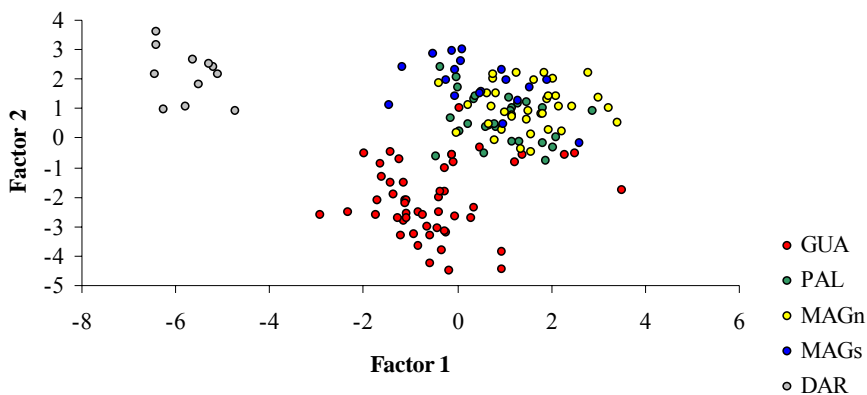
**Figura 36.** Proyección de las variables y hembras de *Agononida longipes*, en el plano de factores (Factor 1 vs. 2) resultado del análisis de componentes principales.

En el análisis discriminante, los resultados mostraron una clara separación entre los ejemplares de la Guajira (GUA) y Darién (DAR) del resto de grupos (Tabla 12) (Fig. 37)

**Tabla 12.** Cuadrados de las distancias de Mahalanobis entre los grupos de hembras de *Agononida longipes*. Guajira (GUA), Palomino (PAL), Magdalena al norte de la desembocadura del río Magdalena (MAGn), Magdalena al sur de la desembocadura del río Magdalena (MAGs), Darién (DAR)

	GUA	PAL	MAGn	MAGs
GUA	0.00000			
PAL	12.63373*	0.00000		
MAGn	15.06386*	6.06063	0.00000	
MAGs	19.71925*	10.26093	8.73479	0.00000
DAR	47.58120*	50.52303*	55.69062*	45.13012*

\* Señalan las diferencias significativas entre grupos



**Figura 37.** Análisis discriminante de las hembras de *Agonida longipes*. Guajira (GUA), Palomino (PAL), Magdalena al norte de la desembocadura del río Magdalena (MAGn), Magdalena al sur de la desembocadura del río Magdalena (MAGs) y Darién (DAR).

En resumen, en *Agonida longipes* los datos morfométricos y morfológicos son coherentes en la separación de poblaciones de hembras, separando los ejemplares colectados en la Guajira del resto de ecorregiones. En los machos, los datos morfométricos y morfológicos no muestran coincidencias exactas, al comparar las poblaciones con los dos tipos de datos, pero coinciden en mostrar variación entre los ejemplares de la Guajira con respecto a Darién. Esto sugiere que las formas de los machos son menos variables en la especie y que la mayor variación se presenta en los extremos de la distribución geográfica.

Los resultados obtenidos sugieren la presencia de al menos tres formas diferentes del esternito torácico, una de ellas representada por los ejemplares colectados en Guajira, otra forma por los ejemplares colectados en la parte central de la distribución de la especie reuniendo los ejemplares colectados en Palomino y Magdalena (MAGn y MAGs) y una tercera en Darién.

## 5.4 Delimitación de Poblaciones en *Munida flinti*.

### 5.4.1 Análisis de morfometría geométrica.

Los análisis multivariados en *Munida flinti*, se realizaron con los vectores propios de los puntos anatómicos de los esternitos torácicos y los caparzones, cada uno por separado. El análisis de similitud de los puntos anatómicos de los esternitos

torácicos no muestra diferencias significativas entre ninguno de los grupos, ni entre sexos (Tabla 13).

**Tabla 13.** Análisis de similaridad a dos vías en *Munida flinti* empleando los puntos anatómicos en los esternitos torácicos y el efecto cruzado de la ecorregión y el sexo.

*Prueba para diferencias entre los GRUPOS: Ecorregión.*

Muestra estadística (R Global): -0,027  
 Nivel de significancia estadística para la muestra: 67,8%  
 Número de permutaciones: 999  
 Número de estadísticos permutados mayores o iguales al R Global: 667

*Prueba por pares*

Grupos	R Estadístico	Nivel de Significancia %	Permutaciones Posibles	Permutaciones Actuales	Número >= Observado
PAL, TAY	0,003	39,7	Muchas	999	396
PAL, MAG	-0,152	98,1	53934540	999	980
PAL, ARCO	0,063	19,0	Muchas	999	189
PAL, DAR	0,034	18,2	Muchas	999	181
TAY, MAG	0,028	35,5	44945450	999	354
TAY, ARCO	-0,067	81,2	Muchas	999	811
TAY, DAR	0,121	1,0	Muchas	999	9
MAG, ARCO	-0,072	75,2	Muchas	999	751
MAG, DAR	-0,029	64,7	17907120	999	646
ARCO, DAR	-0,006	52,6	Muchas	999	525

**No se rechaza hipótesis nula de: “no existen diferencias significativas entre Ecorregiones”**

*Prueba para diferencias entre los SEXOS*

Muestra estadística (R Global): 0,026  
 Nivel de significancia estadística para la muestra: 36,3%  
 Número de permutaciones: 999  
 Número de estadísticos permutados mayores o iguales al R Global: 362

**No se rechaza hipótesis nula de “no existen diferencias significativas entre sexos”**

El ANOSIM de los vectores propios de los puntos anatómicos, de los caparazones de *Munida flinti*, muestra diferencias significativas entre las formas de los ejemplares colectados en la ecorregión Palomino (PAL) con respecto a los colectados en (ARCO) y no muestra diferencias entre sexos (Tabla 14).

Los resultados del ANOSIM en *Munida flinti* muestran formas similares para machos y hembras con respecto al caparazón y al esternito torácico, lo que podría indicar tasas de crecimiento similares para ambos sexos. Además, no existen diferencias significativas entre grupos, empleando los esternitos torácicos, pero contrariamente se presentan diferencias significativas cuando se utilizan los caparazones.

**Tabla 14.** Análisis de similaridad a dos vías en *Munida flinti* empleando los puntos anatómicos en el caparazón y el efecto cruzado de la ecorregión y el sexo.

*Prueba para diferencias entre los GRUPOS: Ecorregión.*

Muestra estadística (R Global): 0,081

Nivel de significancia estadística para la muestra: 5 %

Número de permutaciones: 999

Número de estadísticos permutados mayores o iguales al R Global: 50

*Prueba por pares*

Grupos	R Estadístico	Nivel de Significancia %	Permutaciones Posibles	Permutaciones Actuales	Número >= Observado
PAL, TAY	-0,028	80,1	Muchas	999	800
PAL, MAG	0,051	28,7	53934540	999	286
PAL, ARCO	0,229	0,4*	Muchas	999	3
PAL, DAR	0,058	7,5	Muchas	999	74
TAY, MAG	0,094	15,7	44945450	999	156
TAY, ARCO	0,056	24,3	Muchas	999	242
TAY, DAR	0,006	38,4	Muchas	999	383
MAG, ARCO	0,080	22,0	Muchas	999	219
MAG, DAR	0,100	10,7	17907120	999	106
ARCO, DAR	-0,013	53,2	Muchas	999	531

**\*Se rechaza hipótesis nula de “no existen diferencias significativas entre grupos”**

*Prueba para diferencias entre los SEXOS*

*Prueba Global*

Muestra estadística (R Global): 0,074

Nivel de significancia estadística para la muestra: 19,0%

Número de permutaciones: 999

Número de estadísticos permutados mayores o iguales al R Global: 189

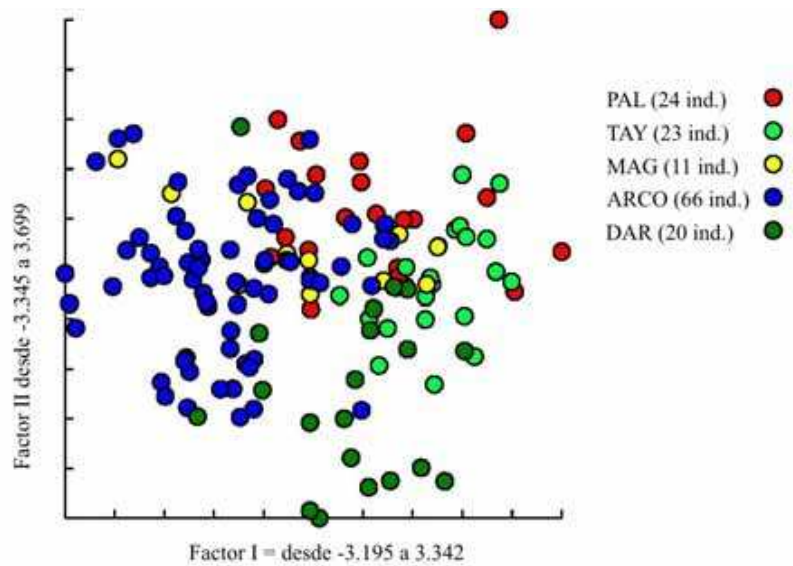
**No se rechaza hipótesis nula de “no existen diferencias significativas entre sexos”**

El análisis discriminante de los vectores propios de los puntos anatómicos del esternito torácico, redujo a cuatro valores propios los 28 vectores propios (1.185, 0.521, 0.285 y 0.166) y las contribuciones en la explicación de la variación en el cambio de forma desde el primer factor al último son: 55 %, 24 %, 13 % y 8 % ( $\lambda$ -Wilks: 0.2007) (Tabla 15) (Fig. 38).

