

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE  
CHIAPAS**

**INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

# **TESIS**

VARIACIÓN EN FORMA DE CUERPO, INFERIDA A TRAVÉS DE  
MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA, EN *Vieja maculicauda*, UN PEZ  
CÍCLIDO DE AMPLIA DISTRIBUCIÓN

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS EN BIODIVERSIDAD Y  
CONSERVACIÓN DE ECOSISTEMAS TROPICALES**

PRESENTA

**DIEGO ALFREDO ARDÓN BETANCOURT**



Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Marzo de 2020

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE  
CHIAPAS**

**INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

# **TESIS**

VARIACIÓN EN FORMA DE CUERPO, INFERIDA A TRAVÉS DE  
MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA, EN *Vieja maculicauda*, UN PEZ  
CÍCLIDO DE AMPLIA DISTRIBUCIÓN

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS EN BIODIVERSIDAD Y  
CONSERVACIÓN DE ECOSISTEMAS TROPICALES**

PRESENTA

**DIEGO ALFREDO ARDÓN BETANCOURT**

Director

Dr. Wilfredo Matamoros Ortega  
INSTITUTO DE CIENCIA BIOLÓGICAS

Co-tutor

Dr. Ernesto Velázquez Velázquez  
INSTITUTO DE CIENCIA BIOLÓGICAS

Asesor

Dr. Caleb McMahan  
FIELD MUSEUM OF NATURAL HISTORY



Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Marzo de 2020



## DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento y dedicatoria es en particular a mi familia, a mi madre Patricia, a mi padre Mario y a mi hermano Rodrigo, quienes me ayudaron moral y económicamente durante estos dos años. Agradezco a mi novia Stefany, quien siempre me ayudó dándome ánimo y estando conmigo a pesar de la distancia.

A otros miembros de mi familia, Lessy, Laura y Susana.

A mis amigas de la licenciatura, quienes siempre han estado pendientes de mi progreso y que me han motivado en momentos donde una palmada en la espalda viene bien: Samara, Vivian, María José, Eyllin y Glenda.

A mis compañeros de Maestría y laboratorio, en particular a Christian.

A mis asesores, en particular al doctor Wilfredo Matamoros, quien se la jugó trayéndome acá y espero no se haya arrepentido. Al Dr. Caleb McMahan por haberme asistido durante mi visita al Field Museum en Chicago y al Dr. Velázquez por sus oportunas observaciones sobre el progreso de mi tesis.

# ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 ¿Qué es la morfometría geométrica?.....	4
2.2 ¿Cómo funciona la morfometría geométrica?.....	5
2.3 <i>Vieja maculicauda</i> (Cichlidae: Cichliformes), el objeto de estudio....	8
III. ANTECEDENTES.....	12
IV. OBJETIVOS .....	17
4.1 Objetivo general.....	17
4.2 Objetivos específicos.....	17
V. HIPÓTESIS.....	18
VI. ZONA DE ESTUDIO.....	19
VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
7.1 Obtención y digitalización de ejemplares.....	23
7.2 Morfometría geométrica.....	26
7.3 Preparación de los datos morfométricos.....	28
7.4 Alometría.....	29
7.5 Análisis de componentes principales.....	31
7.6 Análisis canónico de la varianza.....	32
7.7 Análisis de correlación.....	32
VIII. RESULTADOS.....	36
8.1 Alometría.....	37
8.2 Análisis de componentes principales.....	39
8.3 Análisis canónico de la varianza.....	42
8.4 Análisis de correlación.....	45
8.5 Comparación de resultados utilizando “semi-landmarks.....	48

IX. DISCUSIÓN.....	50
9.1 Cambios alométricos.....	50
9.2 Otros patrones en la forma del cuerpo.....	51
X. CONCLUSIONES.....	58
XI. RECOMENDACIONES.....	59
XII. LITERATURA CITADA.....	61
XIII. ANEXOS.....	75
13.1 Lotes de colecciones museográficas utilizados.....	75

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Ejemplo del uso de “semi-landmarks” para evaluar cambios en la forma de estructuras anatómicas que no poseen puntos de homología, tales como el borde cefálico en este diagrama de piraña (*Serrasalmus sp.*). Tomado de Zelditch *et al.* (2012) ..... 6
- Figura 2. Análisis general de Procrustes. En la figura (a) se puede ver especímenes con variación ajena a la forma. En la figura (b) los tres individuos han sido superpuestos sobre un único centroide, (c) escalados a un mismo tamaño y (d) rotados hasta encontrar la posición en que se reduce más la variación angular. Tomado de Kerschbaumer y Sturmbauer (2011).....7
- Figura 3. Mapa de distribución de *Vieja maculicauda*, tomado de McMahan y colaboradores (2017).....9
- Figura 4. Individuos vivos de *Vieja maculicauda* donde se puede apreciar fácilmente la marca en el pedúnculo caudal que le da nombre a la especie. © Hippocampus-Bildarchiv.....10
- Figura 5. Adaptación del esquema de medidas de morfometría tradicional en peces teleósteos. Tomada de Zelditch *et al.* (2012).....12
- Figura 6. Delimitación de los bloques y placas que componen el área de estudio, incluyendo las divisiones más aceptadas de cada uno. El bloque Chorotega termina en la Zona del Canal, justo en el borde derecho de la imagen.....20
- Figura 7. Mapa de Centroamérica con la ubicación de todos los puntos de colecta de los lotes utilizados en el presente estudio.....24
- Figura 8. Photo Box Plus de la marca Ortech utilizada para digitalizar especímenes de *Vieja maculicauda*.....24

Figura 9. Individuos adultos de <i>Vieja maculicauda</i> que ejemplifican la variabilidad en forma de cuerpo. a y b) Individuos proveniente del Lago Izabal en Guatemala. c) Individuo proveniente del Río Huahuashan en Nicaragua. d) Individuo proveniente de Tortuguero en Costa Rica.....	25
Figura 10. Individuos juveniles de <i>Vieja maculicauda</i> presentan evidentes diferencias en forma de cuerpo con respecto a las tallas adultas (Figura 9). a y b) Individuos provenientes de Panamá. c) Individuo proveniente de Belice. d) Especímen proveniente de Guatemala.....	25
Figura 11. Imagen representativa de <i>Vieja maculicauda</i> con la ubicación de cada uno de los “landmarks” principales.....	27
Figura 12. Disposición de “semi-landmarks”. “Semi-landmarks” que traslapan con “landmarks” principales y “semi-landmarks” en la zona caudal fueron removidas antes del análisis.....	28
Figura 13. Representación gráfica de cómo funcionan los residuales de una regresión. Tomado de Klingenberg (2016).....	31
Figura 14. Unidades geográficas utilizadas para promediar y tener matrices morfométricas y genéticas equivalentes en número.....	34
Figura 15. Resultado del análisis de Procrustes generalizado de los 407 especímenes de <i>Vieja maculicauda</i> .....	36
Figura 16. Gráfica de dispersión que muestra la alometría positiva dentro de los individuos de <i>Vieja maculicauda</i> utilizados en el presente estudio. Las gradillas de deformación ilustran los cambios de la forma consenso de la muestra hacia las tallas más pequeñas y más grandes respectivamente.....	37
Figura 17. Gráfica que muestra las formas predichas con base en los modelos de alometría independientes de cada grupo.....	39

Figura 18. Análisis de componentes principales utilizando los datos morfométricos sin corregir por alometría. Las gradillas de deformación ilustran las formas extremas de cada uno de los ejes. Estas han sido magnificadas por dos para su mejor apreciación.....	40
Figura 19. Análisis de componentes principales y gradillas de deformación de los datos sin corrección alométrica. Los individuos están codificados de acuerdo al bloque geológico al que pertenecen, mostrando que estos no representan los ejes de mayor variabilidad dentro de la muestra.....	41
Figura 20. Análisis de componentes principales de los datos de forma de cuerpo corregidos por alometría y codificados de acuerdo al bloque geológico al que pertenecen. Las gradillas de deformación representan los cambios de la forma promedio de los datos corregidos por alometría hacia los extremos. Estas han sido amplificadas por dos para una mejor apreciación de los cambios.....	42
Figura 21. Análisis canónico de la varianza. Las gradillas de deformación representan los cambios de la forma promedio en cada eje. Los cambios han sido magnificados por dos para su mejor apreciación.....	43
Figura 22. Dendrograma de las distancias de Mahalanobis entre grupos de <i>Vieja maculicauda</i> .....	44
Figura 23. Correlogramas de Mantel que muestran la variación de los coeficientes de correlación a lo largo de: A) grados de ubicación geográfica. B) distancia en la matriz ecológica. C) distancias genéticas.....	47
Figura 24. Resultado del análisis generalizado de Procrustes para los 17 “landmarks” principales.....	48
Figura 25. Análisis canónico de la varianza utilizando únicamente los 17 “landmarks” principales. El CVA es realizado sobre los residuales de los datos corregidos por alometría.....	49

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición étnica de los especímenes de cada bloque geológico.....	26
Cuadro 2. Parámetros de Worldclim utilizados para la prueba de Mantel después de eliminar la correlación.....	35
Cuadro 3. Resultados de la regresión alométrica y análisis multivariado de covarianza.....	38
Cuadro 4. Resultados de validación cruzada de reasignación de grupos.....	44
Cuadro 5. Resultados de las correlaciones de Mantel.....	46
Cuadro 6. Análisis comparativo de la regresión alométrica y análisis multivariado de covarianza para los datos utilizando solo “landmarks” principales (17) .....	49

## RESUMEN

El presente trabajo analiza biogeográficamente las variaciones en la forma de cuerpo del pez cíclido *Vieja maculicauda*, mediante morfometría geométrica. La selección de esta especie en particular es de interés biogeográfico, pues este es el único cíclido que se extiende a lo largo de toda la vertiente Caribe centroamericana. La variabilidad en la forma de cuerpo se analizó de manera individual en función de la talla y de manera agrupada de acuerdo a la ubicación de sus poblaciones con respecto a los bloques geológicos que dividen el istmo centroamericano. Mediante una regresión de la forma sobre el tamaño, se encontró un efecto alométrico que explica la mayor parte de la variabilidad en forma de cuerpo y mediante un análisis canónico de varianza, se encontraron las zonas anatómicas de mayor diferenciación entre poblaciones. Finalmente, se realizaron pruebas de Mantel para evaluar la correlación entre las diferencias de forma de cuerpo con diferencias en la ubicación geográfica, variables ecológicas y moleculares de los individuos. De entre las tres hipótesis de correlación, se encontró que la correlación de morfometría y secuencias moleculares es la que mejor explica la variación en forma de cuerpo, aunque queda pendiente realizar una mejor evaluación de esta hipótesis, así como encontrar otras variables que podrían tener una mayor correlación con las diferencias en forma de cuerpo encontradas en el presente trabajo.

**Palabras clave:** Centroamérica, prueba de Mantel, correlaciones ambientales, diferencias ontogénicas, bloques geológicos centroamericanos

# I. INTRODUCCIÓN

Entender las contribuciones de los procesos históricos y geológicos que han moldeado la distribución de las especies, es una de las metas principales de la biogeografía (Lomolino *et al.*, 1998). Los patrones de distribución de una especie surgen como producto de una combinación de factores relacionados con la historia evolutiva y los eventos geológicos que han moldeado el hábitat, así como la influencia reciente de factores abióticos como el clima, la disponibilidad de espacio y factores bióticos como la competencia y la depredación (McMahan *et al.*, 2017).

La biogeografía puede ser estudiada a niveles taxonómicos como familia, género o especie y a niveles ecológicos como poblaciones y comunidades. La macroecología, por ejemplo, se basa en el estudio de patrones biológicos a escalas que van desde regionales a globales, y generalmente estudia dichos patrones a niveles de taxones superiores como los órdenes (Brown, 2003). La filogeografía estudia las relaciones genéticas entre poblaciones, generalmente buscando las separaciones de especies a nivel de género o familia (Avice, 2000). Para que una sola especie pueda ser estudiada de forma biogeográfica, se necesita que esta posea una distribución considerablemente extensa y que su estudio se pueda relacionar con aspectos biogeográficos más generales, como la ubicación y permeabilidad de las barreras geográficas y ecológicas presentes en un área determinada. Si la distribución de esta especie, contrasta claramente con la de sus clados más emparentados a nivel de género y familia, las preguntas se vuelven más claras. Por ejemplo: ¿Qué aspecto de la biología y de la historia evolutiva de esta especie le ha permitido cruzar barreras que sus congéneres no comparten? ¿Es posible que estas barreras que han evitado la dispersión de otras especies, hayan dejado huella en la especie de amplia distribución? Este es el caso del presente estudio, el cual se centra en comparar y cuantificar las diferencias en forma de cuerpo entre distintas poblaciones de *Vieja maculicauda*, un pez cíclido cuya distribución abarca un accidente geográfico de gran relevancia biogeográfica como lo es el Istmo Centroamericano.

Los estudios de los peces de agua dulce en esta región revelan interesantes patrones biogeográficos como resultado de la compleja historia geológica, fisiográfica y topográfica del Istmo Centroamericano y sus regiones circundantes (Coates y Obando, 1996; Matamoros *et al.*, 2012, 2014). Los peces de agua dulce, a diferencia de los taxones no acuáticos y los marinos, poseen la particularidad de verse limitados a los ríos para su dispersión y estos tienden a separarse en cuerpos de agua aislados (Helfman *et al.*, 2009). Esto permite, que las señales biogeográficas en peces de agua dulce puedan ser más claras, que en grupos que no están tan limitados al recurso hídrico. A pesar de ser el cíclido más ampliamente distribuido en América Central (Greenfield y Thomerson, 1997; Matamoros *et al.*, 2014; McMahan *et al.*, 2017), las poblaciones de *Vieja maculicauda* parecen limitarse a las zonas bajas de los ríos y planicies inundables (McMahan *et al.*, 2017). De especial interés es que la distribución de esta especie cruza múltiples fronteras geológicas que dividen los llamados Bloques Chortis, Maya, y Chorotega (McMahan *et al.*, 2017; Figura 5). Además, la especie tiene una abundancia variable a lo largo de su distribución, siendo poco común en ciertos tramos (Bussing, 1998), pero más abundante en zonas bajas y lagunas costeras, donde forma parte sustancial de la pesquería de regiones como la costa norte de Honduras.

Conocer los patrones biogeográficos de esta especie, puede ayudar a comprender más sobre la biogeografía de los peces de agua dulce en esta región. Esto resulta de vital importancia para tratar de explicar curiosos patrones de distribución conocidos, como la pauperidad de especies en Centro América Nuclear (Myers, 1966; Matamoros *et al.*, 2014); fenómeno que contrasta con los patrones encontrados en otros grupos de vertebrados, producto del llamado Gran Intercambio Biótico Americano (O’Dea *et al.*, 2016). En peces de agua dulce, la diversidad es desigual a lo largo de América Central, con mayor diversidad encontrada en las zonas de la región del Grijalva-Usumacinta al Norte de Centroamérica y el área cercana a Colombia en el límite Sur, y una contrastante pobreza de especies en Centroamérica Nuclear (Matamoros *et al.*, 2014). Al evaluar si existe una correlación entre diferencias en forma del cuerpo y variables geográficas, genéticas y/o ecológicas a lo largo de la distribución de *Vieja maculicauda*, se podrá indagar que factores influyen

en la diferenciación de sus poblaciones.

El presente trabajo presenta la facilidad de ser un contraste de los resultados e hipótesis de McMahan y colaboradores (2017), quienes encontraron poca divergencia genética en general a través del intervalo de distribución de *Vieja maculicauda*, con una diferenciación menor observada entre las poblaciones en Belice y Guatemala al Norte de la Falla del Motagua, y las áreas al sur de dicha falla. Es de interés particular, conocer si la baja diversidad genética en esta especie se refleja en sus rasgos morfométricos, para así brindar apoyo a la hipótesis de su reciente colonización desde el sur de México (Matamoros *et al.*, 2014; McMahan *et al.*, 2017).

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 ¿Qué es la morfometría geométrica?

La morfometría es una disciplina científica que se centra en el estudio de la forma de una manera cuantitativa y comparable. En el ámbito de la biología, la morfometría se ha utilizado, desde los inicios del estudio científico, para estudiar la forma de los organismos y las variaciones que presentan tanto a nivel interespecífico como intraespecífico (Adams *et al.*, 2013). Los resultados obtenidos a través del estudio morfométrico han llegado a moldear las perspectivas científicas en aspectos de la biología como la discontinuidad taxonómica, los métodos de clasificación y las hipótesis sobre las relaciones entre estructura y función (Adams *et al.*, 2013).