**Tabla 15.** Distancias de Mahalanobis y diferencias significativas entre los grupos de *Munida flinti*, empleando los puntos anatómicos en el esternito torácico. Palomino (PAL), Tayrona (TAY), Magdalena (MAG), Archipiélagos Coralinos (ARCO) y Darién (DAR). Significativo a 0.05 si  $p < 0.00500$ .

	PAL	TAY	MAG	ARCO	DAR
PAL	0.00				
TAY	2.05	0.00			
MAG	2.02	2.53	0.00		
ARCO	2.35*	2.83*	1.87	0.00	
DAR	2.54	2.40	2.55	2.39*	0.00

\* señalan los grupos que presentan diferencias significativas entre si.



**Figura 38.** Análisis discriminante de los ejemplares de *Munida flinti* empleando los puntos anatómicos de los esternitos torácicos. Palomino (PAL), Tayrona (TAY), Magdalena (MAG), Archipiélagos Coralinos (ARCO) y Darién (DAR)

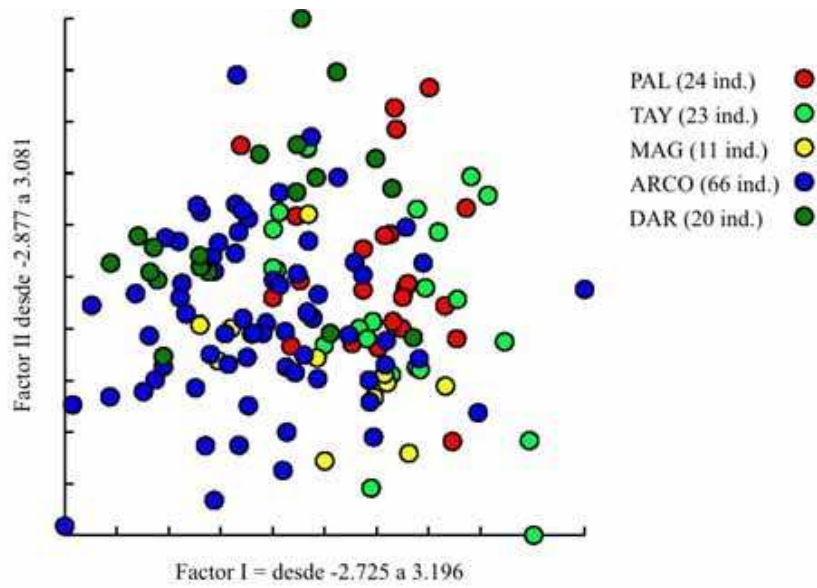
Los 28 vectores propios que describen la forma dada por los puntos anatómicos ubicados en los caparazones de *Munida flinti*, se redujeron a cuatro valores propios (0.431, 0.209, 0.158 y 0.066) y las contribuciones del primer factor al último fueron 50 %, 24 %, 18 % y 8 % ( $\lambda$ -Wilks: 0.4684). El análisis discriminante sugiere diferencias significativas entre los ejemplares colectados en la ecorregión Tayrona (TAY) y los de Darién (DAR) (Tabla 16) (Fig. 39).

**Tabla 16.** Distancias de Mahalanobis y diferencias significativas entre los grupos de *Munida flinti*, empleando los puntos anatómicos en el caparazón. Palomino (PAL), Tayrona (TAY), Magdalena (MAG), Archipiélagos Coralinos (ARCO) y Darién (DAR). Significativo a 0.05 si  $p < 0.00500$ .

	PAL	TAY	MAG	ARCO	DAR
PAL	0.00				
TAY	1.07	0.00			
MAG	1.78	1.82	0.00		
ARCO	1.50	1.52	1.65	0.00	
DAR	1.64	1.97*	2.06	1.25	0.00

\*señalan los grupos que presentan diferencias significativas entre si.





**Figura 39.** Análisis discriminante de los ejemplares de *Munida flinti* empleando los puntos anatómicos de los caparazones. Palomino (PAL), Tayrona (TAY), Magdalena (MAG), Archipiélagos Coralinos (ARCO) y Darién (DAR)

Los análisis discriminantes los puntos anatómicos de los esternitos torácicos y los caparazones de *Munida flinti*, no son coherentes entre sí. Sin embargo, se puede tomar una decisión respecto al análisis, teniendo en cuenta el valor de  $\lambda$ -Wilks. Este es un estadístico que proporciona una medida del poder discriminante de las variables consideradas, de forma que, cuanto más cerca de cero esté, mayor es el poder discriminante de las variables. Según los resultados obtenidos la variable que tiene mayor poder discriminante es el esternito torácico con un  $\lambda$ -Wilks de 0.2007.

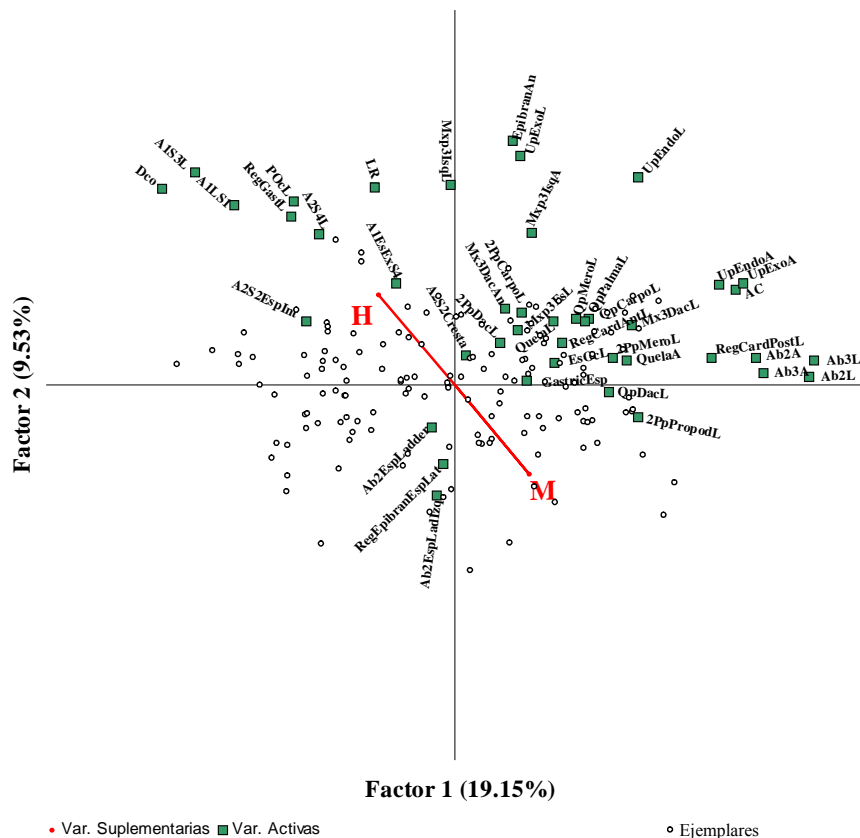
Estas diferencias entre el caparazón y el esternito torácico, sugieren respuestas diferentes a las variables involucradas en el cambio de la forma, y podrían estar determinadas por la función de cada uno. Es posible que el esternito torácico, por ser una estructura de soporte para los pereiópodos, esté siendo afectado en mayor grado que el caparazón, mostrando así mayores diferencias entre poblaciones. Sin embargo, también deben ser considerados los errores debidos a la ubicación de los puntos sobre el caparazón, en especial los puntos sobre las espinas y los relacionados con la curvatura de los ejemplares; estos errores pueden introducir mayor variación en los datos y disminuir la resolución del análisis.

En resumen, el análisis discriminante muestra diferencias significativas entre grupos,

tanto con los puntos del esternito torácico como con los del caparazón. Con los del esternito torácico se detectaron tres formas diferentes: Una en Archipiélagos Coralinos, otra en Palomino, Tayrona, y Magdalena; y otra forma en Darién. Con los puntos anatómicos del caparazón solamente se pueden detectar diferencias significativas entre Tayrona y Darién.

#### 5.4.2 Morfometría y merística.

El análisis de componentes principales en *Munida flinti*, empleando los caracteres morfométricos y merísticos mostró una variación de los ejemplares explicada en un 50.01 % por los seis primeros valores propios (el primero explica un 19.15 % y el segundo el 9.53 %) y diferencias entre sexos (Fig. 40).



**Figura 40.** Proyección de las variables y de los ejemplares de *Munida flinti* en el plano de factores (Factor 1 vs. 2) resultado del análisis de componentes principales.

Los caracteres que más influyen en la separación de los sexos son: 1) el ancho del

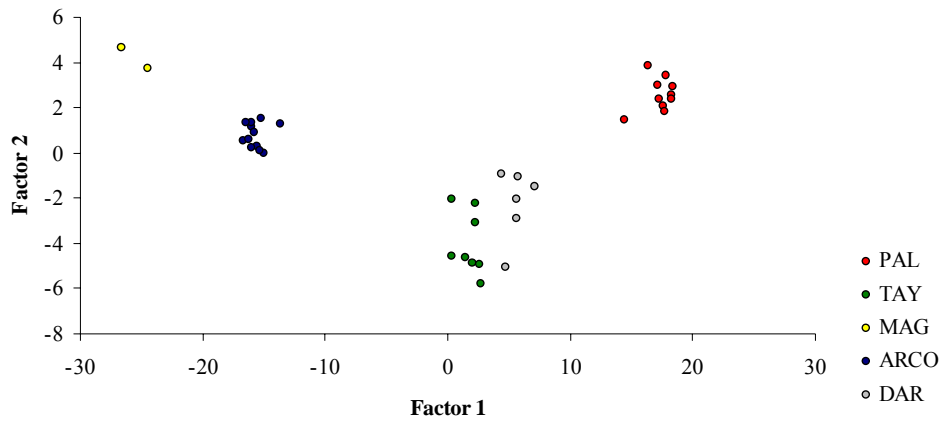
tercer somite abdominal (Ab3A), 2) longitud del isquio del tercer maxilípodo (Mx3IsqL) 3) longitud de la palma del quelípodo (QpPalmaL) y 4) ancho del isquio del tercer maxilípodo (Mx3IsqA).

En cuanto a la variabilidad de los caracteres merísticos, 23 no presentaron variaciones en los ejemplares de *Munida flinti* (Tabla 17) y los siete restantes no mostraron una influencia significativa en las diferencias entre sexos.

**Tabla 17.** Caracteres merísticos no variables en *Munida flinti*

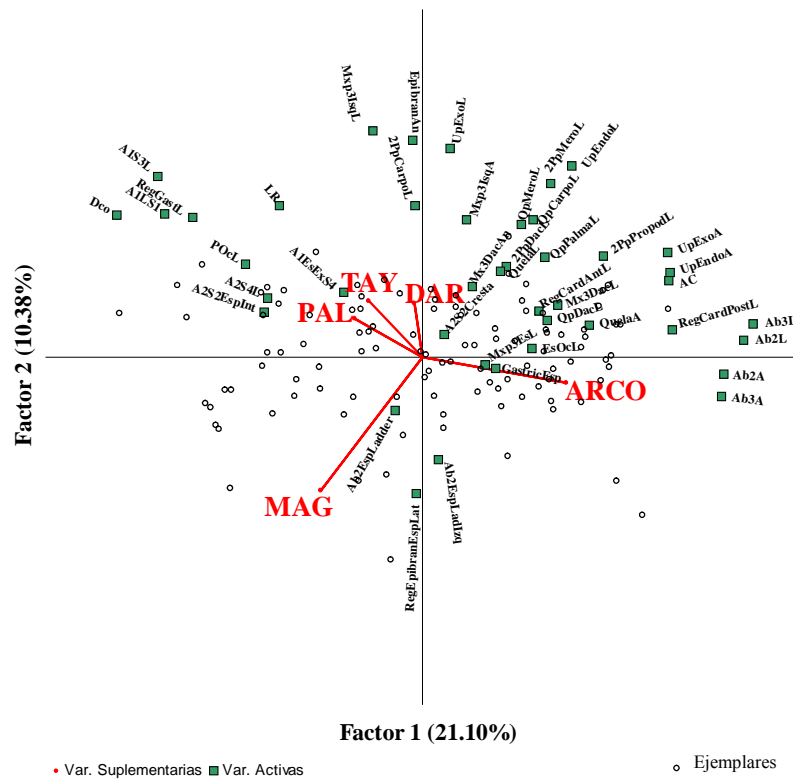
	<b>Nombre de la variable</b>	<b>Sigla</b>
1	Número de espinas postcervicales	Post.Esp
2	Número de espinas en la región protogástrica	Prot. Esp
3	Número de espinas en la región metagástrica	Metaga. Esp
4	Número de espinas en la región cardíaca	Cardiaca Esp.
5	Número de espinas en el margen posterior del caparazón	Mg Post C Esp
6	Número de espinas en el margen lateral de la región hepática	Reg Hep. Esp. Lat
7	Número de espinas en el margen lateral de la región branquial	Reg Bran. Esp. Lat
8	Número de espinas parahepáticas	Parahep. Esp.
9	Número de espinas en el centro del segundo segmento abdominal	Ab2EspCentro
10	Número de espinas en el lado izquierdo del tercer segmento abdominal	Ab3EspLad Izq
11	Número de espinas en el lado centro del tercer segmento abdominal	Ab3EspCentro
12	Número de espinas en el lado derecho del tercer segmento abdominal	Ab3EspLad der
13	Número de espinas en el lado izquierdo del cuarto segmento abdominal	Ab4EspLad Izq
14	Número de espinas en el lado centro del cuarto segmento abdominal	Ab4EspCentro
15	Número de espinas en el lado derecho del cuarto segmento abdominal	Ab4EspLad der
16	Número de espinas en el margen posterior del cuarto segmento abdominal	Ab4Esp Post
17	Número de espinas en el primer segmento antenular	A1S1Esp
18	Número de espinas en el segundo segmento antenular	A1S2Esp
19	Número de espinas en el tercer segmento antenular	A1S3Esp
20	Número de espinas en el primer segmento antenal	A2S1Esp.
21	Número de espinas externas en el segundo segmento antenal	A2S2EspExt
22	Número de espinas en el tercer segmento antenal	A2S3
23	Número de espinas en el cuarto segmento antenal	A2S4

Para determinar si existen diferencias entre grupos, se utilizaron 108 hembras y 39 machos en total. El análisis discriminante en machos muestra una separación de los grupos, sin embargo debido al bajo número de machos, no se pueden dar valores estadísticos de las distancias entre grupos, ni diferencias significativas entre ellos (Fig. 41).



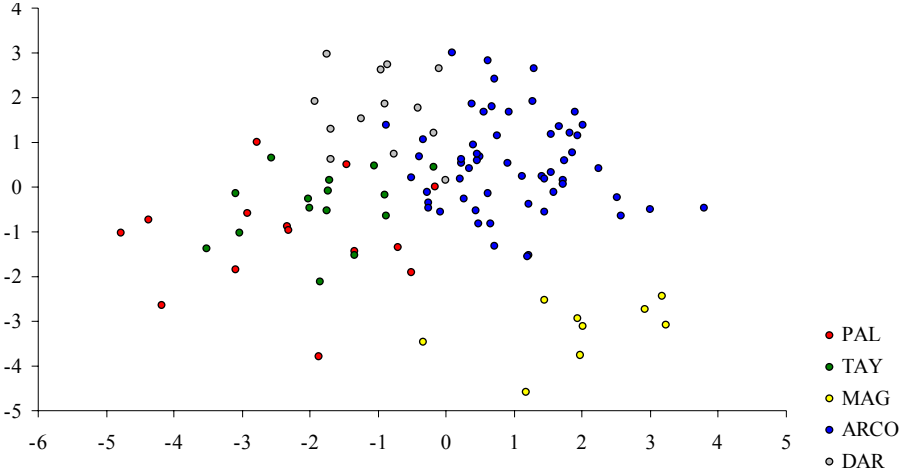
**Figura 41.** Análisis discriminante de los machos de *Munida flinti*. Tayrona (TAY), Palomino (PAL), Magdalena (MAG), Archipiélagos coralinos (ARCO) y Darién (DAR).

En hembras el análisis de componentes principales, los seis primeros valores propios explican el 52.88 % de la variación y los factores 1 y 2 explican el 21.10 % y el 10.38 % de la variación de los caracteres morfológicos y merísticos (Fig. 42).



**Figura 42.** Proyección de las variables y hembras de *Munida flinti*, en el plano de factores (Factor 1 vs. 2) resultado del análisis de componentes principales.

El análisis discriminante mostró diferencias significativas entre Palomino (PAL) y Archipiélagos Coralinos (ARCO) y entre Magdalena (MAG) y Darién (DAR) (Fig. 43).



**Figura 43.** Análisis discriminante de las hembras de *Munida flinti*. Palomino (PAL), Tayrona (TAY), Magdalena (MAG), Archipiélagos Coralinos (ARCO) y Darién (DAR).

Los caracteres morfométricos y morfológicos no muestran exactamente las mismas diferencias entre las poblaciones de *Munida flinti*, sin embargo coinciden en mostrar que en Archipiélagos Coralinos la forma de los ejemplares es diferente (al menos de la de Palomino) y que los ejemplares colectados en Darién se separan de los colectados en Magdalena.

## 6 DISCUSIÓN.

Las especies *Munida flinti* y *M. stimpsoni* a pesar de ser especies morfológicamente muy cercanas, se pueden distinguir empleando caracteres morfológicos y morfométricos, resultando de utilidad la información proporcionada por la variación en la forma del esternito torácico y del caparazón. También es posible detectar dimorfismo sexual y diferencias en la forma relacionada con el estado de madurez de los ejemplares como por ejemplo, en *Agononida longipes* en donde se encontró que los caracteres morfológicos que presentan mayor cambio relacionado con el sexo, son el tamaño del abdomen, de los urópodos, de los pedúnculos oculares y la córnea, caracteres cuya variación había sido detectada. Aunque el dimorfismo sexual es común dentro de los decápodos, en la mayoría de galatéideos los caracteres sexuales que son generalmente descritos son las líneas de cerdas en la placa lateral del telson de los machos de algunas especies (Pike, 1947) y el tamaño mayor de las quelas de los machos con respecto a las quelas de las hembras (Cadien, 1997). Para *Agononida longipes* solamente se describió el dimorfismo sexual con base en el tamaño de los ejemplares, con hembras ovadas más grandes que los machos y los machos más grandes que las hembras no ovadas (Wenner, 1982; Fierro, 2004). Para *Munida flinti* no se había detectado ningún dimorfismo sexual.

Se detectaron variaciones significativas en la morfología y morfometría de las especies *Agononida longipes* y *Munida flinti*. En general se reconocieron tres grupos diferentes para las dos especies distribuidos a lo largo del mar Caribe colombiano, relacionados con un gradiente geográfico. Para *A. longipes*, una de las poblaciones determinadas por la morfología geométrica y la morfometría se encuentra en la Guajira, otro en la parte central agrupando las ecorregiones Tayrona, Palomino y Magdalena, y la tercera población en Darién.

En *Agononida longipes*, los machos colectados en la Guajira se separaron de los machos de otras regiones por el tamaño del abdomen, el ancho de los ejemplares y la longitud de los quelípedos. En las hembras, los caracteres que distinguen los grupos

son el tamaño de los urópodos, el tamaño del tercer par de maxilípedos, la longitud de la región cardíaca posterior, el tamaño de los ojos y la longitud del tercer somite abdominal. Algunos de éstos, son considerados caracteres sexuales secundarios y están directamente relacionados con el estado de madurez y fertilidad de los ejemplares. Las variaciones de este tipo de caracteres entre poblaciones, puede indicar que la madurez de los ejemplares es alcanzada a diferentes tamaños entre las poblaciones, y que existen diferencias en la fertilidad (Haefner, 1981; Hartnoll *et al.*, 1992; Cadrin, 1995 y 2000; Kronenberger & Türkay, 2003).