A través del análisis de la forma, se pueden explicar distintos procesos biológicos que generan diferencias en forma, ya sea en el cuerpo en general o bien, en partes específicas. Algunos ejemplos de procesos que pueden afectar variación en la forma dentro de un mismo grupo de organismos son: la enfermedad o lesiones físicas, adaptación a factores geográficos locales, diversificación evolutiva a largo plazo o como parte del desarrollo ontogenético. Las diferencias en la forma permiten evidenciar diferentes roles funcionales de partes anatómicas específicas, respuestas diferentes a las mismas presiones selectivas o bien pueden indicar la presencia de distintas presiones selectivas (Zelditch *et al.*, 2012).

Durante la mayor parte del siglo XX, los análisis morfométricos se limitaron a la descripción de estructuras observadas y la relación entre estas. Las comparaciones entre grupos, se basaban en la diferencia de medidas lineales y eran analizadas a través del uso de la estadística univariada y multivariada sobre distancias, proporciones y ángulos; este enfoque se conoce como “morfometría tradicional” (Reyment, 1996; Toro Ibacache *et al.*, 2010). Sin embargo, este método presenta ciertas carencias que limitan las interpretaciones biológicas posibles, particularmente en cuanto a las representaciones gráficas de los cambios en la forma, ya que las medidas

tomadas no preservan las relaciones geométricas entre variables (Adams *et al.*, 2013).

En la década de 1980 se comenzaron a desarrollar enfoques alternativos, los cuales capturaban de manera más holística la geometría de las estructuras morfológicas y retenían la información geométrica al momento de analizarla. Este enfoque fue llamado “morfometría geométrica” (Adams *et al.*, 2013), y es definido por Bookstein (1991) como “el análisis estadístico de la variación en la forma y su covarianza con otras variables”. Las ventajas del uso de esta herramienta sobre la morfometría tradicional radican en una precisa y exacta descripción de la forma, sobre la que se pueden realizar análisis estadísticos rigurosos y que además permiten una fácil visualización, interpretación y divulgación de los resultados (Zelditch *et al.*, 2012). El objeto de estudio ya no se describiría con base en sus dimensiones sino en términos de la relación espacial entre sus partes (Toro Ibacache *et al.*, 2010).

## **2.2 ¿Cómo funciona la morfometría geométrica?**

La morfometría geométrica se basa en la creación de una configuración de puntos homólogos sobre una estructura anatómica, los cuáles se posicionarán sobre fotografías de especímenes. Estos puntos son conocidos en inglés como “landmarks” (se hará referencia a ellos de esta forma durante todo el documento) y se definen como un sitio anatómico discreto que pueda ser reconocido en todos los especímenes a estudiar (Adams *et al.*, 2013). La selección de estos “landmarks” debe ser significativa y seguir varios parámetros para poder extraer la información necesaria de ellos. Estos “landmarks” deben seguir las siguientes reglas: (1) las estructuras deberán ser homólogas, (2) no deben alterar sus posiciones topológicas en relación a otros “landmarks”, (3) deben proveer una cobertura adecuada de la morfología, (4) deberán ser encontradas repetidamente y con relativa facilidad y (5) deberán encontrarse sobre el mismo plano (Zelditch *et al.*, 2012).

Al utilizar solo los “landmarks”, es muy probable que se pierda información, particularmente en estructuras curvas sin puntos de homología.

Una curva representa un conjunto de puntos y para poder estudiar componentes morfológicos de esta naturaleza, se debe aproximar el número infinito a un número finito de puntos conocidos como “semi-landmarks” (Figura 1). Estos puntos inicialmente no pueden ser tratados de la misma forma que los “landmarks” principales, pues no son puntos discretos y mucho menos homólogos. La posición de los “semi-landmarks” es arbitraria, y el objetivo de su uso es evaluar la forma de una curva o un contorno y no su posición en la dirección de esta (Toro Ibacache *et al.*, 2010; Zelditch *et al.*, 2012).

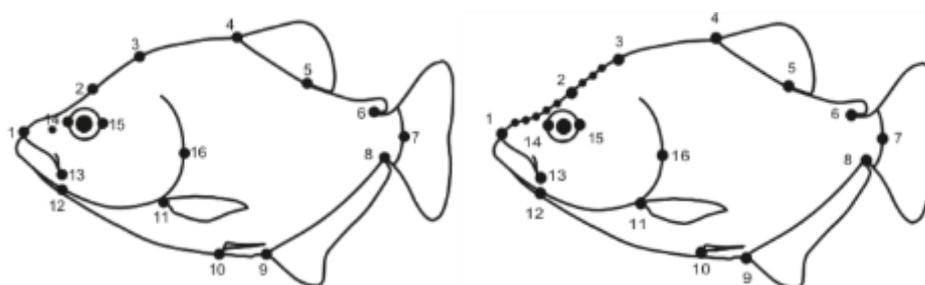


Figura 1. Ejemplo del uso de “semi-landmarks” para evaluar cambios en la forma de estructuras anatómicas que no poseen puntos de homología, tales como el borde cefálico en este diagrama de piraña (*Serrasalmus sp.*). Tomado de Zelditch *et al.* (2012)

Luego de digitalizar todos los “landmarks” y “semi-landmarks” sobre las imágenes de los individuos analizados, se realiza un proceso llamado Análisis de Procrustes generalizado (GPA por sus siglas en inglés). Este método cuantifica la variación en la forma de la estructura anatómica usando las coordenadas cartesianas de “landmarks”, luego de que los efectos de variación ajena a la forma se hayan convertido en constantes matemáticas (Adams *et al.*, 2013). El GPA realiza una superposición de las configuraciones de “landmarks” de todos los especímenes, a un sistema de coordenadas común para así generar un conjunto de variables comparativas de forma. El GPA superpone todos los especímenes (sus coordenadas) sobre un único centroide, el cual es la posición promedio de todas las coordenadas de una configuración de “landmarks”. Tras la eliminación de las diferencias translacionales, todas las configuraciones son escaladas a un centroide de tamaño uno y finalmente son rotadas para minimizar al máximo la variación y dejar únicamente aquella información concerniente a la forma de los especímenes (Figura 2). En caso de utilizar “semi-landmarks”, se debe añadir

un paso adicional dentro del algoritmo de Procrustes, donde se deslizan los “semi-landmarks” a lo largo de vectores tangentes a la curva hasta que sus posiciones se alineen lo más posible al espécimen de referencia, creado a partir de la forma promedio de la curva (Adams *et al.*, 2013).

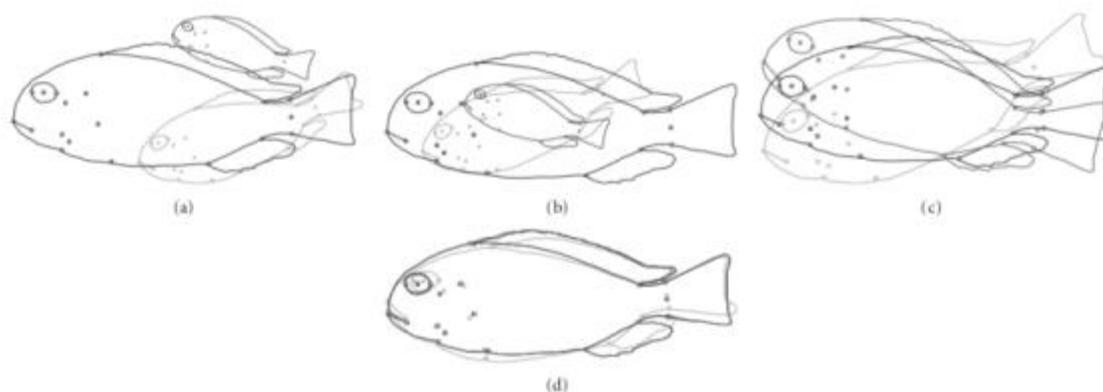


Figura 2. Análisis general de Procrustes. En la figura (a) se puede ver especímenes con variación ajena a la forma. En la figura (b) los tres individuos han sido superpuestos sobre un único centroide, (c) escalados a un mismo tamaño y (d) rotados hasta encontrar la posición en que se reduce más la variación angular. Tomado de Kerschbaumer y Sturmbauer (2011).

La transformación de los datos de “landmarks” a variables numéricas, hace posible la comparación entre individuos, poblaciones y grupos que interesan contrastar. Los análisis estadísticos utilizados en la morfometría tradicional, siguen siendo aplicables y las preguntas esenciales siguen siendo las mismas. En estudios de este tipo, se busca saber si existe un efecto de una variable independiente sobre la forma (Bookstein, 1991). Esta pregunta será contestada mediante una determinación probabilística, considerando la asociación entre las variables no es mayor a la producida al azar (Zelditch *et al.*, 2012). La segunda pregunta importante es si la morfometría geométrica permite conocer cual es el efecto en la forma. Esta es una pregunta descriptiva y la morfometría geométrica, a través de las gradillas de deformación, presenta una manera intuitiva de visualizar los cambios en la forma. Los métodos de ordenación en espacios multivariados tales como el análisis de componentes principales (PCA por sus siglas en inglés), o el análisis canónico de la varianza (CVA por sus siglas en inglés), pueden ser utilizados para explorar patrones en un conjunto de datos, ya sea a nivel de individuos en el PCA o a nivel de grupos con un CVA. Los resultados de estos análisis pueden ser ilustrados

mediante gráficos de dispersión, complementados con gradillas de deformación que ilustran en que zonas se encuentra la mayor variación o bien la mayor diferencia entre grupos (Zelditch *et al.*, 2012).

Existen pocos trabajos referentes a la morfometría geométrica en un aspecto biogeográfico (Cardini *et al.*, 2010), por lo que los métodos para analizar la geometría morfométrica bajo este contexto siguen sin consolidarse. En el presente estudio se decidió utilizar la prueba de Mantel, una herramienta que encuentra el nivel de correlación entre dos matrices de distancia y que ha sido más utilizada en genética de poblaciones, para comparar matrices genéticas contra variables geográficas y de otra naturaleza (Diniz-Filho *et al.*, 2013). En el presente caso, la matriz central es la matriz de datos morfométricos y es esta la que se comparará contra matrices de otra naturaleza.

### **2.3 *Vieja maculicauda* (Cichlidae: Cichliformes), el objeto de estudio**

*Vieja maculicauda*, conocido coloquialmente como copetona o “Black Belt Cichlid”, como se le conoce en inglés, es un pez de agua dulce perteneciente a la familia de los cíclidos (Cichlidae), la cual comprende más de ~1700 especies (Fricke *et al.*, 2019) distribuidas en su mayoría en África (alrededor de 1100 especies), parte de Asia y desde el sur de Estados Unidos hasta el sur de América del Sur (Kerschbaumer y Sturmbauer, 2011; Fricke *et al.*, 2019). Este grupo se destaca por su gran diversidad ecomorfológica y capacidad de encontrarse en distintos hábitats, mostrando una gran variación en formas de cuerpo, coloración, comportamiento y biología reproductiva y un alto grado de especialización trófica (Koblmüller *et al.*, 2017; Říčan *et al.*, 2016).

El género *Vieja* (Fernández-Yepez, 1969) incluye ocho especies distribuidas principalmente en el sureste mexicano y la provincia biogeográfica del Grijalva-Usumacinta (*sensu* Matamoros *et al.*, 2015), aunque en el caso de *Vieja maculicauda*, esta ha colonizado naturalmente la mayor parte de las zonas bajas de los ríos de la cuenca del Caribe centroamericano desde Stann Creek en el sur de Belice hasta la Zona del Canal en Panamá (Matamoros *et al.*, 2015; Figura 3). *Vieja maculicauda* es de los pocos cíclidos

centroamericanos que se encuentra comúnmente en estuarios y lagunas costeras (Greenfield y Thomerson, 1997; Říčan *et al.*, 2016).

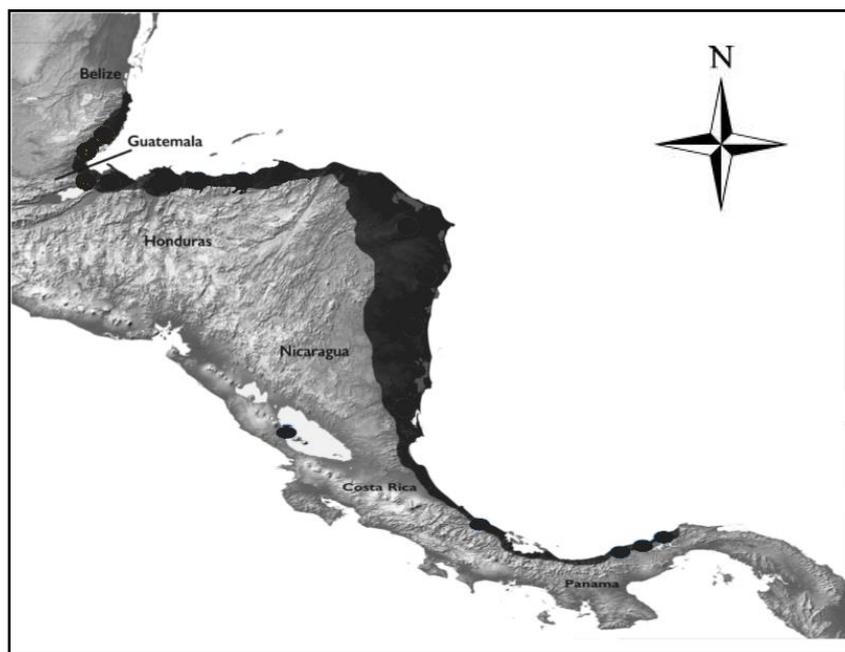


Figura 3. Mapa de distribución de *Vieja maculicauda*, tomado de McMahan y colaboradores (2017).

Esta especie es fácil de reconocer visualmente, pues posee una coloración grisácea con marcas oscuras, incluyendo la franja vertical que le da su nombre en inglés (“black belt” o cinturón negro) y los individuos adultos presentan una iridiscencia azul y una marca roja sobre la garganta, extendiéndose a su zona lateral. Su epíteto específico, *maculicauda*, hace referencia a una mancha de forma redonda a rectangular que se encuentra en el centro del pedúnculo caudal (Greenfield y Thomerson, 1997; Figura 4). Los machos son más grandes que las hembras y presentan aletas dorsales y anales más desarrolladas. Su dieta se reporta como oportunista, en gran parte herbívora pero incluyendo detrito, material vegetal, flores, insectos, caracoles y ocasionalmente peces pequeños. Se le ha considerado por años como una especie con potencial para la acuicultura debido a su tamaño, pequeña cabeza y hábitos alimenticios (Greenfield y Thomerson, 1997).



Figura 4. Individuos vivos de *Vieja maculicauda* donde se puede apreciar fácilmente la marca en el pedúnculo caudal que le da nombre a la especie. © Hippocampus-Bildarchiv.

Sin embargo, lo que vuelve el estudio de *Vieja maculicauda* de particular interés, es su amplia distribución, la cual logra cruzar barreras geográficas y ecológicas como son las fallas entre bloques geológicos que los otros cíclidos heroínos centroamericanos no han logrado superar (Hulsey y López-Fernández, 2011; Matamoros *et al.*, 2014). Se ha sugerido que entender las variaciones presentadas entre poblaciones podría arrojar pistas para entender la historia evolutiva de esta especie, incluyendo el efecto que eventos geológicos puedan haber tenido en la interconectividad de los cuerpos de agua dulce centroamericanos y la diferenciación de hábitats en cada bloque geológico (McMahan *et al.*, 2017). El presente estudio trabaja sobre la hipótesis de que la forma del cuerpo de *Vieja maculicauda* puede ser explicada por la historia geológica de la región.

Considerando que McMahan y sus colaborados (2017) encontraron poca variabilidad genética a lo largo de la distribución de *Vieja maculicauda*, se buscó con el presente estudio, brindar un complemento morfométrico que respalde o refute las hipótesis planteadas por los resultados genéticos. Existe la posibilidad que una especie de distribución amplia pueda presentar un fenómeno conocido como plasticidad fenotípica, donde poblaciones de una

especie con un genotipo igual o similar, pueden presentar un fenotipo producto de las condiciones del ambiente en que habita cada población (Bradshaw, 1965).