### **6.1 Factores que pueden influir sobre las poblaciones.**

Las diferencias morfológicas y morfométricas que se presentan entre las poblaciones de *Agononida longipes* y de *Munida flinti* en el mar Caribe colombiano, no necesariamente implican que exista disminución del flujo genético entre los ejemplares de la Guajira y los de las otras ecorregiones; tampoco significa que el grado de divergencia genética sea igual a la divergencia morfológica. Sin embargo, teniendo en cuenta los resultados obtenidos por otros estudios se pueden esperar diferencias a nivel genético entre poblaciones. En invertebrados y vertebrados marinos, se ha encontrado que los análisis morfológicos y morfométricos son consistentes con los análisis moleculares y las diferencias morfológicas son evidencia de la influencia que ejercen las características ecológicas de las ecorregiones sobre los individuos, que eventualmente generan grupos aislados genéticamente (Corti & Crosetti, 1996; Agnèse *et al.*, 1997; Triantaphyllidis *et al.*, 1997; Müller *et al.*, 1998; Rognon *et al.*, 1998; Sarver *et al.*, 1998; Dujardin *et al.*, 1999; Solano *et al.*, 1999; Creasey *et al.*, 2000; Daniels *et al.*, 2001; Young *et al.*, 2002; O'Reilly & Horn, 2004).

Entre los principales factores ecológicos que podrían ejercer alguna influencia sobre las poblaciones en el mar Caribe colombiano se encuentran entre otros: la surgencia de la Guajira, los patrones de corrientes locales, la temperatura, la salinidad y la concentración de oxígeno en el fondo. A continuación se discutirá el posible efecto de algunos de estos factores en la variación de la forma de los ejemplares y en la separación de las poblaciones.

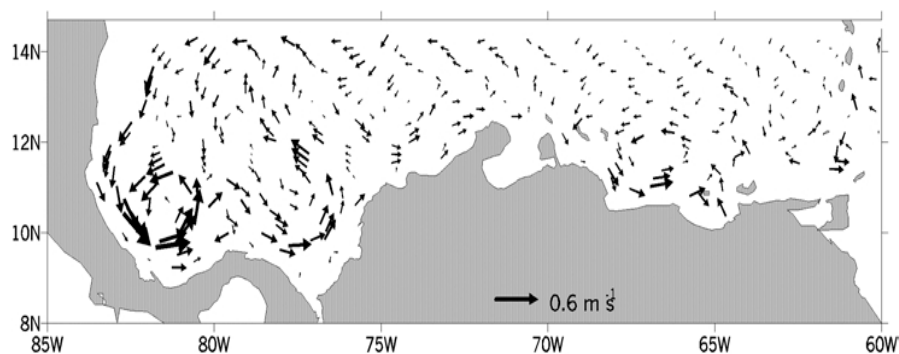
### **6.1.1 Patrones de circulación de aguas en el Caribe colombiano e influencia de los aportes continentales.**

La corriente con mayor influencia en el mar Caribe colombiano, es la Corriente del Caribe que se desplaza de este a oeste, sobre una longitud de casi 2000 km y 800 km de ancho. En la costa Caribe colombiana cerca a la península de la Guajira alcanza velocidades de 57 a 81 cm/s en dirección oeste y sur durante la época seca (INGEOMINAS, 1998) y 42 cm/s en dirección oeste-noroeste durante la época de lluvias (Andrade, 2000).

Al aproximarse a Panamá, la corriente Caribe gira hacia el sur y después al este, produciendo así una contracorriente denominada contracorriente de Panamá, favorecida por el régimen de vientos del Caribe occidental. En la Guajira, la influencia de la contracorriente es mayor durante la época húmeda, y en la época seca alcanza solamente, los alrededores de la desembocadura del río Magdalena, ejerciendo mayor influencia en el golfo de Urabá (INGEOMINAS, 1998; Andrade, 2000). En la parte central de Caribe colombiano se presentan dos células ciclónicas, una al oeste del delta del río Magdalena y otra al oeste de las Islas del Rosario (Pujos *et al.*, 1986) y dentro del golfo de Morrosquillo prevalece un giro anticiclónico (Molina *et al.*, 1995). En el golfo de Urabá se presenta la mayor influencia de la contracorriente de Panamá con predominio de aguas oceánicas, provenientes de la penetración de un ramal de la contracorriente, el cual restringe las aguas dulces sólo a los niveles superficiales (Chevillot *et al.*, 1993).

En la circulación de las aguas subsuperficiales en el mar Caribe colombiano, la contracorriente de Panamá ejerce una influencia evidente hasta los 100 m de profundidad y, con base en modelos matemáticos, a 200 m de profundidad se ha calculado su velocidad por debajo de 0.6 m/s. Una porción de la contracorriente tiene dirección este a lo largo de la costa colombiana hasta la región de la Guajira en donde emerge con la surgencia y asciende hasta la superficie, en donde es afectada por la corriente del Caribe; la otra porción tiene un giro en dirección oeste frente al departamento del Magdalena (Andrade *et al.*, 2003) (Fig. 44)





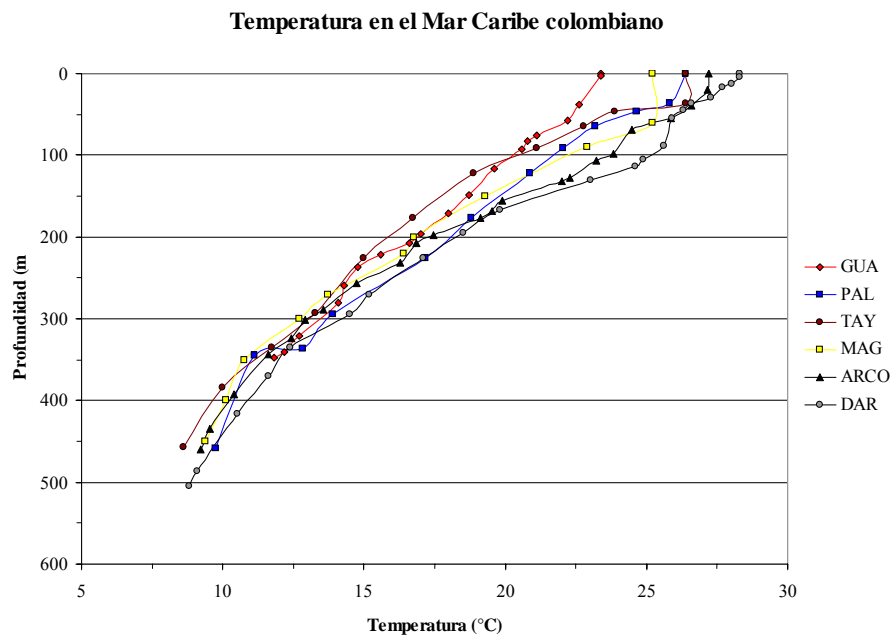
**Figura 44.** Mapa esquemático de circulación de las corrientes en el mar Caribe colombiano a 200m de profundidad. (Tomado de Andrade et. al., 2003)

La presencia de estos dos giros de aguas subsuperficiales, la surgencia en la Guajira, la influencia a nivel local de las células ciclónicas al oeste del río Magdalena y fuera del golfo de Morrosquillo y la circulación en el golfo de Urabá en la ecorregión Darién, provoca diferencias de hasta 5° C en la temperatura del agua a profundidades de hasta 150 m entre la Guajira y el resto de la costa caribe colombiana. Esta diferencia puede determinar la supervivencia de las larvas y provocar asilamiento poblacional al limitar el flujo de inmigrantes entre poblaciones. Además puede generar variaciones en el tiempo de desarrollo tanto de las larvas como de los adultos y podría estar influenciando la separación de las tres poblaciones de *Agononida longipes* y *Munida flinti* en el Caribe colombiano.

### **6.1.2 Temperatura.**

La temperatura y la disponibilidad de alimento son posiblemente, los factores que mayor influencia tienen sobre el desarrollo y el crecimiento de los crustáceos. La temperatura tiene un efecto antagónico en el crecimiento de los ejemplares, ya que el incremento de ésta, aumenta el número de mudas y disminuye el período entre mudas, pero también disminuye el incremento de tamaño después de cada muda, lo que implica que las tasas de crecimiento se mantengan bajas a temperaturas altas (Hartnoll, 2001). La disminución en la temperatura implica para el organismo, mayor tiempo para alcanzar un determinado estado de desarrollo (sea desarrollo larval o madurez sexual) pero también tamaños mayores de los ejemplares.

En el Mar Caribe colombiano, la temperatura a profundidades cercanas a los 300 m de profundidad, se encuentra entre 12 y 14 °C (Schlitzer, 2004). Por encima de los 150 m, las temperaturas varían a lo largo de la costa del Caribe colombiano, debido a la presencia de zonas de surgencia en algunas áreas y el efecto de las corrientes locales. En el área de la Guajira, el efecto de surgencia, documentado por varios autores (Blanco, 1988; Álvarez-León *et al.*, 1995; INVEMAR, 2000), provoca condiciones de temperaturas menores y salinidades más altas con respecto a las ecorregiones Magdalena y Darién (Fig. 45).



**Figura 45.** Promedio anual de temperatura en el mar Caribe colombiano por ecorregiones (Schlitzer, 2004).

En los galatéidos se han determinado entre cuatro y cinco estados larvales planctónicos y planctotróficos con postlarvas bentónicas poco después de la metamorfosis, este proceso al parecer dura entre 30 y 60 días y está fuertemente influenciado por la temperatura (Lebour, 1930 y 1931; Huss, 1934; Gore, 1979). El efecto de la temperatura se manifiesta en un aumento en el tiempo de desarrollo y por ende en la duración en el plancton a temperaturas bajas, lo que en la mayoría de los invertebrados marinos, influye directamente en el grado de diferenciación de las poblaciones (Jablonski, 1986; Russo *et al.*, 1994; Silva & Russo, 2000).

Respecto a la distribución de las larvas de galatéideos en la columna de agua, no existe mucha información, excepto que las larvas de algunas especies de *Munida* y *Galathea* se han capturado desde 20 hasta 250 m de profundidad (Huss, 1934; Rivera & Mujica, 2004).

*Agononida longipes* es una especie de distribución amplia en aguas tropicales y templadas del Atlántico, siendo colectada en mares relativamente fríos a profundidades entre 175 m (12.6° C) hasta 613 m (5.0° C) (Wenner, 1982), en fondos de arena gruesa y lodo (Melo-Filho & Melo, 2001a) lo que sugiere una amplia tolerancia de la especie a la temperatura.

*Munida flinti* es una especie de aguas más someras y cálidas que *Agononida longipes*, colectada en aguas con temperaturas que fluctúan entre 12 y 20° C y salinidades entre 28 y 36 (Melo-Filho & Melo, 2001a), entre 11m y 315m de profundidad (Melo-Filho & Melo, 2001b), además es más abundante y frecuente en aguas templadas que en aguas tropicales, entre 100 y 300 m de profundidad (Melo-Filho, 1992). Los registros de la especie en aguas someras parecen excepcionales, presentándose solamente en aguas brasileras con temperaturas cercanas a 12° C (Melo-Filho & Melo, 2001a). Además, es una especie que prefiere los fondos con sedimentos de tipo lodoso con restos de coral, como los que se presentan en la ecorregión Archipiélagos Coralinos.

### **6.1.3 Disponibilidad de alimento.**

La presencia de materia orgánica en los fondos profundos es uno de los factores que determina la estructura de la comunidad (Grassle & Morse-Porteous, 1987), siendo los pastos marinos la principal fuente de alimento para la macrofauna (Suchanek *et al.*, 1985; Young *et al.*, 1993). En el mar Caribe colombiano, se colectó gran cantidad de materia orgánica durante las expediciones *INVEMAR-MACROFAUNA I* y *II*, principalmente en la parte norte, desde los 100 m hasta los 500 m. En su mayoría la materia orgánica, estaba compuesta por hojas de *Thalassia testudinum*, pedazos de madera de diferentes tamaños y, en algunos casos, hojas de Mangle. Aunque las praderas de pastos se encuentran en las zonas fóticas, al desprenderse, los

pastos marinos son transportados hasta el talud por las corrientes, constituyéndose en fuente de alimento para los organismos de zonas más profundas. En el mar Caribe colombiano, dos de las principales zonas de praderas de pastos marinos son: la región de la Guajira con una extensión aproximada de 346 km<sup>2</sup>, y un área comprendida entre Cartagena y el golfo de Morrosquillo con otros 57 km<sup>2</sup> (Díaz & Garzón-Ferreira, 2001) y justamente en estas dos áreas geográficas Guajira (para *Agononida longipes*) y Archipiélagos Coralinos (para *Munida flinti*) se encontraron las mayores variaciones de forma dentro de los ejemplares y las mayores abundancias de las especies.

Además de la presencia de praderas de pastos en la Guajira, la influencia de la surgencia incrementa la productividad del área, lo que repercute indirectamente en el desarrollo de los individuos y su fecundidad. En la ecorregión de los Archipiélagos Coralinos aunque no se presenta un efecto de surgencia, los aportes de nutrientes de los ríos Magdalena y Sinú convergen en el área, incrementando también su productividad, aunque en un menor grado que en la Guajira.

El hecho de que los galatéideos sean de hábitos omnívoros parece favorecer su abundancia en el talud continental ya que pueden aprovechar una gran variedad de fuentes alimenticias como detritus, arena fina, pequeñas piezas de algas rojas y verdes, algunas diatomeas y algas unicelulares, partes de pequeños crustáceos, huevos, gastrópodos, nemátodos, foraminíferos, e incluso algunos pedazos grandes de tejido animal y vegetal (Nicol, 1932; Romero *et al.*, 2004). En general los galatéideos se alimentan utilizando dos métodos: tomando con las quelas y los maxilípedos grandes piezas de comida, la cual puede ser tejidos de animales muertos o presas vivas y pasándola a las mandíbulas; o bien usando los terceros maxilípedos y pereiópodos para coleccionar material del sustrato (Nicol, 1932; Garm & Høeg, 2000; Romero *et al.*, 2004). A pesar de la importancia ecológica de *Agononida longipes* y *Munida flinti* (por su abundancia), sólo hasta el año 2003 fueron registradas estas especies para el mar Caribe colombiano (Navas *et al.*, 2003) y hasta el momento no se conoce mucho sobre la biología y los hábitos alimenticios de estas especies. Los pocos registros que existen de los hábitos de la familia se limitan a las especies

*Munida rugosa*, *M. subrugosa*, *M. sarsi*, *Galathea squamifera*, *G. stigosa*, *G. dispersa* (Nicol, 1932; Garm & Høeg, 2000; Romero *et al.*, 2004) dificultándose una interpretación de los resultados con base en la biología de las especies estudiadas y solamente se puede suponer que comparten ciertas características con otras especies de la familia.

## 7 CONCLUSIONES.

Los patrones de distribución de las poblaciones de *Agononida longipes* y *Munida flinti*, no están determinados por la influencia del río Magdalena. Esta distribución parece estar más relacionada con los patrones de corrientes en el mar Caribe colombiano, en especial por la acción de la contracorriente de Panamá.

La utilización conjunta de morfometría geométrica y estadística multivariada, demostró ser de utilidad para la determinación y descripción de la variación de la forma en *Agononida longipes*, *Munida flinti* y *M. stimpsoni*, separando claramente las especies por la forma del esternito torácico, el caparazón y las relaciones corporales empleadas.

Dentro del complejo *Munida stimpsoni*, por lo menos las especies *Munida stimpsoni* y *M. flinti* se diferencian claramente la una de la otra empleando caracteres morfométricos y morfológicos, y no se justifica el uso de la palabra “complejo” para sugerir la similaridad morfológica entre las dos especies. El uso de los caracteres merísticos no es suficiente para separar con claridad estas dos especies, pero otros datos confirman las diferencias morfológicas existentes.

La morfometría y morfología geométrica revelaron la existencia de dimorfismo sexual de las especies *Agononida longipes* y *Munida flinti*, pudiéndose determinar las estructuras que presentan mayor variación entre sexos.

Las especies *Agononida longipes*, *Munida stimpsoni* y *M. flinti* presentan crecimiento alométrico, que influye en la forma de los ejemplares.

Si bien la división ecológica costera propuesta por el INVEMAR no presenta los mismos límites de las ecorregiones a 150 y 300 m de profundidad, la distribución de las poblaciones *Agononida longipes* y *Munida flinti* sugieren la existencia de diferencias ecológicas importantes en el Caribe colombiano, que justifican el uso de unidades ecológicas diferentes que deben tener un manejo independientemente.

## 8 GLOSARIO.

Extractado y traducido de: A Glossary for Geometric Morphometrics (Slice *et al.*, 1996).

**Centroide (*centroide size*):** Es la raíz cuadrada de la suma de distancias de cuadrados de un grupo de puntos anatómicos desde su centro, o, equivalentemente, la raíz cuadrada de la suma de varianzas de los puntos anatómicos alrededor del centroide en  $x$  y  $y$  direcciones. El tamaño del Centroide es usado en morfometría geométrica porque casi no está correlacionado con cada forma variable, cuando los puntos anatómicos están distribuidos alrededor de la posición media por ruido independiente de una misma varianza pequeña, a cada punto anatómico y en cada dirección. El tamaño de Centroide es la medida del tamaño usado a escala con la configuración de los puntos anatómicos así ellos pueden ser graficados como un punto en un espacio de forma de Kendall. El denominador de la fórmula para las distancias de deformación (*procrustes distance*) entre dos grupos de configuración de puntos anatómicos es el producto de los tamaños de Centroide.

**Componentes principales (*relative warp*):** Son los componentes principales de la distribución de la forma en el espacio tangente de Kendall's. Estos son los ejes del elipsoide ocupado por la muestra de formas en una geometría en la cual la esfera está definida por una distancia de deformación (*procrustes distance*). Cada componente principal (*relative warp*), entendido como una dirección del cambio de la forma cerca de la forma promedio, puede ser interpretada como múltiples especificaciones de una transformación simple, una transformación que puede, a menudo, ser usada como una grilla de deformación (*Thin-plate-spline*).

**Componentes de forma uniformes (*uniform shape component*).** Estos componentes describen que parte de la diferencia en la forma entre un grupo de configuraciones, puede ser modelada por una transformación afín. Una vez se proporciona una métrica para el espacio de forma, se puede averiguar que tipo de transformación toma una forma de referencia cercana a una forma promedio

particular. Para la métrica de deformación (*procrustes metric*), también denominada geometría del espacio de forma de Kendall, esa transformación uniforme es obtenida por una fórmula basada en los residuos de deformación (*procrustes residuals*) o por otra, basada en coordenadas X,Y de forma. Una explicación más amplia de estas transformaciones se puede encontrar en Bookstein's 1996 "Uniform" chapter, NATO volume "white book". Junto con los vectores propios (*partial warps*), los componentes uniformes definidos dan una base ortonormal para todo el espacio de forma en la cercanía de la forma promedio. De esta forma, los componentes uniformes de forma pueden también ser interpretados como la proyección de una diferencia de la forma (entre dos grupos, o entre una promedio y un espécimen particular) en el plano (o hiperplano para datos de dimensiones mayores a dos) a través de la forma promedio y todas las formas cercanas relacionadas con ella mediante transformaciones afines.