La plasticidad fenotípica ha sido ampliamente estudiada en peces cíclidos (Stauffer Jr. y van Snik Gray, 2004) para explicar diferenciación morfológica entre peces de acuario y en estado natural dentro de una misma especie (Meyer, 1987; Wimberger, 1991; 1992). La mayor parte de esta plasticidad fenotípica en cíclidos ha sido observada en el aparato bucal y se ha relacionado a diferencias en el hábito alimentario, aunque también se han reportado, por ejemplo, cambios en la estructura ocular producto de la ausencia de luz (Witte *et al.*, 1990).

Es posible que pese a la poca variabilidad genética encontrada en *Vieja maculicauda*, existan diferenciaciones en forma de cuerpo entre poblaciones producto de un efecto de plasticidad fenotípica. Este a su vez puede estar relacionado a diferencias en los ambientes y presiones particulares presentes en cada uno de los tres bloques geológicos que componen la distribución de la especie en cuestión (Bloque Maya, B. Chortis y B. Chorotega).

En caso de encontrar una diferencia morfométrica entre las poblaciones de *V. maculicauda* de los distintos bloques geológicos, se buscaron cómo variables como las geográficas o ecológicas muestran correlación con los patrones morfométricos a lo largo de la distribución de la especie. Por otro lado, también se comprobó si la poca variabilidad genética encontrada por McMahan *et al.* (2017) en el gene citocromo *b* es la mejor explicación al patrón morfométrico.

### III. ANTECEDENTES

En ictiología, la morfometría tradicional consiste en tomar medidas de distancia en el largo, ancho y profundidad de diferentes estructuras corporales como las aletas, cabeza, ojo o el cuerpo entero (Figura 5). A simple vista la forma del pez parece ser descrita por la disposición de medidas, sin embargo, la cantidad de información proporcionada es menor a lo esperado, debido a que algunas medidas van en una misma dirección y otras tienen puntos de origen en común, por lo que estas medidas no son independientes (Zelditch *et al.*, 2012). En cambio, la morfometría geométrica analiza y compara la forma, tomando en cuenta la disposición de todos los puntos al mismo tiempo, eliminando el sesgo de las medidas preestablecidas. Además, la morfometría geométrica es más eficaz en eliminar el efecto del tamaño en la forma (Zelditch *et al.*, 2012).

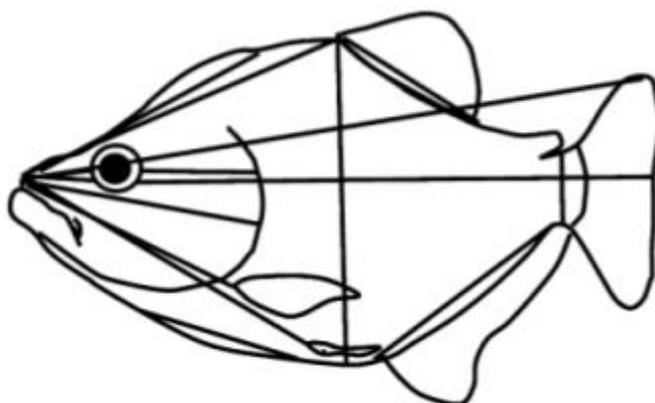


Figura 5. Adaptación del esquema de medidas de morfometría tradicional en peces teleósteos. Tomada de Zelditch *et al.* (2012).

Uno de los grandes problemas de la morfometría, es separar el efecto del tamaño de los distintos especímenes estudiados. Los conceptos de “tamaño” y “forma” han sido sujeto de controversia y distintas interpretaciones aun y cuando son elementales para la existencia de esta subdisciplina (Bookstein, 1989). En el presente estudio, se consideraron las definiciones de Zelditch y sus colaboradores (2012), quienes utilizan el tamaño del centroide como medida de “tamaño” matemáticamente independiente de la forma. El tamaño del centroide es la raíz cuadrada de la suma del cuadrado de la distancia de cada “landmark” al centroide. La “forma” por su parte, se define

como toda la información geométrica que queda una vez que se filtran los efectos de ubicación, escala y rotación en un objeto (Kendall, 1977).

Para 2011, Kerschbaumer y Sturmbauer habían identificado cerca de 50 estudios en los que se aplicó la morfometría geométrica en peces cíclidos. El interés particular en esta familia de peces, se debe a que esta familia es reconocida por su gran diversidad ecomorfológica reflejada en sus más de 200 géneros reconocidos (Nelson *et al.*, 2016), así como por su multitud de formas de cuerpo, especializaciones, colores y comportamientos sexuales y alimentarios (Kerschbaumer y Sturmbauer, 2011).

La familia Cichlidae es comúnmente utilizada como modelo para el estudio de la radiación adaptativa (Kerschbaumer y Sturmbauer, 2011; Wanek y Sturmbauer, 2015; Tada *et al.*, 2016). Estas radiaciones evolutivas están relacionadas a la especialización trófica de la cabeza, dentición y forma de cuerpo, donde a pesar de su clara distinción ecológica, muchas especies presentan similitudes morfológicas y sus medidas y conteos merísticos suelen traslaparse entre especies. En cambio, la morfometría geométrica representa una herramienta invaluable y de uso cada vez más amplio para entender la variedad de características morfológicas y para discriminar entre géneros, especies, poblaciones, morfos y hasta individuos (Kerschbaumer y Sturmbauer, 2011).

Estudios de morfometría geométrica han contribuido al entendimiento de los procesos de radiación de peces cíclidos en los Grandes Lagos Africanos (Kerschbaumer y Sturmbauer, 2011). Rüber y Adams (2001) estudiaron peces de la tribu Eretmodini en el Lago Tanganika, donde los grupos taxonómicos aún son inciertos y la filogenia contradujo la clasificación utilizada anteriormente. Los investigadores lograron detectar que a pesar de poseer distintas historias filogenéticas, las diferentes formas de cuerpo (analizadas mediante morfometría geométrica) están relacionadas a estados tróficos particulares. Esto indica que adaptaciones tanto tróficas como corporales han evolucionado repetidas veces y en varios linajes, probablemente como consecuencia de evolución por convergencia. Maderbacher y colaboradores (2008) estudiaron los peces del complejo de

especies *Tropheus moorii* en el Lago Tanganika para contrastar el nivel de eficacia en cuanto a discriminación de poblaciones entre los métodos de morfometría tradicional y los de morfometría geométrica, encontrando que estos últimos son más poderosos para discriminar de especies y poblaciones cercanamente relacionadas. Parsons y colaboradores (2003) también compararon ambos métodos para distinguir dos especies de un género de cíclidos neotropicales: *Amphilophus citrinellus* y *A. zalius*. Su investigación también encontró que ambos métodos eran capaces de discriminar entre ambas especies, pero resaltaron las ventajas de la morfometría geométrica en cuanto a la claridad en la visualización de los resultados.

Klingenberg y colaboradores (2003) lograron comprobar a través del uso de morfometría geométrica la existencia de diferencias morfológicas entre las especies *Amphilophus zalius* y *Amphilophus citrinellus*, cíclidos del Lago Nicaragua. Estas diferencias correspondían a una diferenciación en la altura del cuerpo del pez y la mandíbula faríngea, relacionada con los distintos hábitos de cada especie (Klingenberg *et al.*, 2003; Barluenga *et al.*, 2006). Posteriormente, Elmer y sus colaboradores (2010) obtuvieron variaciones intraespecíficas en poblaciones tanto de *A. zalius* como de *A. citrinellus* de acuerdo al lago del que provenían, incluyendo aquellos de más reciente formación se pudo inferir que en el complejo de lagos de Nicaragua puedan existir especies diferenciadas aun por describir. Muschick y colaboradores (2011) investigaron el efecto de la dieta en la mandíbula inferior faríngea de *A. citrinellus*, comprobando la existencia de plasticidad fenotípica dependiente de la dureza del alimento.

El concepto y uso de “semi-landmarks” surge como un complemento a la morfometría geométrica tradicional, buscando describir efectivamente las diferencias en formas curvas que no poseen puntos replicables a lo largo de sus arcos (Bookstein, 1997). En el estudio de la morfometría de cíclidos, se ha utilizado un patrón estándar que busca cubrir la mayor cantidad de variación en forma de cuerpo y usualmente van entre 12 y 19 “landmarks” (Kassam *et al.*, 2003; Kerschbaumer y Sturmbauer, 2011; Zelditch *et al.*, 2012; Malato *et al.*, 2017). Estos “landmarks” han probado ser útiles para cumplir con los objetivos de los investigadores de discriminar entre grupos cercanamente

relacionados (Klingenberg *et al.*, 2003; Parsons *et al.*, 2003; Maderbacher *et al.*, 2008) o para relacionar formas de cuerpo con aspectos tróficos (Rüber y Adams, 2001).

El presente trabajo de tesis se suma a numerosos estudios evolutivos, ecológicos y biogeográficos sobre los peces de agua dulce centroamericanos (Bermingham & Martin, 1998; Perdices *et al.*, 2002, 2005; Ornelas-García *et al.*, 2008; McMahan *et al.*, 2013, 2017; Klingenberg *et al.*, 2003, Matamoros *et al.*, 2012, 2014). Hasta el momento, no se ha realizado ningún estudio que evalúe las diferencias morfométricas a nivel geográfico entre poblaciones de cíclidos de una misma especie. El trabajo más cercano en cuanto a metodología y distribución geográfica corresponde a Díaz-Murillo y colaboradores (2017), quienes evaluaron la variación poblacional del tepemechín (*Agonostomus monticola*), logrando mediante medidas de cuerpo, agrupar las distintas poblaciones de manera similar a las agrupaciones obtenidas mediante métodos moleculares. Cabe destacar que este pez pertenece a una familia evolutivamente muy distante (Mugilidae) y que se distribuye tanto en la vertiente del Pacífico como Atlántica. Ambos trabajos, como los mencionados anteriormente (i.e. Rüber y Adams, 2001; Parsons *et al.*, 2003; Klingenberg *et al.*, 2003; Maderbacher *et al.*, 2008), utilizan métodos comparativos similares (análisis canónico de la varianza y su función para comparar dos grupos, el análisis de función discriminativa) para lograr distinguir entre grupos preestablecidos y encontrar las zonas anatómicas de mayor variación.

Pocos aspectos han sido estudiados sobre la biología de *Vieja maculicauda*. Estudios parasitológicos han contrastado la composición de parásitos de un pez nativo (*V. maculicauda*) contra la de un pez introducido (*Oreochromis niloticus*; Roche *et al.*, 2010), así como para la descripción de nuevos taxones de parásitos helmintos (Salgado-Maldonado, 2008) y platelmintos (Aguirre-Macedo y Scholz, 2005). A nivel geográfico, únicamente se ha realizado el análisis sistemático a nivel del género *Vieja* (McMahan *et al.*, 2015) y el trabajo de McMahan y colaboradores (2017), quienes analizaron la genética de poblaciones de la especie, encontrando poca estructura filogeográfica con una separación leve entre las poblaciones al norte de la

Falla del Motagua y las poblaciones al sur, además de un asesoramiento de su nicho a través del tiempo geológico, el cuál reveló que la mayor expansión de su distribución ocurrió entre 21 000 y 6 000 años atrás y en dirección de norte hacia el sur.

Con base en el trabajo de McMahan y sus colaboradores (2017) y los métodos utilizados por Díaz-Murillo y sus colaboradores (2017), el presente trabajo busca encontrar diferencias entre la forma del cuerpo en poblaciones de diferentes bloques geológicos, y realizar la correlación con factores geográficos, ambientales o genéticos, empleando la prueba de Mantel, que ha sido utilizada previamente para evaluar la correlación entre matrices de forma y matrices geográficas (Martínez y Di Cola, 2011), genéticas (Nogueira *et al.*, 2005), y con variables ambientales (Jones *et al.*, 2016).

## IV. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

- Explicar variaciones en patrones corporales entre distintos grupos de *Vieja maculicauda* mediante geometría morfométrica.

### 4.2 Objetivos específicos

- Determinar si existen cambios en forma de cuerpo en *Vieja maculicauda* a través de su ontogenia.
- Determinar si las poblaciones en los distintos bloques geológicos pueden ser diferenciados por su forma de cuerpo.
- Analizar la correlación de la forma de cuerpo con factores geográficos, genéticos y/o ecológicos.

## V. HIPÓTESIS

Existen diferencias morfométricas durante la ontogenia y en los patrones corporales de las poblaciones de *Vieja maculicauda* y dichas diferencias pueden ser explicadas en determinada cantidad por su genética y/o sus parámetros climáticos de nicho ecológico, pero principalmente por su ubicación geográfica.

## VI. ZONA DE ESTUDIO

*Vieja maculicauda* tiene una distribución continua a lo largo de las zonas bajas de los ríos con vertiente Caribe en Centroamérica, desde el Stann Creek en Belice hasta el Río Chagres en la Zona del Canal en Panamá (McMahan *et al.*, 2017). Esta distribución comprende todos los países centroamericanos con acceso al Atlántico y es única en su amplitud dentro del grupo de los cíclidos.

Visto desde un nivel biogeográfico, se puede dividir la distribución de *Vieja maculicauda* en tres zonas geológicas principales denominadas terrenos o bloques geológicos (Figura 6). Un terreno es una región de la litósfera que se ha movido horizontalmente a lo largo de fallas geológicas, y tres de ellos se encuentran a lo largo del área de distribución de *V. maculicauda*. En la zona central de Centroamérica se encuentra el Bloque Chortis. El Bloque Maya se encuentra delimitado al norte y este por la Península de Yucatán, al Oeste por el Bloque de Guerrero y al Sur por la Falla del Motagua (Donnelly *et al.*, 1990; Burkhart, 1994). Este bloque representa el límite sureste de la Placa Norteamericana y al Oeste conforma el Istmo de Tehuantepec (Keppie, 2004). El bloque Chortis por su parte comprende partes de Nicaragua, El Salvador, Honduras y el Sur de Guatemala y a su vez forma la orilla noroeste de la Placa del Caribe (Giunta *et al.*, 2006) y se limita al Noroeste por la Falla del Motagua y hacia el sur, cruza la llamada Depresión de Nicaragua hasta la región justo al norte de los Lagos de Nicaragua (Rogers *et al.*, 2007).

El tercer bloque en que se distribuye *Vieja maculicauda* está ubicado en la subregión denominada Centroamérica Baja, la cual comprende los territorios de Costa Rica y Panamá. Esta región es la intersección de cuatro placas tectónicas, pero está compuesta principalmente por la microplaca de Panamá, la cuál a su vez contiene dos bloques, el Chorotega y el Chocó (Bagley y Johnson, 2014). Es precisamente en la unión de estos dos bloques, donde se encuentra el límite sur en la distribución de *Vieja maculicauda*.

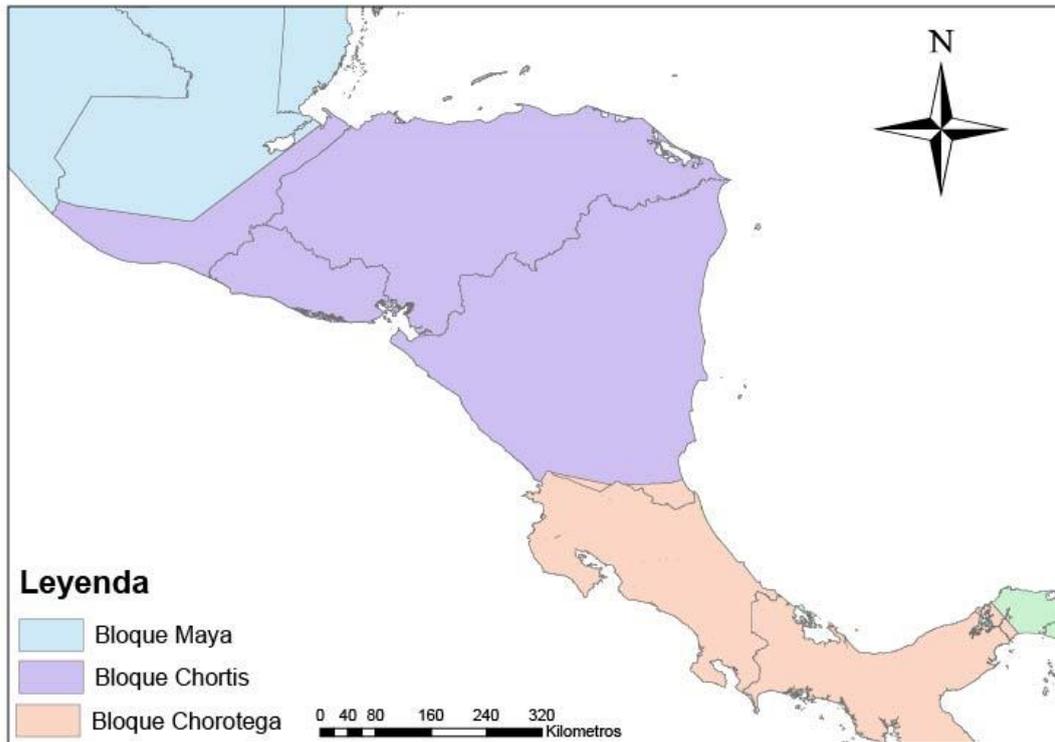


Figura 6. Delimitación de los bloques y placas que componen el área de estudio, incluyendo las divisiones más aceptadas de cada uno. El bloque Chorotega termina en la Zona del Canal, justo en el borde derecho de la imagen.