**Datos de los vectores propios (*partial warps scores*):** Son las cantidades que caracterizan la localización de cada espécimen en el espacio de los vectores propios (*partial warps*). Éstos son calculados desde una rotación de los residuos de deformación (*procrustes residuals*), alrededor de la configuración media de deformación (*procrustes mean*).

**Distancia de deformación (*procrustes distance*):** Es aproximadamente la raíz cuadrada de la suma de diferencias cuadradas entre la posición de los puntos anatómicos (*Landmarks*), en dos configuraciones óptimamente superpuestas (por mínimos cuadrados) al tamaño del *centroide*. Esta es la distancia que define la métrica del espacio de forma de Kendall.

**Grillas de deformación (*Thin-plate spline*):** En la mecánica de serie continua, los modelos de grillas de deformación recrean la forma tomada por una placa del metal que es forzada por una cierta combinación de puntos y de líneas a adoptar una forma tal que reduce al mínimo energía de curvatura. Esto significa que una placa infinita y uniforme, puede ser deformada en un sistema de puntos discretos, el cual puede ser solucionado de manera algebraica por una matriz inversa. De esta forma, la técnica provee un acercamiento general conveniente al problema de la interpolación



superficial para los gráficos de computadora y el diseño automatizado. En morfometría geométrica, la misma interpolación (hecha una vez para cada coordenada cartesiana), proporciona una solución única a la construcción de tipo de grillas de deformación de D'Arcy Thompson para los datos de la forma de dos configuraciones de puntos anatómicos.

**Matriz “W” (*Weight matrix*):** Es la matriz de los datos de los vectores propios, junto con los componentes uniformes, para una muestra de formas. Esta matriz se calcula como la rotación de los residuos de deformación de las coordenadas de la forma; al igual que los residuos de deformación, la matriz es un grupo de coordenadas de forma para la cual las diferencias de las sumas de cuadrados es el cuadrado de la distancia de deformación (*procrustes distance*) entre cualquier par de especímenes, y se emplea para realizar los análisis estadísticos entre grupos.

**Media de deformación (*procrustes mean*):** La forma que tiene la menor suma de cuadrados de la distancia de deformación (*procrustes distance*) a toda la configuración de una muestra; la mejor elección de la configuración de consenso para la mayoría de los análisis morfométricos subsecuentes.

**Método de mínimos cuadrados (*procrustes fit*):** Serie de métodos de mínimos cuadrados para estimar las diferencias entre formas empleando puntos anatómicos como datos.

**Ortogonal:** Ángulos rectos. En álgebra lineal, se definen como ángulos rectos, los relativos a una matriz simétrica **P**, como la matriz de energía de curvatura; dos vectores **x** y **y** y son ortonormales con respecto a **P** si  $\mathbf{x}^t \mathbf{P} \mathbf{y} = 0$ . Los vectores propios (*partial warps*) son ortogonales con respecto a la matriz de energía de curvatura, y los componentes principales (*relative warps*) son ortogonales con respecto a la matriz de energía de curvatura y la matriz de covarianza de la muestra.

**Puntos anatómicos (*landmark*):** Un punto específico de una forma biológica, localizada de acuerdo a algún parámetro o regla. Los puntos anatómicos con el mismo nombre, homólogos en el puro sentido semántico, se asumen como

correspondientes, de alguna manera, en las formas del grupo de datos.

**Residuos de deformación (*procrustes residual*):** El grupo de vectores que conectan los puntos anatómicos del espécimen con los puntos anatómicos correspondientes a la configuración consenso, después de realizar los métodos de mínimos cuadrados (*procrustes fit*). La suma de cuadrados de longitud de estos vectores es aproximadamente el cuadrado de la distancia de deformación (*procrustes distance*) entre el espécimen y el consenso en un espacio de forma de Kendall. Los datos de los vectores propios (*partial warps scores*) son una rotación ortogonal del grupo completo de estos residuos

**Vectores propios (*partial warps*):** Estructura auxiliar para la interpretación de los cambios en la forma. Geométricamente, los vectores propios constituyen una base ortonormal del espacio tangente. Algebraicamente ellos son los vectores propios de la matriz de energía de curvatura que describe las deformaciones a lo largo de los ejes de coordenadas. Los vectores propios son (aproximadamente) localizables y tiene escala (aproximada), excepto para escalas muy grandes y para componentes uniformes de forma (*uniform shape component*).

## 9 BIBLIOGRAFIA.

- Abele, L.G. 1982. Biogeography. pp. 242-304. *En*: L.G. Abele (ed.). Systematics, the fossil record, and biogeography. Academic Press.
- Agnèse, J.F., G.G. Teugels, P. Galbusera, R. Guyomard & F. Volckaert. 1997. Morphometric and genetic characterization of sympatric populations of *Clarias gariepinus* and *C. anguillaris* from Senegal. *Journal of Fish Biology*. 50 (6): 1143-1157
- Alunno-Bruscia, M. & B. Sainte-Marie. 1998. Abdomen allometry, ovary development, and growth of female snow crab, *Chionoecetes opilio* (Brachyura, Majidae), in the northwestern Gulf of St. Lawrence. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences/J. Can. Sci. Halieut. Aquat.* 55 (2): 459-477
- Álvarez-León, R., J. Aguilera-Quiñones, C.A. Andrade-Amaya & P. Norwak. 1995. Caracterización general de la zona de surgencia en la Guajira colombiana. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. 19 (75): 679-694
- Andrade, C.A. 2000. Circulation and variability of the Colombian Basin in the Caribbean Sea. Thesis PhD., University of Wales, U.K., Menai Bridge. 223 pp.
- Andrade, C.A., E.D. Barton & C.N.K. Mooers. 2003. Evidence for an eastward flow along the Central and South American Caribbean Coast. *Journal of Geophysical Research*. 108 (C6): 3185, doi:10.1029/2002JC001549
- Avise, J.C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. C. Hall. (ed.) U.S.A. 511 pp.
- Avise, J.C. 2000. *Phylogeography: The history and formation of species*. Harvard University Press. Cambridge, MA. 447 pp.
- Benedict, J.E. 1902. Description of a new genus and forty six new species of crustaceans of the family Galatheidae with a list of the known marine species. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 26 (1311): 233-334
- Benzie, J.A. 2000. Population genetic structure in Penaeid prawns. *Aquaculture Research*. 31: 95-119
- Bermúdez, A. 2000. Diversidad y distribución de los crustáceos decápodos de la franja superior del talud continental (300-500 m de profundidad) en la parte norte del Caribe colombiano. Pregrado, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 414 pp.

- Birch, J.M. 1999. Skull allometry in the Marine Toad, *Bufo marinus*. *Journal of Morphology*. 241: 115-126
- Blanco, J.A. 1988. Las variaciones ambientales estacionales en las aguas costeras y su importancia para la pesca en la región de Santa Marta, Caribe colombiano. M. Sc. Biología Marina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 60 pp.
- Bookstein, F.L. 1989. "Size and shape": a comment on semantics. *Systematic Zoology*. 38: 173-180
- Bookstein, F.L. 1990. Introduction to methods of landmark data. pp. 215-225. *En*: F.J. Rohlf & F.L. Bookstein (ed.). *Proceedings of the Michigan morphometrics workshop*. Special publication number 2
- Bookstein, F.L. 1991. *Morphometric tools for landmark data. Geometry and Biology*. Cambridge University Press. New York. 435 pp.
- Bookstein, F.L. 1996. Combining the tools of geometric morphometrics L.F. Marcus, M. Corti, A. Loy, G.J.P. Naylor & D.E. Slice (ed.). *Plenum Press. Advances in morphometrics* New York. 131-151 pp.
- Bookstein, F.L., B. Chernoff, R.L. Elder, J.M. Humphries, Jr., G.R. Smith & R.E. Strauss. 1985. *Morphometrics in Evolutionary Biology. The geometry of size and shape change, with examples from fishes*. The Academy of Natural Sciences of Philadelphia. Special Publication 15. 277 pp.
- Briggs, J.C. 1973. Operation of zoogeographic barriers. *Systematic Zoology*. 23: 284-256
- Briggs, J.C. 1974. *Marine Zoogeography*. McGraw-Hill. New York. 475 pp.
- Cadien, D. 1997. California Galatheids. CSDLAC. 1-5
- Cadrin, S.X. 1995. Discrimination of American lobster (*Homarus americanus*) stocks off southern New England on the basis of secondary sex character allometry. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 52: 2712-2723
- Cadrin, S.X. 2000. Advances in morphometric identification of fishery stocks. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 10: 91-112
- Castellano, S., C. Giacoma & T. Dujsebayaeva. 2000. Morphometric and advertisement call geographic variation in polyploid green toads. *Biological Journal of the Linnean Society*. 70: 341-360
- Castellano, S., C. Giacoma, T. Dujsebayaeva, G. Odierna & E. Balletto. 1998. Morphometrical and acoustical comparison between diploid and tetraploid green toads. *Biological Journal of the Linnean Society*. 63: 257-281