Cabe destacar que Centroamérica, tanto Nuclear como Baja, son caracterizadas por paisajes estructurados, producto de procesos geológicos intrincados, con movimientos entre fallas generando cambios de elevación que van del nivel del mar hasta 5700 msnm en una franja de tierra relativamente reducida (Hulsey y López-Fernández, 2011). La naturaleza de este terreno está directamente relacionada a la formación y conexiones entre cuencas, y por ende a las distribuciones de peces de agua dulce (Bermingham y Martin, 1998). Los movimientos entre los Bloques Maya y Chortis en la Falla del Motagua, se presume han influenciado la habilidad de los peces de moverse entre estos dos terrenos (Hulsey y López-Fernández, 2011), formando así una reconocida frontera biogeográfica para peces de agua dulce (Bussing, 1976; Perdices *et al.*, 2002, 2005).

Otra forma de ver esta región es a través de las llamadas provincias ícticas, propuestas por primera vez por Miller (1966), Bussing (1976) y reevaluadas por Matamoros y colaboradores (2012, 2014). Las provincias

bióticas son delimitadas de acuerdo a patrones de distribución de especies, con especial énfasis en los sitios que presentan transiciones de recambio de especies (Udvardy, 1975). Bussing (1976) dividió la vertiente Atlántica de Centroamérica Nuclear en dos: la provincia del Usumacinta y la Provincia San Juan. La provincia del Usumacinta abarcaba desde el Río Papaloapan en el sureste de México hasta al norte del Río San Juan en Nicaragua, mientras que la Provincia San Juan abarcaba este río, así como los Grandes Lagos de Nicaragua hasta Tortuguero en Costa Rica. Matamoros *et al.* (2014) nombraron la provincia equivalente a Usumacinta como “Provincia de las tierras altas del Caribe de Honduras y Guatemala”, y la provincia equivalente a San Juan como “Provincia de la Mosquitia de Honduras y Nicaragua”. Si bien Matamoros *et al.* (2012) utilizaron métodos de aglomerado más modernos para su delimitación, su enfoque fue en Centroamérica Nuclear, limitando su muestreo al Norte con la cuenca de Polochic-Izabal y al Sur con la del Río Prinzapolka en Nicaragua, por lo que quedó fuera del enfoque del estudio conocer hasta donde se extienden ambas provincias.

Por su parte, la vertiente Atlántica de Centroamérica Baja ha sido subdividida en tres provincias por Smith y Bermingham (2005): la continuación de la provincia de San Juan hasta el Río Calovebora en Costa Rica, la Provincia de Bocas del Toro desde el Río Calovebora hasta el Río Sixaola, y la Provincia de Chagres desde el Río Sixaola hasta la frontera con Colombia. Bagley y Johnson (2014) resaltaron la complejidad física y biológica de Centroamérica Baja, incluyendo uno de los índices de biodiversidad por km<sup>2</sup> más altos en el mundo (Reid y Miller, 1989); mencionando también como el límite de la distribución de *Vieja maculicauda* en la Zona del Canal funge como barrera filogenética multitaxon y en particular para peces de agua dulce (Martin y Bermingham, 2000; Perdices *et al.*, 2005; Reeves y Bermingham, 2006).

Lo relevante sobre conocer la composición de las provincias ícticas de la vertiente Atlántica de Centroamérica es que por definición, estas reflejan barreras vicariantes locales que limitan el flujo genético y la distribución de las especies (Avice *et al.*, 1987); sin embargo, en el caso de *Vieja maculicauda*, cuatro de estas “barreras” han sido superadas y de acuerdo a su poca

estructura filogenética (McMahan *et al.*, 2017), se podría inferir que sigue existiendo flujo genético.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 Obtención y digitalización de ejemplares

Se localizaron las colecciones ictiológicas con especímenes de *Vieja maculicauda* o cualquiera de sus sinónimos (e.g. *Cichlasoma maculicauda*, *Paraneetroplus maculicauda*) a través de la base de datos electrónica fishnet2 (2018). Se realizó una visita al Field Museum of Natural History (FMNH) en Chicago, Illinois la cual contiene una porción representativa del área de distribución de la especie, en su mayoría parte de la colección del FMNH, pero también incluyendo especímenes solicitados a préstamo de otras instituciones (Figura 7; Anexo 1). En el FMNH se trabajó en la digitalización de especímenes correspondientes a las colecciones del Museum of Zoology of the University of Michigan (UMMZ), Royal Ontario Muswum (ROM), Texas Cooperative Wildlife Collection (TCWC), Museo de la University of Southern Mississippi (USM), Louisiana State Museum of Zoology (LSUMZ), Universidad de Costa Rica (UCR) y la propia colección de FMNH.

La captura de las fotografías de los especímenes se realizó mediante el uso de equipo especializado: Caja de luz (Figura 8), brazo sujetador de la cámara y el uso del software Adobe Lightroom. Se escogieron los especímenes con mejor condición de conservación. Se colocó el espécimen en su lado izquierdo (o derecho en caso de presentar un lado izquierdo muy deteriorado) y de ser necesario, se marcaron estructuras particulares con alfileres entomológicos para su mejor ubicación al momento de la digitalización. Cada fotografía contaba con un marcador de distancia con intervalos de 10 mm, para posteriormente sacar la medida de longitud estándar para cada espécimen.

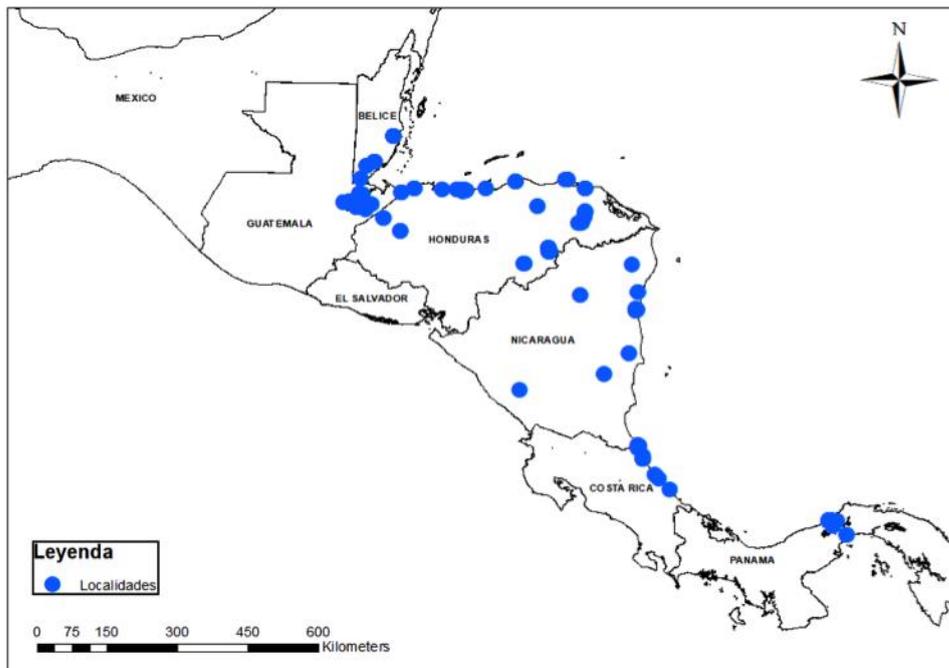


Figura 7. Mapa de Centroamérica con la ubicación de todos los puntos de colecta de los lotes utilizados en el presente estudio.



Figura 8. Photo Box Plus de la marca Ortech utilizada para digitalizar especímenes de *Vieja maculicauda*.

La muestra final estuvo compuesta por 407 especímenes con tallas de 16 mm a 251 mm en longitud estándar (Figura 9 y 10; Cuadro 1), un valor máximo que supera el reportado por Greenfield y Thomerson (1997, SL=250 mm). Utilizando la referenciación geográfica de cada colecta se asignó a cada espécimen en uno de tres grupos (Bloque Maya, Bloque Chortis, Bloque Chorotega), tomando en cuenta a Martens y colaboradores (2007) como

referencia de los límites de cada Bloque. En el Cuadro 1 se presenta un desglose de la composición de la muestra de acuerdo a bloque geológico y la categoría ontogénica asignada con base en estudios de un colaborador (Contreras, sin publicar).



Figura 9. Individuos adultos de *Vieja maculicauda* que ejemplifican la variabilidad en forma de cuerpo. a y b) Individuos proveniente del Lago Izabal en Guatemala. c) Individuo proveniente del Río Huahuashan en Nicaragua. d) Individuo proveniente de Tortuguero en Costa Rica.

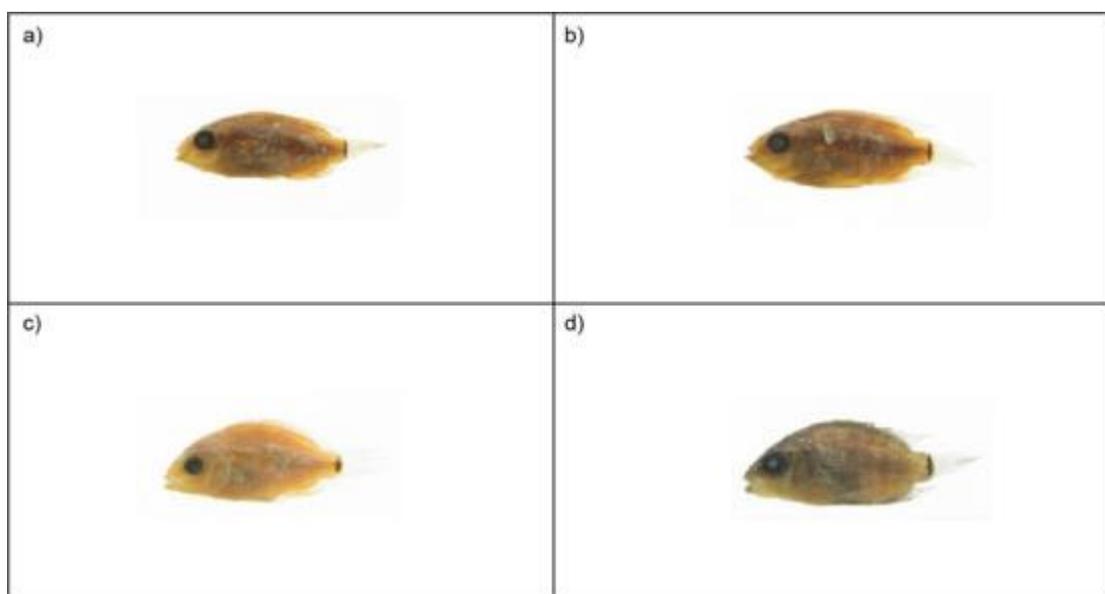


Figura 10. Individuos juveniles de *Vieja maculicauda* presentan evidentes diferencias en forma de cuerpo con respecto a las tallas adultas (Figura 9). a y b) Individuos provenientes de Panamá. c) Individuo proveniente de Belice. d) Especímen proveniente de Guatemala.

Cuadro 1. Composición étnica de los especímenes de cada bloque geológico

<b>Bloque Geológico</b>	<b>Categoría</b>	<b>Longitud</b>
Bloque Maya	Juveniles	81 (16-74 mm SL)
	Adultos	43 (76-232 mm SL)
Bloque Chortis	Juveniles	66 (20-74 mm SL)
	Adultos	78 (75-224 mm SL)
Bloque Chorotega	Juveniles	109(16-74 mm SL)
	Adultos	30 (78-251 mm SL)

## 7.2 Morfometría geométrica

El análisis morfométrico se realizó mediante la compilación de las fotografías con el programa Tps.util (Rohlf, 2009), el cual convierte la serie de fotografías a un formato .tps, especial para la ubicación de las marcas corporales homólogas “landmarks” utilizando el programa Tps.Dig (Rohlf, 2010). Se escogieron 17 marcas en el cuerpo de cada pez:

1) punta del hocico, 2) pliegue labial, 3) punto anterior del ojo, 4) punto posterior del ojo, 5) borde posterior del preopérculo, 6) punto más posterior del opérculo, 7) inserción de la cabeza, 8 y 9) base dorsal de la aleta dorsal, 10) inserción de la aleta caudal, 11) última escama de la línea lateral, 12) base ventral de la aleta caudal, 13 y 14) base de la aleta anal, 15) inserción posterior de la aleta pélvica, 16 y 17) base de la aleta pectoral (Figura 11).

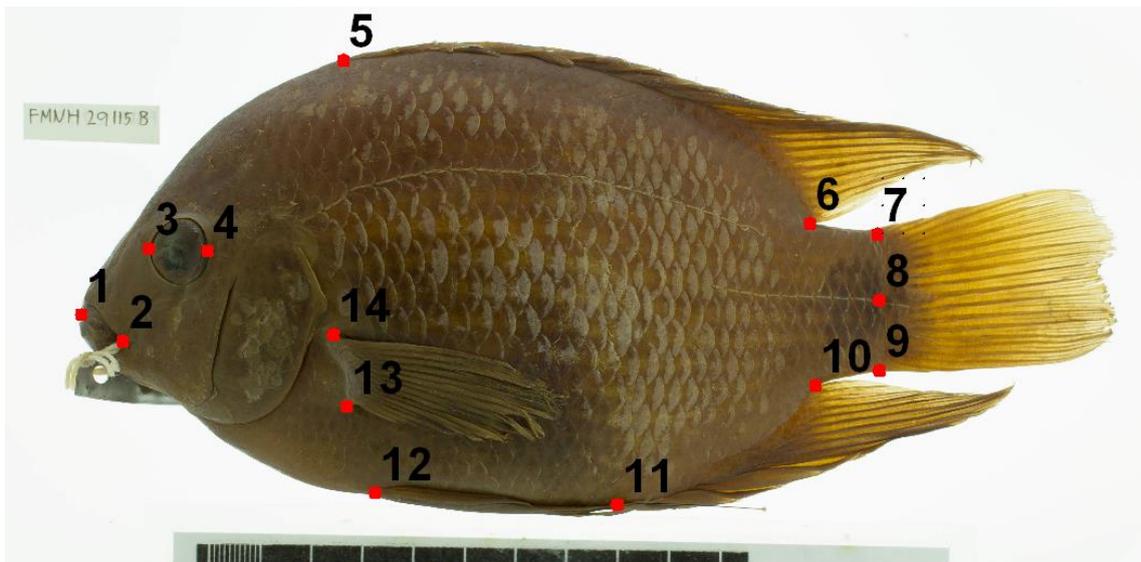


Figura 11. Imagen representativa de *Vieja maculicauda* con la ubicación de cada uno de los “landmarks” principales.

Adicionalmente, se colocaron dos marcas (18 y 19) en una distancia de 10 mm correspondientes a la escala. Mediante el uso de las funciones básicas del programa R Software versión 3.6.0 (R Core Team, 2019), fue posible calcular la longitud estándar de cada espécimen representada por la distancia entre la marca 1 y la marca 11.

Mediante el uso del programa MakeFan8 (Sheets, 2010), se colocaron una serie de 19 “semi-landmarks” sobre la cabeza (10 en la curvatura superior y 9 en la curvatura inferior), 19 “semi-landmarks” en la parte media del cuerpo (10 en el dorso y 9 en el vientre), para un total de 38 “semi-landmarks” (Figura 12). Los números desiguales entre las partes dorsales y las ventrales, se deben principalmente a que se omitieron “semi-landmarks” que traslapaban con “landmarks” verdaderas. Los puntos de referencia de los abanicos utilizados para la colocación de los “semi-landmarks” son todos referentes a los “landmarks” principales (puntos 1, 7 y 8 para la cabeza; 7, 8 y 15 para el abanico dorsal del medio; 7, 13 y 15 para el abanico ventral).

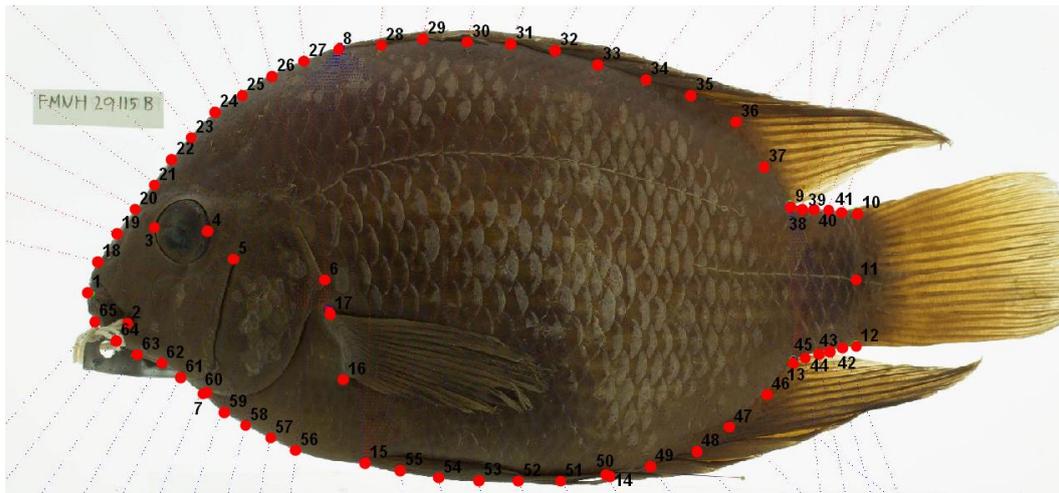


Figura 12. Disposición de “semi-landmarks”. “Semi-landmarks” que traslapan con “landmarks” principales y “semi-landmarks” en la zona caudal fueron removidas antes del análisis.

Se realizó una matriz de datos, para que cada espécimen con la siguiente información: Longitud estándar (SL), sitio de colecta, país colectado, bloque geológico al que pertenecen, cuenca hidrológica, su ubicación geográfica respecto a la Falla del Motagua a través de las también incluidas coordenadas de latitud y longitud, y categoría ontogénica de acuerdo a datos de longitud estándar proporcionados por un colaborador (Contreras, sin publicar). Todos los individuos menores a 75 mm SL se clasificaron como juveniles y todos los mayores a 75 mm SL como adultos. Datos certeros sobre los cambios ontogénicos en *Vieja maculicauda*, y su hipotética variabilidad geográfica no se encuentran disponibles por el momento.

### 7.3 Preparación de los datos morfométricos

Para el análisis de los datos de la forma de *Vieja maculicauda* se utilizó R Software 3.6.0 y los paquetes geomorph (Adams *et al.*, 2018), Morpho (Schlager, 2017), shapes (Dryden, 2018), vegan (Oksanen, 2019) y RRPP (Collyer y Adams, 2019).

Se efectuó un escalamiento de las fotografías, utilizando como referencia los “landmarks” 56 y 57, utilizando las funciones base del programa R v 3.6.0, se logró escalar todas los especímenes. A continuación, se realizó el Análisis Procrustes Generalizado, mediante la función gpgagen del paquete

geomorph (Adams *et al.*, 2018), para eliminar todas las variaciones ajenas a la forma en los individuos estudiados. Se utilizó un archivo de tipo “slider”, el cual especifica que “landmarks” son “semi-landmarks” para así ajustar su “deslizamiento” sobre una curva de referencia y hacer que los “semi-landmarks” varíen en una sola dimensión. Esto se debe realizar ya que los “landmarks” principales siguen patrones de homología para su posicionamiento, mientras que los “semi-landmarks” no. Al centrar su información en los contornos y no las posiciones de las marcas, estas deben ser sujetas a un método de deslizamiento que permita promediar formas y representar su variación y covariación (Bookstein *et al.*, 2002). Esta variación tangencial es removida, al minimizar la energía de flexión con respecto a una forma promedio (Bookstein, 1997). Zelditch & Swiderski recomiendan utilizar este método de minimizar la energía de flexión por encima del método de distancia de Procrustes (comentario personal, Zelditch), aunque Pérez y sus colaboradores (2006) descubrieron que las diferencias entre ambos métodos son negligibles en casos como el presente, donde el tamaño de la muestra es grande. Una vez realizados estos pasos, los datos morfométricos están listos para ser analizados.

#### **7.4 Alometría**

La alometría se define como la covarianza en rasgos como consecuencia de la variación en tamaño (Klingenberg, 2016). Si bien el componente uniforme del tamaño se elimina al realizar el análisis de Procrustes generalizado, el efecto de alometría no es uniforme y debe ser considerado como un factor en estudios de morfometría cuando se utilizan individuos de distintas tallas. Este es el caso del presente estudio, el cual incluye tallas de 16 mm al máximo reportado de 250 mm de longitud estándar. La manera tradicional de cuantificar el efecto alométrico y corregirlo de ser necesario, se realiza llevando a cabo una regresión de los valores de la forma, es decir, las coordenadas de Procrustes sobre una medida de talla, siendo el tamaño del centroide la medida utilizada generalmente en morfometría geométrica (Monteiro, 1999). El resultado de este proceso es un patrón de alometría, el cual se caracteriza como la forma esperada por unidad de incremento en tamaño (Klingenberg, 2016). Cabe

resaltar que esta es solamente una tendencia, y la mayor parte de los individuos presentarán componentes residuales, los cuáles en teoría corresponderán a las diferencias en forma que no están relacionadas al tamaño.

En casos como el presente, en el cual se encuentran poblaciones distintivas, se recomienda realizar simultánea a la regresión una prueba que constate si todos los grupos están siguiendo un solo patrón de alometría. El método más adecuado para poner a prueba si existe diferencia en las pendientes de regresión de cada grupo es un análisis multivariado de covarianza (MANCOVA por sus siglas en inglés) de las variables de forma por grupo, con el tamaño del centroide como covariante. La fórmula de esta ecuación es la siguiente: forma ~ tamaño del centroide\*bloque geológico y mediante las funciones base del programa R se realizaron 999 permutaciones para poner a prueba la significancia de los resultados.

Los residuales de la regresión de alometría (Figura 13) serán sumados a la forma predicha por el modelo de regresión, estos datos se usaron en un análisis de componentes principales y el análisis canónico de varianza. Las pruebas de correlación de Mantel se llevarán a cabo con los residuales únicamente, ya que en este caso no es necesario utilizar gradillas de deformación (ver siguientes secciones). Todos estos pasos se realizaron a través del paquete geomorph 3.1.0 (Adams *et al.*, 2018) en el software R 3.6.0 (R Core Team, 2019).

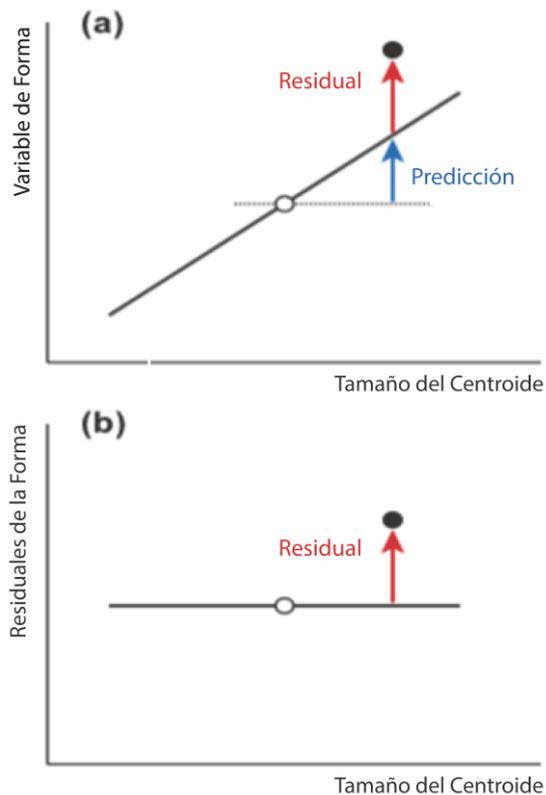


Figura 13. Representación gráfica de cómo funcionan los residuales de una regresión. Tomado de Klingenberg (2016).

## 7.5 Análisis de componentes principales

Para evaluar el primer objetivo, y comprobar si el tamaño de los individuos es un factor que esté influyendo en la forma de cuerpo, se realizó un análisis de componentes principales. Este es un método de ordenación descriptivo que busca extraer la mayor variación de los datos analizados. En este análisis no se realiza ninguna asignación a priori y es nada más un método descriptivo de la varianza y no conlleva hipótesis.

Este análisis se llevó a cabo con la función `plotTangentSpace` del paquete `geomorph` (Adams *et al.*, 2018), con los datos morfométricos provenientes del análisis general de Procrustes y los residuales morfométricos de la regresión alométrica. Posteriormente se graficaron los primeros dos componentes principales, donde cada individuo fue codificado por color de acuerdo a 1) el bloque geológico al que pertenece y 2) de acuerdo dos grupos separados por la talla estimada de maduración (Contreras, sin publicar). Se incluyeron las gradillas de deformación, las cuales muestran el cambio de la

forma promedio en relación a los extremos de cada eje.

## **7.6 Análisis canónico de la varianza**

Para conocer si las poblaciones de los distintos bloques pueden ser diferenciados de acuerdo a la forma de cuerpo, se utilizó un análisis canónico de la varianza, el cuál simplifica la descripción de diferencias entre grupos y forma funciones matemáticas capaces de asignar especímenes a grupos en una especie de función discriminativa multi-grupo (Zelditch *et al.*, 2012). El presente set de datos cumple con las suposiciones de la prueba, entre las que se exige que los individuos puedan ser asignados a priori y sin ambigüedad a grupos mutuamente exclusivos.

Se realizó un análisis canónico de la varianza con los residuales morfométricos de la regresión alométrica mediante la función CVA del paquete Morpho (Schlager, 2017). Cada set de coordenadas es asignado a un grupo y el análisis se encarga de encontrar los ejes que mejor diferencian las medias entre los grupos. La probabilidad típica es calculada mediante la función *typprob* del paquete Morpho (Schlager, 2017), la cual utiliza una prueba de  $\chi^2$  para estimar la probabilidad de reclasificación correcta, es decir, la probabilidad que una observación pertenezca al grupo al que es asignado, con base en poseer una mayor similitud con la media de ese grupo a lo largo de los ejes canónicos. Se generaron gráficos de dispersión y tablillas de deformación para apreciar la separación entre grupos y las deformaciones se han amplificado al doble para una mejor visualización de las zonas anatómicas en donde se diferencian las poblaciones.

## **7.7 Análisis de correlación**

Los análisis de correlación representan la porción principal de este trabajo y se dirigen a intentar contestar la pregunta de si las diferenciaciones en forma de cuerpo están obedeciendo a alguna variable identificable. En el presente estudio se ha puesto a prueba tres hipótesis para tratar de explicar la forma del cuerpo: la ubicación geográfica, datos ecológicos extraídos de la base de datos

Worldclim y las secuenciaciones genéticas obtenidas por McMahan y sus colaboradores (2017).

Las variables canónicas fueron utilizadas para construir una matriz de distancia morfométrica. La matriz de distancia geográfica fue creada a partir de los valores de latitud y longitud en sistema decimal y para la matriz genética se obtuvieron las distancias  $p$ . Debido a que la prueba de Mantel exige que las matrices a comparar tengan el mismo número de ítems, se debió promediar tanto las distancias genéticas, como las variables canónicas de la forma a ocho unidades geográficas utilizadas (Figura 14).

Para evaluar correlaciones entre forma de cuerpo y los factores antes mencionados se ha recurrido a la herramienta del análisis de correlación de Mantel. Esta herramienta, propuesta por primera vez por Mantel en 1967 ha sido desde entonces utilizada comúnmente para evaluar la relación entre la distancia geográfica y la divergencia genética entre poblaciones (Diniz-Filho *et al.*, 2013). Entre más cercano esté el valor de  $r$  de Mantel a 1, más fuerte es la correlación positiva (o cercano a -1, más fuerte es la correlación negativa), mientras que si el valor se acerca al cero, sugiere poca o nula correlación. La prueba además se complementa con permutaciones, las cuales sirven para otorgar un valor de  $p$  que dice si el valor de la  $r$  de Mantel es mayor que el encontrado por los valores producto de las permutaciones de aleatorización.

Para realizar esta prueba, la base de datos de coordenadas morfométricas fue transformada a una matriz de distancia y la prueba de Mantel se realizó mediante la función `mantel.correlog` del paquete `vegan` (Oksanen *et al.*, 2019) en el programa R software 3.6.0 (R Core Team, 2019). La base de datos morfométricos fue comparada secuencialmente con matrices de distancia de las coordenadas geográficas de latitud y longitud, así como con los datos derivados de la plataforma digital WorldClim (Fick & Hijmans, 2017), extraídos a través de la función `getData` del paquete `raster` (Hijmans, 2018). Esta base de datos es un set de capas climáticas globales con alta resolución, utilizadas para mapeo y modelado espacial.

Para realizar la prueba de correlación de Mantel se utilizó los datos genéticos de 35 especímenes provenientes del estudio de McMahan y colaboradores (2017), descargando las secuencias del portal GenBank. Se debieron modificar ambas bases de datos para obtener promedios en base de unidades geográficas (Figura 14), logrando obtener una secuencia y una forma promedio para cada una de las ocho agrupaciones utilizadas: Belice, Lago Izabal, Río Motagua, Nombre de Dios, Aguan, Mosquitia, Río San Juan y Panamá.

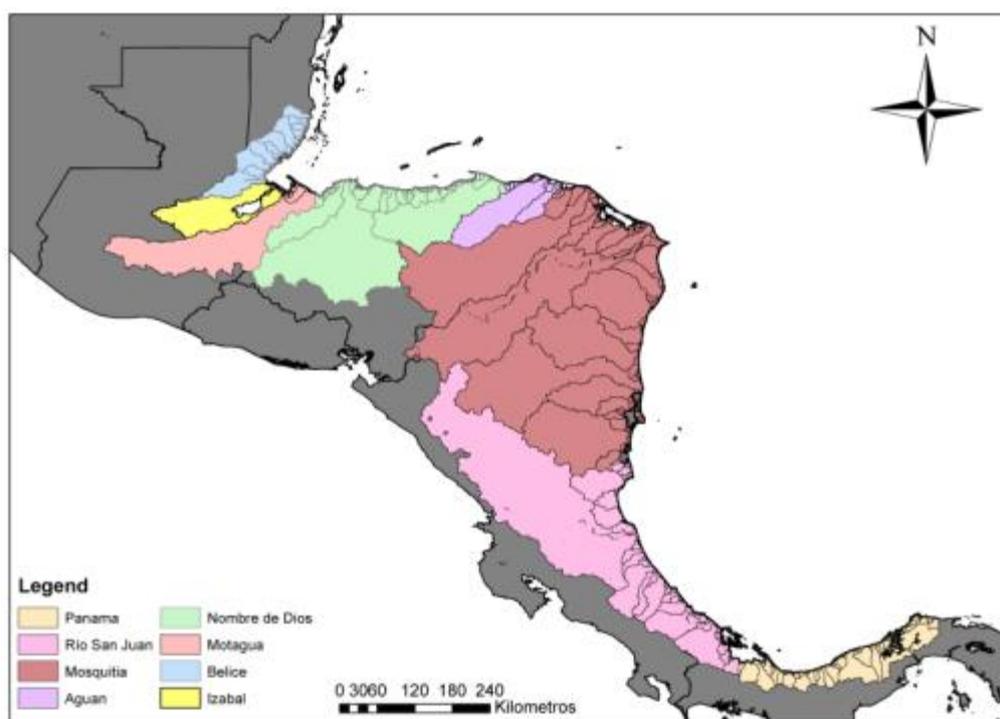


Figura 14. Unidades geográficas utilizadas para promediar y tener matrices morfométricas y genéticas equivalentes en número.

A partir de las coordenadas geográficas de cada colecta, se generó una matriz de datos ambientales utilizando la plataforma de WorldClim (Fick & Hijmans, 2017) para asignar a cada sitio 19 parámetros de temperatura y precipitación. Debido a la naturaleza de estos datos, se esperaba encontrar alta colinealidad, por lo que se corrió un análisis de Pearson mediante la función `cor` en R software 3.6.0 (R Core Team, 2019). Se evaluaron los resultados y se eliminaron todos los parámetros con valores de correlación mayores a 0.75, reteniendo únicamente nueve parámetros, los cuales son detallados en el

Cuadro 2. Cada pez obtuvo valores para cada uno de los nueve parámetros de Worldclim, y esta base de datos, se transformó en una matriz de distancia, utilizada para comparar contra la matriz de distancia en forma de cuerpo mediante la prueba de Mantel.