- Castilho, A.L., M.L. Negreiros-Fransozo, A.P. Pinheiro & F.A.M. Freire. 2004. Seleção sexual dos pleópodos de camarões Penaeoidea (Crustacea, Decapoda). XXV Congresso Brasileiro de Zoologia: Resumos. Brasília, 8 a 13 de fevereiro. Sociedade Brasileira de Zoologia 70
- Chace, F.A., Jr. 1942. Reports on the scientific results of the Atlantis Expeditions to the West Indies, under the joint auspices of the University of Havana and Harvard University. The anomuran crustacean I. Galatheidea. Torreia, Havana. 11: 1-106
- Chevillot, P., A. Molina M., L. Giraldo & C. Molina M. 1993. Estudio geológico e hidrológico del Golfo de Uraba. Boletín Científico CIOH. (14): 79-89
- CORPES. 1992. El Caribe colombiano realidad ambiental y desarrollo Santa Marta, Colombia. 275 pp.
- Corti, M. & D. Crosetti. 1996. Geographic variation in the grey mullet: a geometric morphometric analysis using partial warp scores. The Fisheries Society of the British Isles. 255-269
- Creasey, S., A. Rogers, P. Tyler, J. Gage & D. Jollivet. 2000. Genetic and morphometric comparisons of squat lobster, *Munidopsis scobina* (Decapoda: Anomura: Galatheidae) populations, with notes on the phylogeny of the genus *Munidopsis*. Deep-Sea Research II. 47: 87-118
- Cruz, N. 2001. Caracterización de los crustáceos decápodos de la franja superior del Talud continental en la parte sur del mar Caribe colombiano. Pregrado, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 354 pp.
- Daniels, S.R., B.A. Stewart, T.M. Ridgway & W. Florence. 2001. Carapace dentition patterns, morphometrics and allozyme differentiation amongst two toothed freshwater crab species (*Potamonautes warreni* and *P. unispinus*) (Decapoda: Brachyura: Potamonautidae) from river systems in South Africa. Journal of Zoology, London. 255: 389-404
- Díaz, G.A., S.G. Smith, J.E. Serafy & J.S. Ault. 2000. Allometry of the growth of pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* in a Subtropical Bay. Transactions of the American Fisheries Society. 130 (2): 328-335
- Díaz, J.M. & J. Garzón-Ferreira. 2001. Estado de las praderas de pastos marinos en Colombia año 2000. En: M. Santos A. (ed.). Informe del Estado de los Ambientes Marinos y Costeros en Colombia. Unidad de Divulgación - SINAM. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives De Andrés" Vinculado al Ministerio del Medio Ambiente. Santa Marta Colombia. 148 p.

- Dujardin, J.P. 2002. PADWin\_47 Versión: 2, Unité de Recherches 062- Unité Mixte de Recherches UMR9926, Institut de Recherches pour le Développement (IRD, France).
- Dujardin, J.P. 2003. MOGWin\_62 Versión: 2, Unité de Recherches 062- Unité Mixte de Recherches UMR9926, Institut de Recherches pour le Développement (IRD, France)
- Dujardin, J.P., P. Panzera & C.J. Schofield. 1999. Triatominae as a model of morphological plasticity under ecological pressure. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 94 (Suppl. 1): 223-228
- Ehrlich, P.R. & P.H. Raven. 1969. Differentiation of populations. Science. 165: 1228-1232
- Estrella, B.T. & S.X. Cadrin. 1995. Fecundity of the American lobster (*Homarus americanus*) in Massachusetts coastal waters. ICES. Marine Science Symposia. 199: 61-72
- Fierro, M. 2004. Estudio de los principales aspectos biológicos y de distribución de las especies dominantes de *Agononida*, *Munida* y *Munidopsis* en el Caribe colombiano (Crustacea: Decapoda: Galatheidae). Pregrado, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 122 pp.
- Garm, A. & J.T. Høeg. 2000. Functional mouthpart morphology of the squat lobster *Munida sarsi*; with comparison to other anomurans. Marine Biology. 137: 123-138
- Gore, H.R. 1979. Larval development of *Galathea rostrata* under laboratory conditions, with a discussion of larval development in the Galatheidae (Crustacea Anomura). Fishery Bulletin. 76: 781-806
- Grassle, J.F. & L.S. Morse-Porteous. 1987. Macrofaunal colonization of disturbed deep-sea environments and the structure of deep-sea benthic communities. Deep-Sea Research I. 34: 1911-1950
- Haefner, P.A., Jr. 1981. Morphometry, reproductive biology, and diet of *Acanthocarpus alexandri* Stimpson, 1871 (Decapoda, Brachyura) in the Middle Atlantic Bight. Journal of Crustacean Biology. 1 (3): 384-357
- Hartnoll, R.G. 2001. Growth in Crustacea - twenty years on. Hydrobiologia. 449: 111-122
- Hartnoll, R.G., A.L. Rice & M.J. Attrill. 1992. Aspects of the biology of the galatheid genus *Munida* (Crustacea, Decapoda) from the Porcupine Seabight, Northeast Atlantic. Sarsia. 76: 231-246

- Hedgecock, D. 1986. Is gene flow from pelagic larval dispersal important in the adaptation and evolution of marine invertebrates? *Bulletin of Marine Science*. 39 (2): 550-564
- HIMAT. 1985. Calendario meteorológico. pp. 169-190, Himat, Bogotá
- Hirose, G.L. & M.L. Negreiros-Fransozo. 2004. Crescimento relativo e maturidade sexual morfológica de *Uca maracoani* (Ocypodidae) num manguezal de Paraty, RJ. XXV Congresso Brasileiro de Zoologia: Resumos. Brasília, 8 a 13 de fevereiro. Sociedade Brasileira de Zoologia 61
- Huss, J. 1934. Zur morphologisch-systematischen und biologischen Kenntnis der nordischen *Munida*-Larven (Crustacea Decapoda). *Bergens Museums Arbok. Naturvidenskapelig rekke*. 8: 1-32
- INGEOMINAS. 1998. Geomorfología y aspectos erosivos del litoral Caribe colombiano. Geomorfología y aspectos erosivos del litoral Pacífico colombiano. Publicación geológica especial Bogotá. 111 pp.
- INVEMAR. 2000. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras “*José Benito Vives De Andrés*”. Programa nacional de investigación en biodiversidad marina y costera (PNIBM) J.M. Díaz & D.I. Gómez (ed.). INVEMAR, FONADE y MMA. Santa Marta, Colombia. 83 pp.
- Jablonski, D. 1986. Larval ecology and macroevolution in marine invertebrates. *Bulletin of Marine Science*. 39: 565-587
- Knutsen, H., P.E. Jorde, C. André & N.C. Stenseth. 2003. Fine-scale geographical population structuring in a highly mobile marine species: The Atlantic cod. *Molecular Ecology*. 12: 385-394
- Kraemer, K. & W. Barthlott. 1998. Biodiversity - a challenge for Research and Policy. Cuvillier Verlag. Biodiversity of Colombia, A call for Colombian-German cooperation Göttingen, Bonn. 9-13 pp.
- Kronenberger, K. & M. Türkay. 2003. A population study of *Galathea intermedia* (Crustacea: Decapoda: Anomura) in the German Bight. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 83: 133-141
- Lebour, M.V. 1930. The larvae of the Plymouth Galatheidae. I. *Munida banffica*, *Galathea strigosa* and *Galathea dispersa*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 17 (1): 175-187
- Lebour, M.V. 1931. The larvae of the Plymouth Galatheidae. II *Galathea squamifera* and *Galathea intermedia*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 17 (2): 385-390

- López, J.E. & C.A. Pfister. 2001. Local population dynamics in metapopulation models: Implications for conservation. *Conservation Biology*. 15 (6): 1700-1709
- Loveless, M.D. & J.L. Hamrick. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 15: 65-95
- Melo-Filho, G.A.S. 1992. Taxonomia e distribuição do gênero *Munida* Leach (Crustacea: Decapoda: Galatheidae) na costa brasileira. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista. 187 pp.
- Melo-Filho, G.A.S. & G.A.S. Melo. 1992. Reexamination of the material of *Munida* Leach (Crustacea: Anomura: Galatheidae) collected by the H.M.S. *Challenger* (1872-1876) along the Brazilian Coast. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 105 (4): 760-774
- Melo-Filho, G.A.S. & G.A.S. Melo. 1997. Redescricao e designação de lectótipos para duas espécies do gênero *Munida* Leach 1820 (Crustacea: Decapoda: Galatheidae) coletadas pelo U.S.F.C. "Albatross" (1885) no Golfo do México. *Papeis Avulsos de Zoologia*. 40 (12): 189-202
- Melo-Filho, G.A.S. & G.A.S. Melo. 2001a. Espécies do gênero *Munida* Leach (Crustacea, Decapoda, Galatheidae) coletadas entre Torres (Rio Grande do Sul, Brasil) e Maldonado (Uruguai) pelo Programa Rio Grande do Sul (PRS I-II, GEDIP). *Revista Brasileira de Zoologia*. 18 (4): 1177-1196
- Melo-Filho, G.A.S. & G.A.S. Melo. 2001b. Taxonomia e zoogeografia das espécies do gênero *Munida* Leach, 1820 (Crustacea: Decapoda: Galatheidae) distribuídas ao longo da costa temperada-quente do Atlântico sul ocidental. *Tropical Oceanography, Recife*. 29 (1): 37-59
- Melville, F. & M. Burchett. 2002. Genetic variation in *Avicenia marina* in three estuaries of Sydney (Australia) and implications for rehabilitation and management. *Marine Pollution Bulletin*. 44: 469-479
- Milne-Edwards, A. 1880. Reports on the results of dredging, under the supervision of Alexander Agassiz, in the Gulf of Mexico and in the Caribbean Sea, 1877, '78, '79, by the United States Coast survey Steamer Blake ... VIII. - Études préliminaires sur les Crustacés. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*. 8 (1): 1-68
- Milne-Edwards, A. & E.L. Bouvier. 1897. Reports on the results of dredging, under the supervision of Alexander Agassiz, in the Gulf of Mexico (1877-78), in the Caribbean Sea (1878-79), and along the Atlantic Coast of the United States (1880), by the U.S. Coast Survey Steamer "Blake", Lieut. Com. C. D. Sigsbee, U.S.N., and Commander J. R. Bartlett, U.S.N., commanding. XXXV. Description des Crustacés de la famille des Galathéidés recueillis pendant l'expédition. *Memoirs of the Museum of Comparative Zoology*. 19 (2): 141