Cuadro 2. Parámetros de Worldclim utilizados para la prueba de Mantel

<b>Código Worldclim</b>	<b>Variable Climática</b>
BIO1	Temperatura promedio anual
BIO3	Isotermalidad
BIO5	Temperatura máxima del mes más caliente
BIO8	Temperatura promedio del cuarto más húmedo
BIO9	Temperatura promedio del cuarto más seco
BIO11	Temperatura promedio del cuarto más helado
BIO15	Temporalidad de la precipitación (coeficiente de variación)
BIO16	Precipitación del cuarto más húmedo
BIO18	Precipitación del cuarto más cálido

Cada análisis de Mantel viene acompañado de una gráfica de correlación de Mantel y una gráfica de dispersión utilizando los valores de cada par de matrices triangulares.

## VIII. RESULTADOS

Un total de 407 especímenes de *Vieja maculicauda* fueron digitalizados con 65 “landmarks” y “semi-landmarks”. En una posterior evaluación, se eliminaron los “semi-landmarks” del área caudal, así como los “semi-landmarks” que presentaban traslape con “landmarks” principales para reducir a un total de 54 “landmarks”, 17 principales y 37 “semi-landmarks”. A nivel informático, cada “landmark” y “semi-landmark” presentan un valor para la coordenada sobre el eje de X y un valor para el eje de Y, obteniendo así un set de datos de 108 valores para cada individuo.

El análisis de Procrustes generalizado permitió eliminar las variaciones ajenas a la forma, producto de la ubicación del pez dentro de la fotografía, su ángulo y la escala de la misma. En el resultado de la alineación (Figura 15) se puede apreciar la ubicación promedio de cada “landmark”, así como la variación alrededor de esta. Desde este momento resulta evidente que existe variabilidad dentro de los individuos, con particular enfoque en el área cefálica.

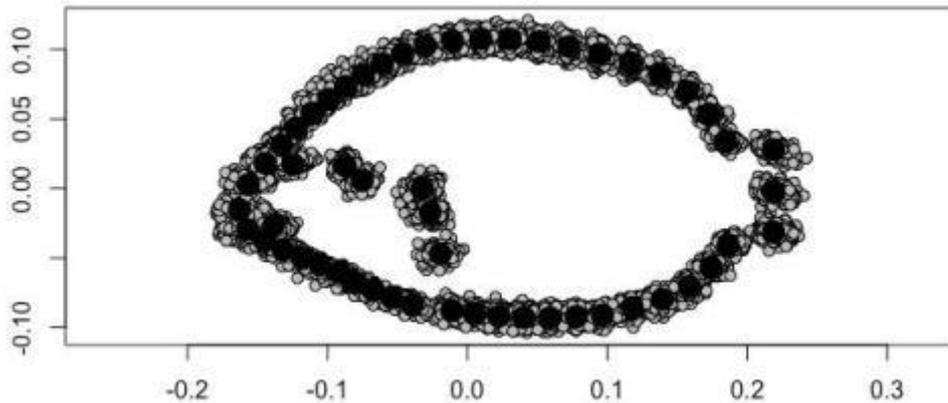


Figura 15. Resultado del análisis de Procrustes generalizado de los 407 especímenes de *Vieja maculicauda*.

## 8.1 Alometría

Una regresión de las variables de forma contra el tamaño del centroide, refleja el porcentaje de la variación en la forma de cuerpo que es explicada por cambios en la talla del pez (Cuadro 3). La gráfica del resultado de la regresión (Figura 16) muestra la tendencia de alometría positiva, donde la forma alargada antero-dorsalmente, con cabeza en forma de flecha está presente en las tallas menores, y cambia hacia una forma comprimida en longitud, pero ensanchada en altura y con una cabeza mucho más comprimida en las tallas mayores.

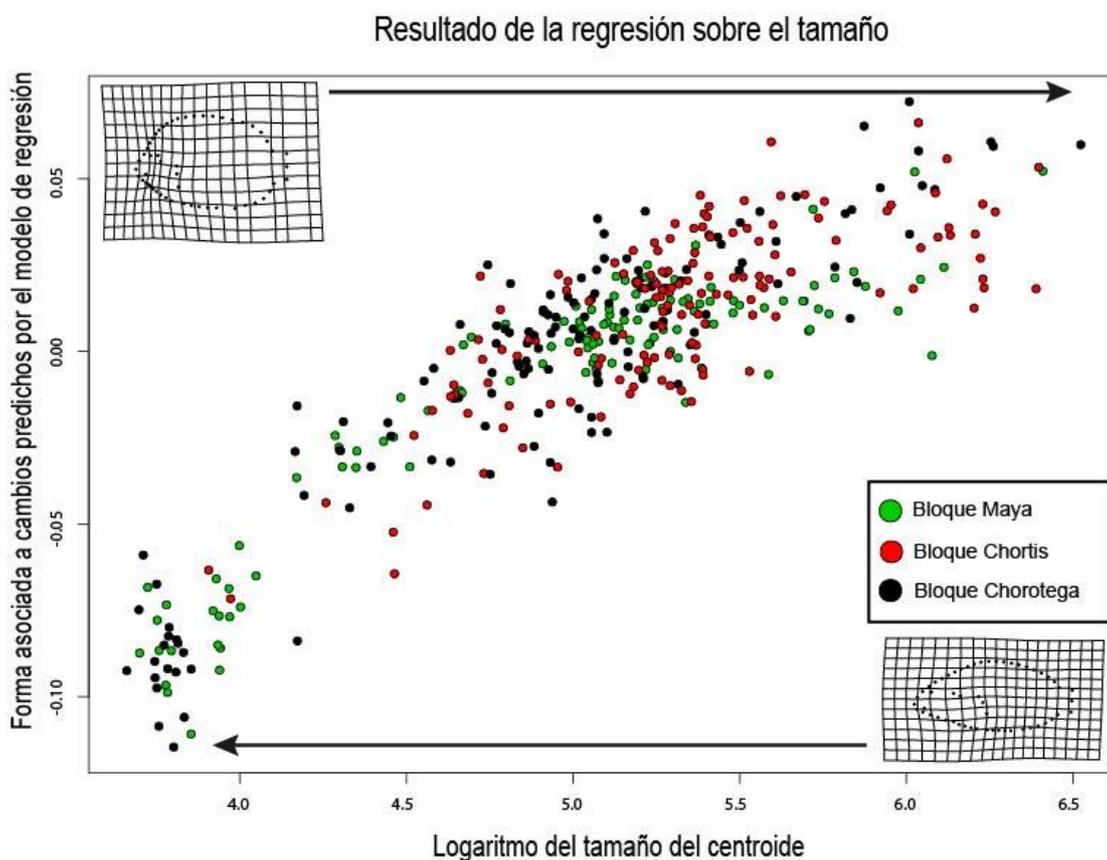


Figura 16. Gráfica de dispersión que muestra la alometría positiva dentro de los individuos de *Vieja maculicauda* utilizados en el presente estudio. Las gradillas de deformación ilustran los cambios de la forma consenso de la muestra hacia las tallas más pequeñas y más grandes respectivamente.

Cuadro 3. Resultados de la regresión alométrica y análisis multivariado de covarianza.

	R <sup>2</sup>	Pr(>F)
Tamaño	0.325	0.001
Grupos	0.058	0.001
Tamaño:grupos	0.020	0.001
Residuales	0.595	

Los resultados indican que la forma de los especímenes de *Vieja maculicauda* utilizados esta explicada en un 32.5% por la talla del pez. El grupo al que pertenecen, una variable categórica, únicamente explica un 5.9% de la forma del cuerpo y la interacción entre el tamaño y el grupo explica un 2.1%. La relación tamaño:grupos hace referencia a la alometría individual de cada uno de los bloques y se puede apreciar en la Figura 16 que las tres poblaciones siguen un patrón muy similar, aún tomando en cuenta las pocas muestras de menor tamaño dentro del Bloque Chortis. Los residuales, es decir, toda aquella variación existente que no puede ser explicada por ninguna de las variables anteriores representa un 59.5%.

La forma cambia durante la ontogenia del pez. En sus etapas tempranas el cuerpo es más alargado, particularmente en la zona oral-cefálica y cambia hacia un cuerpo en forma de remo, comprimido antero-posteriormente, pero agrandado en altura en la mitad del cuerpo a medida aumenta la talla (Figura 17).

La prueba de MANCOVA indica una interacción pequeña de 2.1%, la cual es estadísticamente significativa. En la Figura 16 queda evidenciado como la pendiente correspondiente al grupo Chortis difiere con respecto a los otros dos grupos, pero resulta aceptable considerar que puede ser producto del reducido número de individuos pequeños dentro de la muestra de esta sub-población.

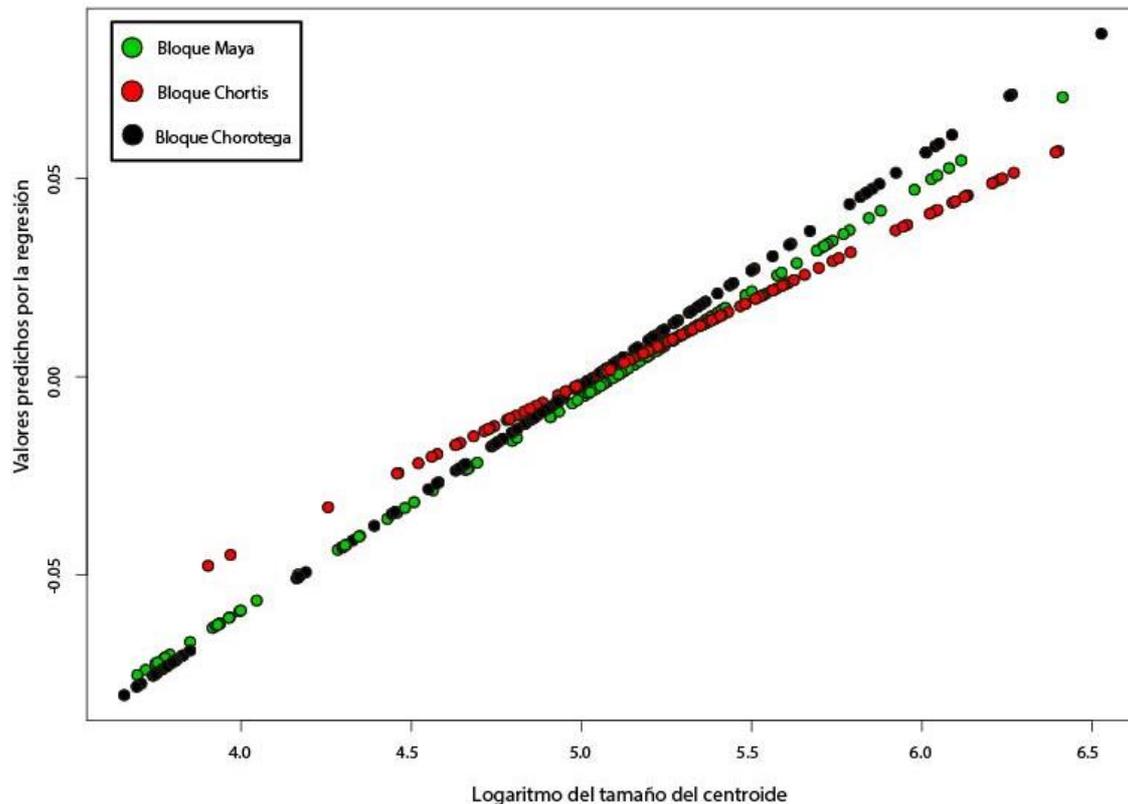


Figura 17. Gráfica que muestra las formas predichas con base en los modelos de alometría independientes de cada grupo.

## 8.2 Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales realizado con los datos sin corrección por alometría, corrobora lo encontrado en la regresión por alometría. En la Figura 18 el primer componente principal explica la variabilidad en la forma del cuerpo en un 42%. Los individuos de menor talla se agrupan en el extremo positivo del eje y los grandes en el negativo. Las gradillas de deformación ilustran el cambio de la forma consensuada hacia los ejes de mayor variación y los cambios en el primer componente principal es muy parecido a los cambios alométricos descritos en la sección anterior.

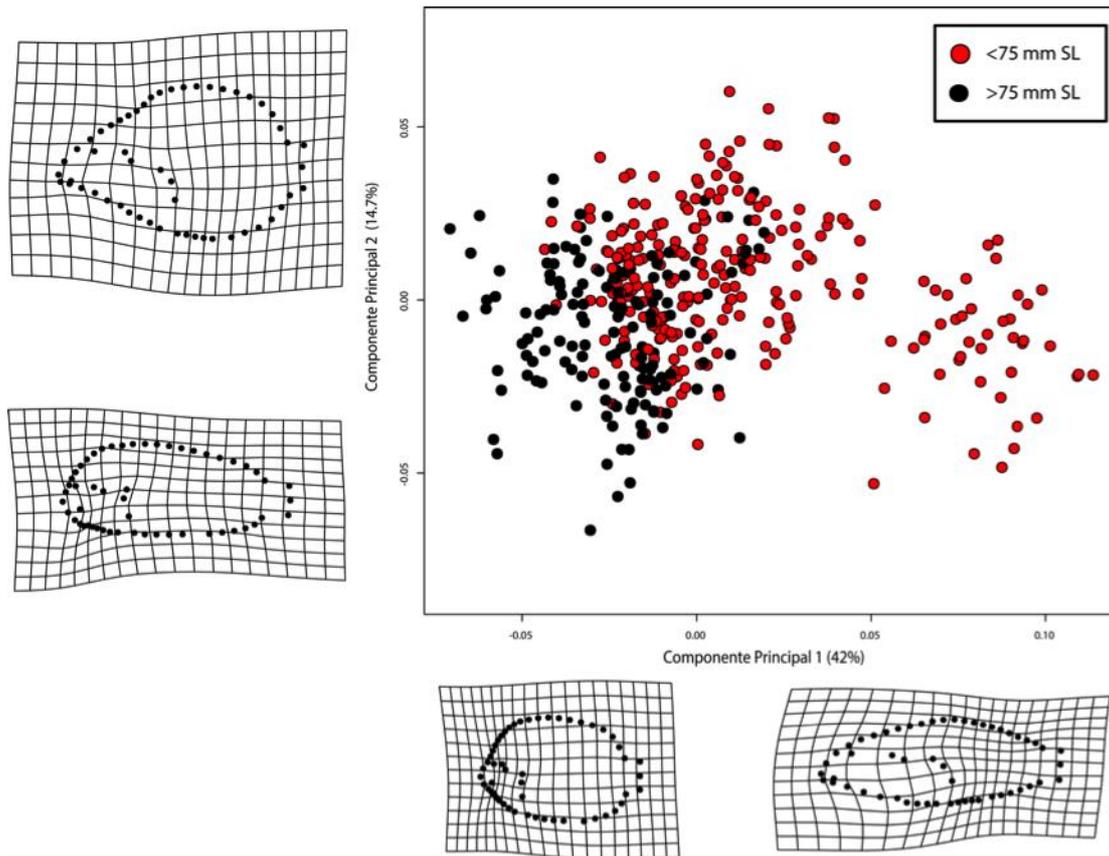


Figura 18. Análisis de componentes principales utilizando los datos morfométricos sin corregir por alometría. Las gradillas de deformación ilustran las formas extremas de cada uno de los ejes. Estas han sido magnificadas por dos para su mejor apreciación.

El componente principal dos explica un 14.7% de la varianza y está relacionado al área cefálica del pez, particularmente la zona oral. En ambas gradillas de deformación, el uso de las “semi-landmarks” ha ayudado a encontrar mayor variación.

En la Figura 19 se presenta el análisis de componentes principales codificado de acuerdo al bloque geológico. Se puede apreciar como los principales ejes de varianza no parecen estar respondiendo al origen del individuo. La variación en tamaño reflejada en el componente principal 1 es alométrica y únicamente aparenta una marca geográfica, pero ésta claramente se debe a la falta de individuos de las tallas más pequeñas en la muestra del Bloque Chortis. La varianza explicada en el componente principal 2 se relaciona al área oral y se puede observar traslape entre los bloques geológicos sobre este eje, aunque con una tendencia de los individuos del

Bloque Maya hacia el extremo negativo.

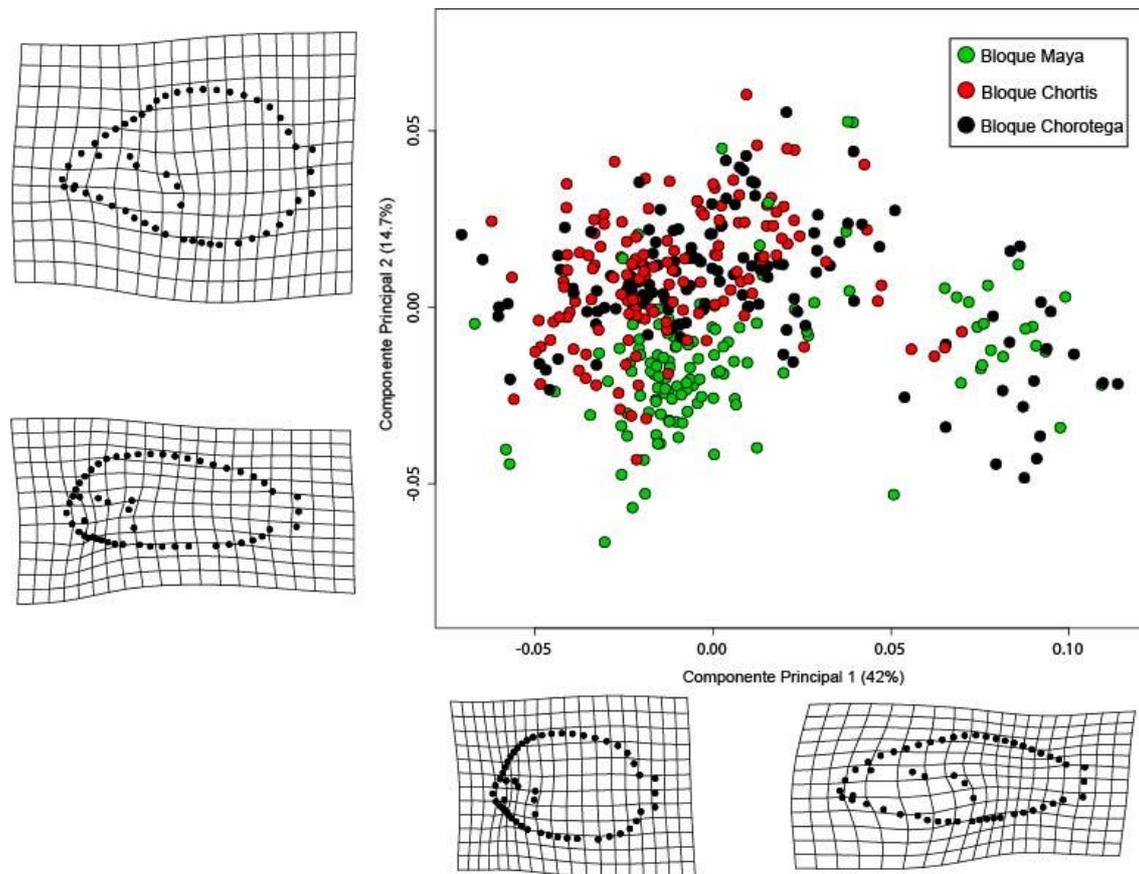


Figura 19. Análisis de componentes principales y gradillas de deformación de los datos sin corrección alométrica. Los individuos están codificados de acuerdo al bloque geológico al que pertenecen, mostrando que estos no representan los ejes de mayor variabilidad dentro de la muestra.

En el análisis de componentes principales para los datos corregidos por alometría (Figura 20), el componente principal 1 se vio reducido en el porcentaje de varianza explicada de un 42% antes de la corrección alométrica a un 24.4%. El componente principal 2 continúa explicando la varianza de los mismos “landmarks”, pero el porcentaje explicado ha aumentado de 14.7% a un 18.3%. En el primer componente principal los individuos con forma comprimida anterodorsalmente se encuentran en el extremo positivo del eje y las formas alargadas en el negativo. Las primeras presentan un ensanchamiento en la zona media del cuerpo cerca de la cabeza, mientras que los individuos cercanos al eje negativo presentan un

estrechamiento en la zona media del cuerpo. Sobre el segundo componente principal, la variación se presenta en la zona cefálica, con la zona oral protuberada hacia el frente en el extremo positivo y contraída en el negativo.

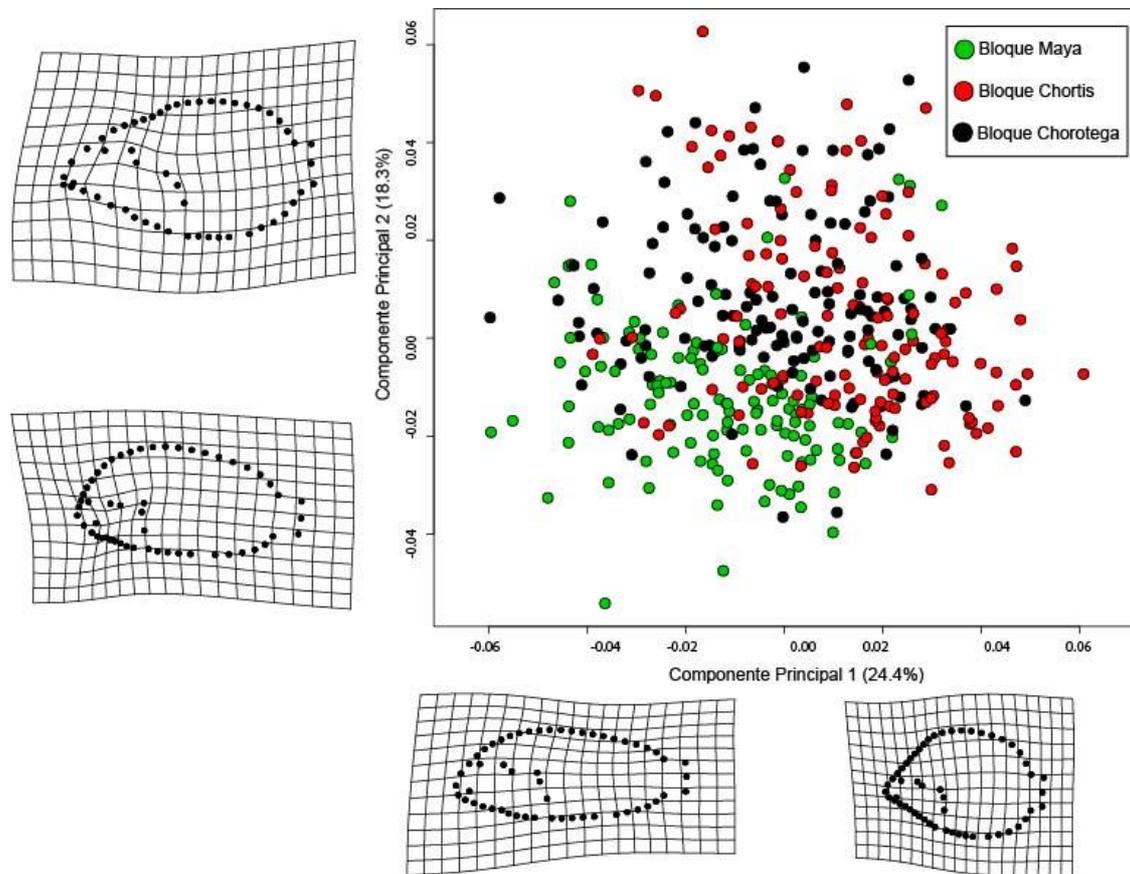


Figura 20. Análisis de componentes principales de los datos de forma de cuerpo corregidos por alometría y codificados de acuerdo al bloque geológico al que pertenecen. Las gradillas de deformación representan los cambios de la forma promedio de los datos corregidos por alometría hacia los extremos. Estas han sido amplificadas por dos para una mejor apreciación de los cambios.

### 8.3 Análisis canónico de la varianza

El resultado del análisis canónico de acuerdo al bloque geológico, muestra una separación clara entre las tres poblaciones. En la Figura 21 se puede observar la interpretación gráfica del resultado, con los individuos del Bloque Maya separados de los individuos de los otros dos bloques, por el primer eje canónico, el cual explica un 60.5% de la variación, e indica como los individuos al oeste de la Falla del Motagua tienden hacia una forma alargada, con una zona cefálica relativamente ensanchada

dorsoventralmente. El segundo eje explica un 39.5% de la variación y separa los individuos del Bloque Chorotega de los del Bloque Chortis, con los últimos mostrando un relativo ensanchamiento dorsoventral de la zona media del cuerpo.

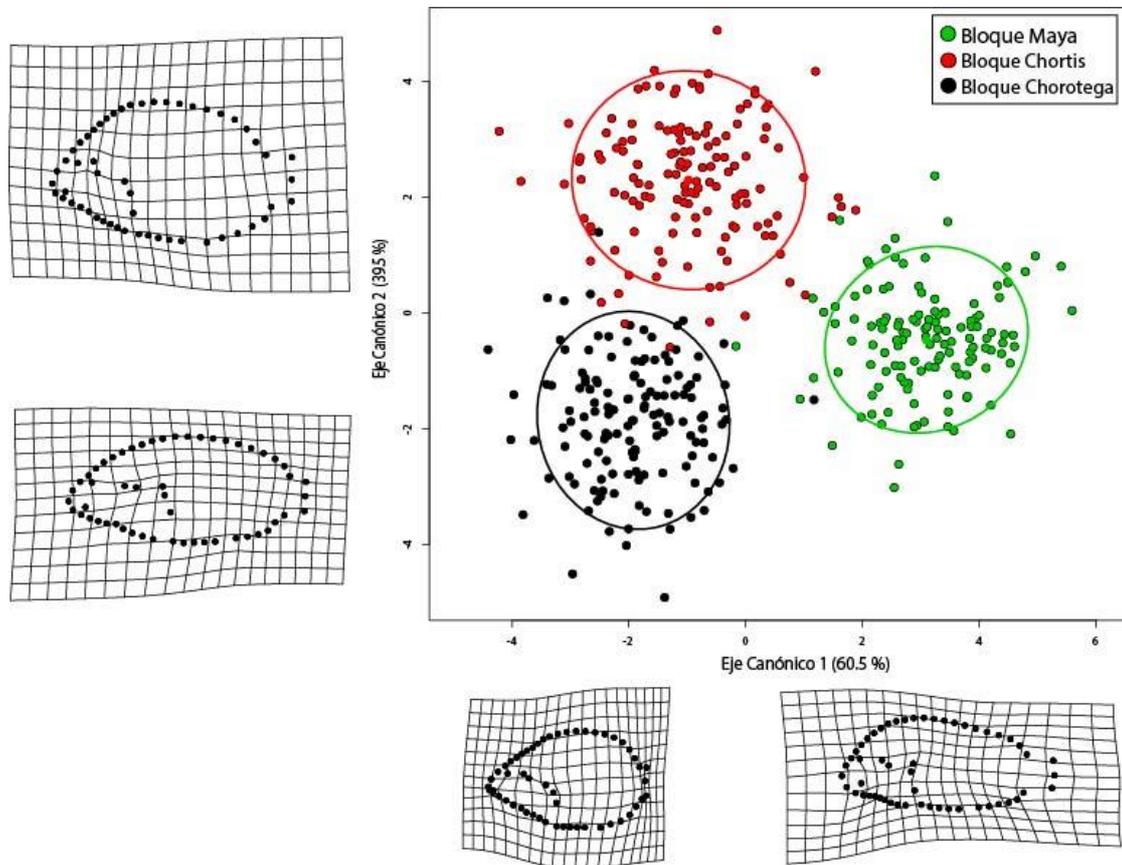


Figura 21. Análisis canónico de la varianza. Las gradillas de deformación representan los cambios de la forma promedio en cada eje. Los cambios han sido magnificados por dos para su mejor apreciación.

Los individuos del Bloque Maya son los más distintivos, lo cual se corrobora con el dendrograma basado en las distancias de Mahalanobis (Figura 22). Las diferencias entre grupos son constantes, como se muestra con la validación cruzada (Cuadro 4), donde se obtuvo una precisión de reclasificación correcta superior al 97%.

Cuadro 4. Resultados de validación cruzada de reasignación de grupos.

<b>Individuos (%)</b>	<b>Chorotega</b>	<b>Chortis</b>	<b>Maya</b>	<b>Ninguno</b>
Chorotega	135 (97.1%)	1 (0.7%)	1 (0.7%)	2 (1.4%)
Chorti	6 (4.2%)	137 (95.1%)	0 (0%)	1 (0.7%)
Maya	1 (0.8%)	0 (0%)	123 (99.2%)	0 (0%)

Las distancias de Mahalanobis indican como el Bloque Maya es el más diferente de los tres, con una relación más cercana entre el Bloque Chortis y el Chorotega (Figura 21). A pesar de la posición intermedia del Bloque Chortis, el Bloque Maya presenta una distancia de Mahalanobis menor con el más distante Bloque Chorotega.

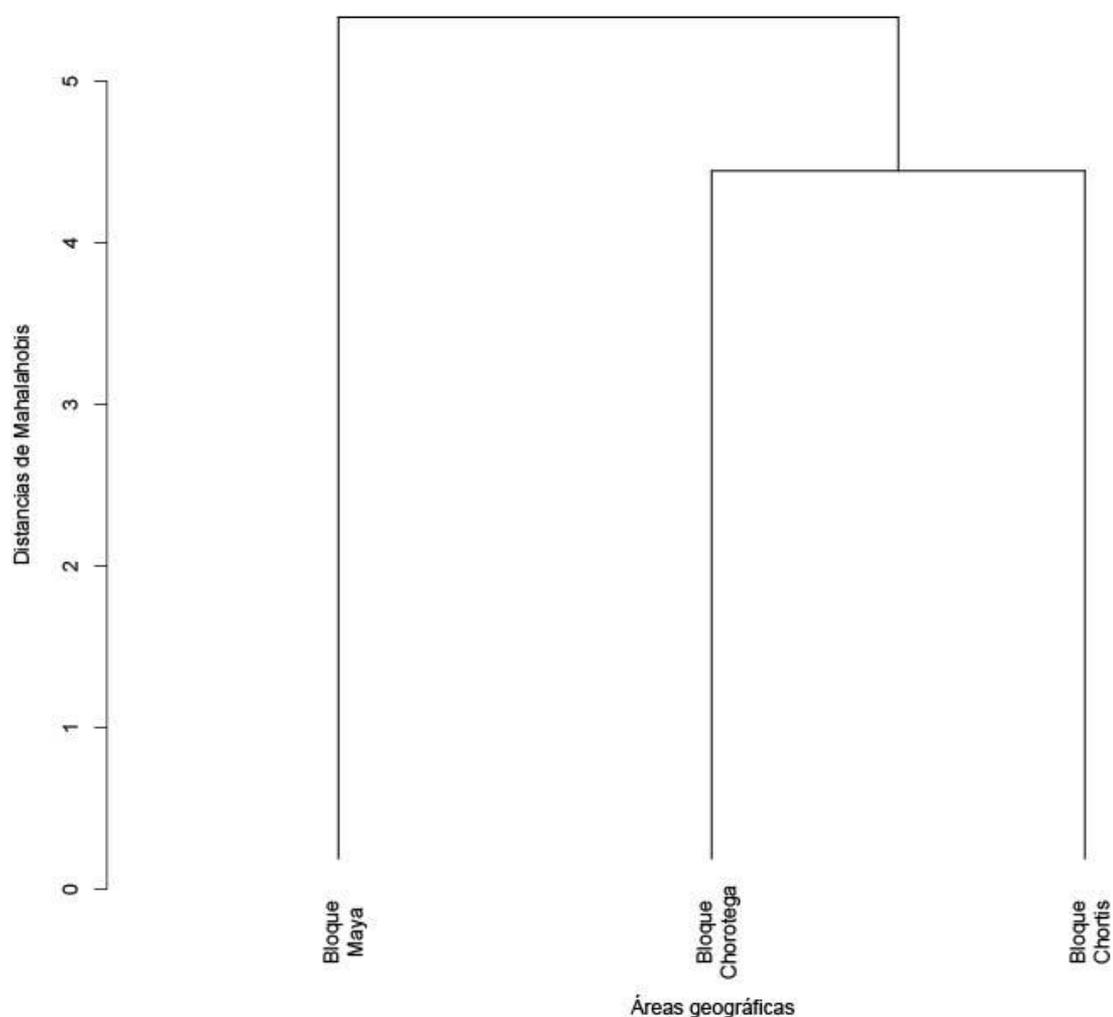


Figura 22. Dendrograma de las distancias de Mahalanobis entre grupos de *Vieja maculicauda*.