- Molina, A., C. Molina, L. Giraldo, C. Parra & P. Chevillot. 1995. Dinámica marina y sus efectos sobre la geomorfología del Golfo de Morrosquillo. *Boletín Científico CIOH*. (15): 93-113
- Monteiro, L.R. & S.F. dos Reis. 1999. *Principios de Morfometria Geométrica*. Holos (ed.) Ribeirão Preto, Brasil. 189 pp.
- Müller, J., E. Partsch, A. Link & A. Seitz. 1998. Differentiation of two cryptic *Gammarus fossarum* types in a contact area: Morphology, habitat preference, and genetics. pp. 279-305. *En: F.R. Schram & J.C. von Vaupel Klein (ed.). Crustaceans and the biodiversity crisis: Proceedings of the Fourth International Crustacean Congress., Amsterdam.*
- Myers, A.A. & P.S. Giller. 1988. *Analytical biogeography: an integrated approach to the study of animal and plant distributions* A.A. Myers & P.S. Giller (ed.). Chapman y Hall. New York. 578 pp.
- Nadig, S.G., K.L. Lee & S.M. Adams. 1998. Evaluating alterations of genetic diversity in sunfish populations exposed to contaminants using RAPD assay. *Aquatic toxicology*. 43: 163-178
- Navas, G.R., A. Bermúdez, N. Cruz & N.H. Campos. 2003. Galatéideos (Decapoda, Anomura, Galatheidae) del Caribe colombiano, incluyendo doce primeros registros. *Boletín Investigaciones Marinas y Costeras*. 32: 3-18
- Nicol, E.A.T. 1932. The feeding habits of the Galatheidea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 18: 87-106
- O'Reilly, K.M. & M.H. Horn. 2004. Phenotypic variation among populations of *Atherinops affinis* (Atherinopsidae) with insights from a geometric morphometric analysis. *Journal of Fish Biology*. 64: 1117-1135 <http://www.blackwell-synergy.com>.
- Palumbi, S.R. 1992. Marine speciation on a small planet. *Trends in Ecology and Evolution*. 7: 114-117
- Palumbi, S.R. 1996. What can molecular genetics contribute to marine biogeography? An urchin's tale. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 203: 75-92
- Palumbi, S.R. & J.A. Benzie. 1991. Large mitochondrial DNA differences between morphologically similar Penaeid shrimp. *Mol. Mar. Biol. Biot.* 1 (1): 27-34
- Pequegnat, L.H. & W.E. Pequegnat. 1970. Deep sea anomurans of superfamily Galatheoidea with descriptions of three new species. pp. 125-170. *En: W.E. Pequegnat & F.A. Chace, Jr (ed.). Contributions on the biology of the Gulf of México. Texas A & M. Univ. Oceanogr. Studies.*

- Pike, R.B. 1947. XXXIV. Galathea. pp. 178. *En:* R.J. Daniel (ed.). L.M.B.C. Memoirs on typical British marine plants & animals. Department of oceanography, University of Liverpool. Liverpool.
- Posada, B.O. & D.M. Roza. 2002. Marco geográfico. pp. 16-31. *En:* INVEMAR (ed.). Informe del estado de los ambientes marinos y costeros en Colombia. Año 2002. Santa Marta.
- Primer-E. 2001. PRIMER 5 Versión: 5.2.2 Primer-E, Ltd.
- Pujos, M., J.-L. Pagliardini, R. Steer, G. Vernet & O. Weber. 1986. Influencia de la Contra-Corriente Norte colombiana para la circulación de las aguas en la plataforma continental: su acción sobre la dispersión de los efluentes en suspensión del Río Magdalena. *Boletín Científico CIOH.* (6): 3-15
- Reaka, M.L. 1980. Geographic range, life history patterns, and body size in a guild of coral-dwelling mantis shrimps. *Evolution.* 34: 1019-1030
- Reyes, J.O. & G.R. Navas. 2000. El escáner convencional, una herramienta útil para la catalogación de organismos marinos. *Boletín Investigaciones Marinas y Costeras.* 29: 41-50
- Rivera, J. & A. Mujica. 2004. Distribución horizontal de larvas de crustáceos decápodos capturadas entre Caldera e isla de Pascua (Pacífico sudoriental), octubre de 1999. *Invest. Mar. Valparaíso.* 32 (2): 37-58
- Rognon, X., G. , G.G. Teugels, R. Guyomard, P. Galbusera, M. Andriamanga, F. Volckaert & J.F. Agnèse. 1998. Morphometric and allozyme variation in the African catfishes. *Journal of Fish Biology.* 53 (1): 192-207
- Rohlf, F.J. 1993. Relative warp analysis and an example of its application to mosquito wings. pp. 131-159. *En:* L.F. Marcus, E. Bello & A. Garcia-Valdecasas (ed.). Contributions to morphometrics. Monografías del Museo Nacional de Ciencias Naturales. Madrid, España.
- Rohlf, F.J. 2004a. Tps Utility program Versión: 1.29 Ecology & Evolution, SUNY at Stony Brook, State University of New York at Stony Brook
- Rohlf, F.J. 2004b. TpsDig Versión: 1.40 F.J. Rohlf (ed.) Ecology & Evolution, SUNY at Stony Brook, State University of New York at Stony Brook
- Rohlf, F.J. 2004c. Relative Warp Analysis Versión: 1.39 Ecology & Evolution, SUNY at Stony Brook, State University of New York at Stony Brook
- Romero, M.C., G.A. Lovrich, F. Tapella & S. Thatje. 2004. Feeding ecology of the crab *Munida subrugosa* (Decapoda: Anomura: Galatheidae) in the Beagle Channel, Argentina. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom.* 84: 359-365

- Rosse, K., N. Cooper, J.R. Bidwell & J. Elder. 2002. Genetic diversity and metal tolerance of two marine species: a comparison between populations from contaminated and reference sites. *Marine Pollution Bulletin*. 44: 671-679
- Russo, C.A.M., A.M. Sole-Cava & J.P. Thorpe. 1994. Population structure and genetic variation in two tropical sea anemones (Cnidaria, Actiniidae) with different reproductive strategies. *Marine Biology*. 119: 267-276
- Sarver, S.K., J.D. Silberman & P.J. Walsh. 1998. Mitochondrial DNA sequence evidence supporting the recognition of two subspecies or species of the Florida spiny lobster *Panulirus argus*. *Journal of Crustacean Biology*. 18 (1): 177-186
- Schlitzer, R. 2004 Ocean Data View. <http://www.awi-bremerhaven.de/GEO/ODV> última actualización: 2004
- Schram, F.R. 1982. The fossil record and evolution of Crustacea. pp. 94-147. *En*: L.G. Abele (ed.). Systematics, the fossil record, and biogeography. Academic Press.
- Selander, R.K. 1971. Systematic and speciation in birds. pp. 57-147. *En*: D.S. Farner, J.R. King & K.C. Parkes (ed.). Avian Biology. I, Academic Press. New York.
- Silva, E.P. & C.A.M. Russo. 2000. Techniques and statistical data analysis in molecular population genetics. *Hydrobiologia*. 420: 119-135
- Slice, D.E., F.L. Bookstein, L.F. Marcus & F.J. Rohlf 1996 A glossary for geometric morphometrics <http://life.bio.sunysb.edu/morph/glossary/gloss1.html> última actualización: 24/11/1998
- Solano, P., S. De la Roque, D. Cuisance, B. Geoffroy, T. De Meeus, G. Cuny & G. Duvallet. 1999. Intraspecific variability in natural populations of *Glossina palpalis gambiensis* from West Africa, revealed by genetic and morphometric analyses. *Medical and Veterinary Entomology*. 13: 401-407
- StatSoft, I. 1984-2002. STATISTICA Versión: 6.0
- Steer, R., F. Arias, A. Ramos, P. Aguirre, P. Sierra & D. Alonso. 1997. Documento preliminar de políticas de ordenamiento ambiental de las zonas costeras colombianas. Documento de consultoría. Ministerio del Medio Ambiente. pp. 413. Documento inédito.
- Suchanek, T.H., S.L. Williams, J.C. Ogden, D.K. Hubbard & I.P. Gill. 1985. Utilization of shallow-water seagrass detritus by Caribbean-sea macrofauna:  $\delta^{13}\text{C}$  evidence. *Deep-Sea Research I*. 32: 201-214
- Tabares, N., J.M. Soltau & J. Díaz 1996. Caracterización geomorfológica del sector suroccidental del mar Caribe. *Boletín Científico CIOH*. 17: 3-16

- Templeman, W. 1935. Local differences in the body proportions of the lobster, *Homarus americanus*. Journal of the Biological Board of Canada. 1: 213-226
- Triantaphyllidis, G.V., G.R.J. Criel, T.J. Abatzopoulos, K.M. Thomas, J. Peleman, J.A. Beardmore & P. Sorgeloos. 1997. International study on *Artemia*. LVII. Morphological and molecular characters suggest conspecificity of all bisexual European and North African *Artemia* populations. Marine Biology. 129: 477-487
- Turner, M.E., J.C. Stephens & W.W. Anderson. 1982. Homozygosity and patch structure in plant populations as a result of nearest-neighbor pollination. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 79: 203-207
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Van De Leet, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper & M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA Fingerprinting. Nucleic Acids. Nucleic Acid Research. 23 (21): 4407-4414
- Wenner, E.L. 1982. Notes on the distribution and biology of Galatheidae and Chirostylidae (Decapoda: Anomura) from the middle Atlantic Bight. Journal of Crustacean Biology. 2 (3): 360-377
- Wooten, M.C., K.T. Scribner & M.H. Smith. 1988. Genetic variability and systematics of *Gambusia* in the southeastern United States. Copeia. 283-289
- Young, A.M., C. Torres, J.E. Mack & C.W. Cunningham. 2002. Morphological and genetic evidence for vicariance and refugium in Atlantic and Gulf of Mexico populations of the hermit crab *Pagurus longicarpus*. Marine Biology. 140: 1059-1066
- Young, C.M., P.A. Tyler, R.H. Emson & J.D. Gage. 1993. Perception and selection of macrophyte detrital falls by the bathyal echinoid *Stylocidaris lineata*. Deep-Sea Research I. 40: 1475-1486