#### 8.4 Análisis de correlación

La primera correlación de Mantel, entre la forma y la ubicación geográfica obtuvo un valor de  $r$  de 0.0716, equivalente a un porcentaje de explicación de 0.5%, mostrando una correlación es prácticamente inexistente, y que las distintas formas encontradas no obedecen a un patrón netamente geográfico. Es decir, una forma presente en Panamá es tan probable de ser encontrada en Guatemala como cualquier otra forma.

La correlación de Mantel entre la matriz de forma y la ecológica arroja un resultado similar, con un valor de  $r$  de 0.0602 equivalente a un porcentaje de explicación de 0.4%, indicando que estos valores predicen aún menos la forma del cuerpo. Finalmente, la correlación genética con un valor de  $r$  de 0.293 probó ser el mejor predictor de la forma del cuerpo con un 8.6% de la varianza explicada (Cuadro 5).

Los resultados encontrados indican que aún no se han encontrado las mejores explicaciones para la variabilidad en forma de cuerpo, ya que las tres hipótesis en conjunto suman 9.5% de la varianza explicada. Los correlogramas de Mantel de la Figura 23 representan a mayor detalle la correlación entre las matrices de distancia. En el correlograma de distancia geográfica (Figura 23a) se aprecia un patrón de aislamiento geográfico aunque mucho menos marcado de lo esperado. Se observa un valor de  $r$  de 0.3 en los individuos más cercanos geográficamente pero la tendencia no persiste, con valores sin significancia estadística y muy cercanos a cero en los siguientes intervalos de distancia geográfica.

Cuadro 5. Resultados de las correlaciones de Mantel.

<b>Matriz 1 (n)</b>	<b>Matriz 2</b>	<b>R de Mantel</b>	<b>% explicado</b>	<b>Valor de p</b>
Distancia de las variables canónicas de los residuales de la regresión alométrica (407)	Distancia de coordenadas geográficas de latitud y longitud	0.0716	0.5%	0.001
Distancia de las variables canónicas de los residuales de la regresión alométrica (407)	Distancia de variables ecológicas extraídas de la base de datos de WorldClim	0.0602	0.4%	0.002
Distancia de los promedios de las variables canónicas por unidad geográfica (8)	Distancias de P de los promedios genéticos por unidad geográfica	0.293	8.6%	0.147

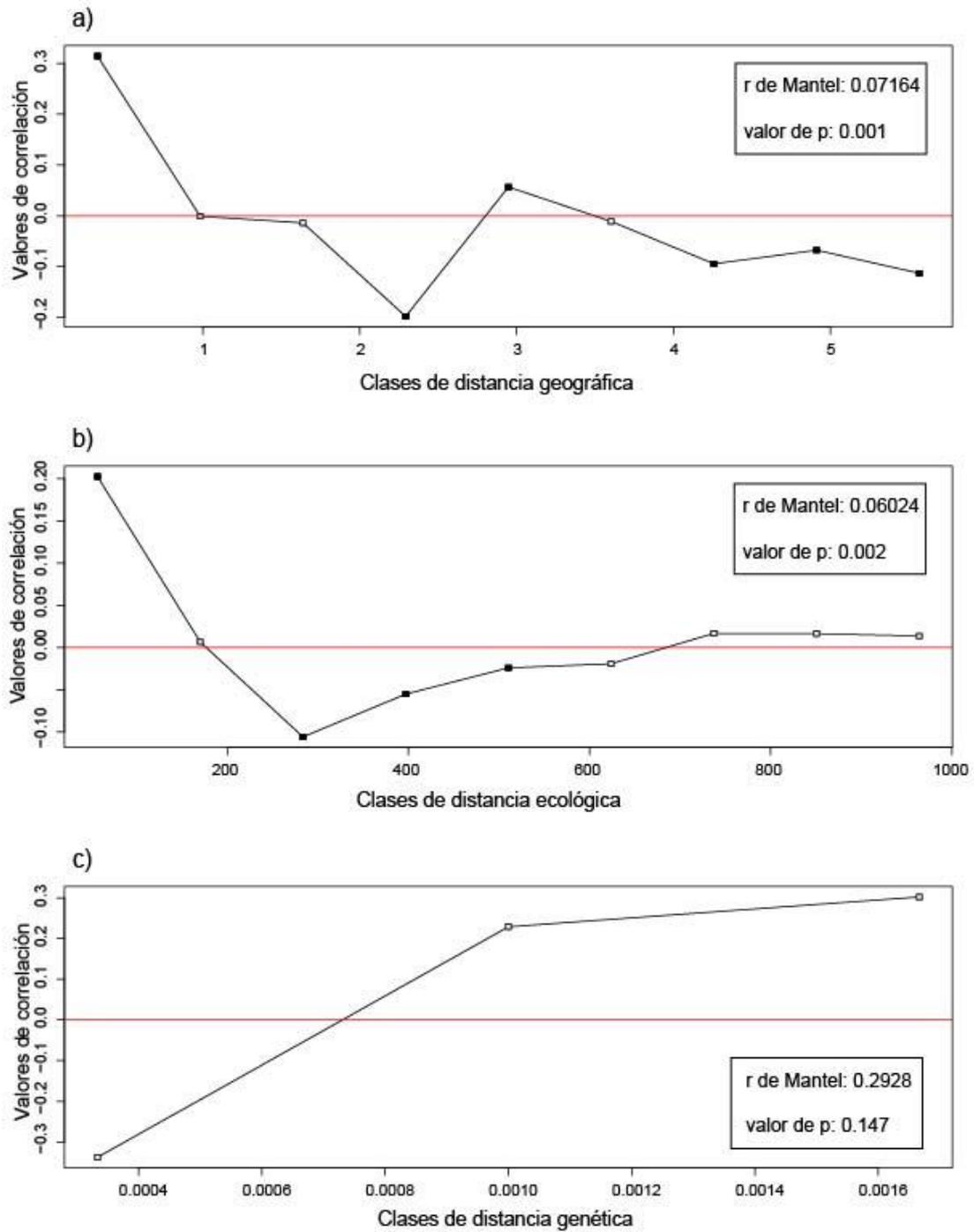


Figura 23. Correlogramas de Mantel que muestran la variación de los coeficientes de correlación a lo largo de: A) grados de ubicación geográfica. B) distancia en la matriz ecológica. C) distancias genéticas.

## 8.5 Comparación de resultados utilizando “semi-landmarks”

Uno de los aspectos más novedosos del presente estudio fue la cantidad de “semi-landmarks” utilizados, ya que se tomó la decisión de maximizar su uso, esperando que la consideración de los contornos cefálicos y de la zona media del cuerpo entregase un mejor resultado al momento de explicar la varianza y separar entre bloques geológicos. Al correr los análisis utilizando únicamente los 17 “landmarks” principales (Figura 24), se obtiene una forma del pez, aunque posee una buena cobertura, resulta más abstracta de apreciar y no toma en cuenta la variación en la inclinación cefálica, la cual es fácil de apreciar a simple vista.

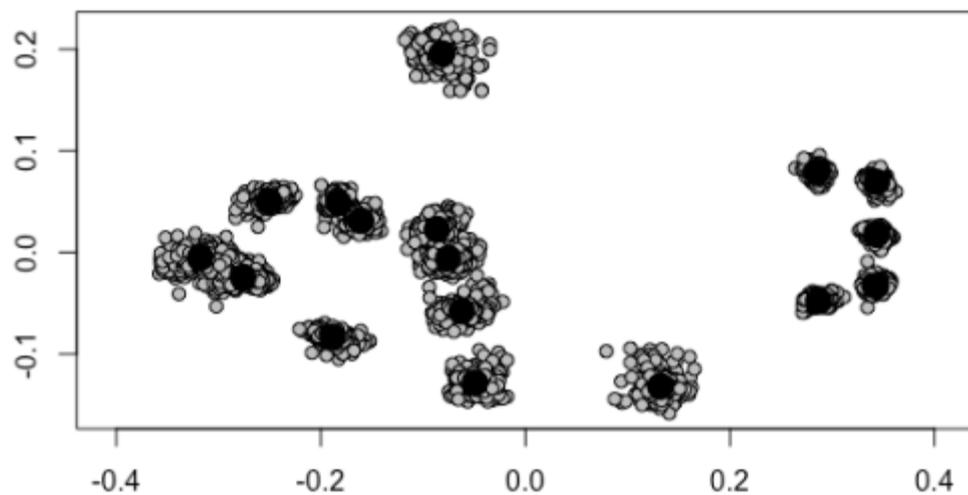


Figura 24. Resultado del análisis generalizado de Procrustes para los 17 “landmarks” principales.

Las pruebas de alometría resumidas en el Cuadro 6 muestran como a pesar de la ausencia de “semi-landmarks”, la relación entre forma y tamaño se mantiene casi constante, así como la poca variación tanto en la regresión por grupo como en la interacción tamaño:bloque geológico.

Cuadro 6. Análisis comparativo de la regresión alométrica y análisis multivariado de covarianza para los datos utilizando solo “landmarks” principales (17).

	R <sup>2</sup>	Pr(>F)
Tamaño	0.327	0.001
Grupos	0.063	0.001
Tamaño:grupos	0.015	0.001
Residuales	0.593	

El análisis que presenta una mayor eficiencia en los resultados tras el uso de “semi-landmarks” es el análisis canónico de la varianza, ya que con únicamente los “landmarks” principales, el porcentaje de reasignación cae a un 90% y en la gráfica de dispersión es fácil visualizar el mayor traslape existente (Figura 25). También se puede apreciar al comparar la Figura 21 con la Figura 25, que las gradillas de deformación son mucho más informativas al incluir las “semi-landmarks”, pues al no utilizarlas se pierde información respecto al contorno del pez.

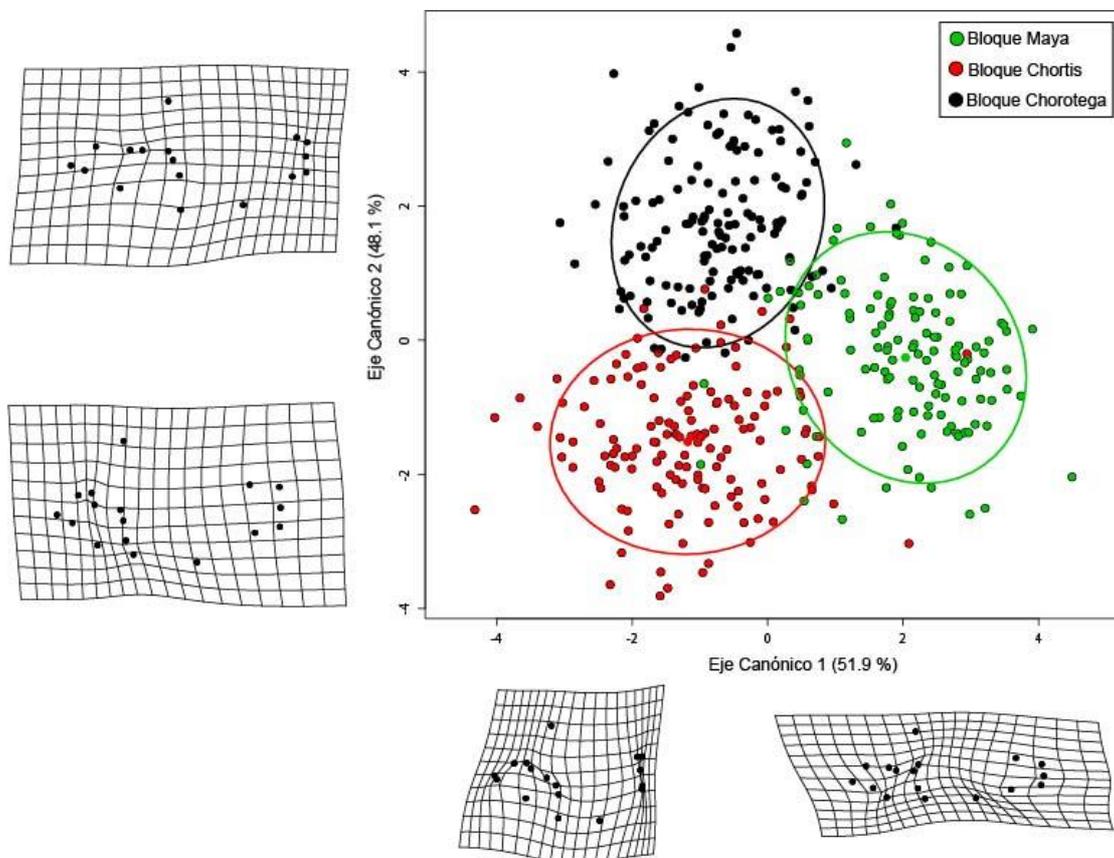


Figura 25. Análisis canónico de la varianza utilizando únicamente los 17 “landmarks” principales. El CVA es realizado sobre los residuales de los datos corregidos por alometría.

## IX. DISCUSIÓN

### 9.1 Cambios alométricos

La aplicación de la morfometría geométrica en estudios ecológicos, biogeográficos y filogeográficos tiene enorme potencial para entender como la forma cambia en el tiempo y el espacio, durante la evolución de los organismos y en relación a factores genéticos y ambientales (Cardini *et al.*, 2010). Es bajo esta premisa que se decidió estudiar las variaciones en forma de cuerpo de *Vieja maculicauda* a lo largo de su distribución. A pesar de la poca estructura genética encontrada a nivel filogenético (McMahan *et al.*, 2017), se esperaba encontrar un patrón en los datos morfométricos con diferencias distinguibles entre las poblaciones ubicadas en sentido oeste-este. El razonamiento detrás de esta suposición se debe a que los cíclidos son conocidos por poseer plasticidad fenotípica en respuesta a condiciones cambiantes (Meyer, 1987; Wimberger, 1991; 1992; Stauffer Jr y Van Snik Gray, 2004) las cuales se asumieron presentes a lo largo del Istmo Centroamericano.

La variación en la forma de cuerpo de *Vieja maculicauda* resultó evidente desde el momento de la digitalización de especímenes y posteriormente al analizar los datos. Se esperaba un efecto alométrico, encontrado tanto en la regresión como en el análisis de componentes principales, debido a que la muestra está conformada por individuos que van de 16 a 251 mm de longitud estándar. Zelditch y sus colaboradores (2012) apuntan como el fenotipo de los organismos no es estático y que cambiará de acuerdo a la edad tanto en forma como en función. Si los organismos crecieran sin cambiar de forma se les dificultaría llevar a cabo funciones básicas como la respiración, la locomoción y la alimentación (Zelditch *et al.*, 2012).

El presente estudio viene a sumar a lo encontrado en pirañas (*Pygocentrus natterei*; Zelditch y Fink, 1995), espinosos (*Gasterosteus*

*aculatus*, Walker, 1993), róbalo (*Dicentrarchus labrax*, Loy *et al.*, 1996), bagre (*Callichthys* sp.; Reis *et al.*, 1998) y carpas (*Cyprinella venusta*; Hood y Heins, 2000). Todos estos estudios encontraron cambios alométricos en la forma a lo largo de todo el cuerpo, con un alargamiento poscraneano indicando un crecimiento más rápido en este segmento y un ensanchamiento en la zona media del cuerpo, así como cambios específicos de cada caso, particularmente en la cabeza.

Los organismos más pequeños suelen ser ecológicamente distintos a sus contrapartes adultas, ya que generalmente no enfrentan las mismas demandas funcionales (Helfman *et al.*, 2009); lo que los obliga a ser competentes mientras se enfrentan a un continuo cambio en forma y función. Para los peces juveniles, es más importante no ser depredado, por lo que deben hacer un 'trade-off', favoreciendo el desarrollo de rasgos defensivos como el escape rápido a cambio de menor eficiencia de forrajeo. Estos comportamientos defensivos están íntimamente relacionados con la forma de cuerpo (Helfman *et al.*, 2009). En *Vieja maculicauda*, por ejemplo, se puede observar como en las tallas menores, el ojo es más grande en comparación al resto del cuerpo. Esta variación en tamaño normalmente se debe a que ojos más grandes tienen mejores capacidades sensoriales (Pankhurst, 1989), y que los peces más pequeños utilizan más la vista, probablemente para detección de depredadores. La forma más hidrodinámica de los peces de menor tamaño parece indicar que es una adaptación para el escape. Los peces adultos, especialmente aquellos que logran alcanzar grandes tallas son menos susceptibles a la depredación, pudiendo valerse de un nado más pasivo, particularmente en especies herbívoras como *Vieja maculicauda* (Helfman *et al.*, 2009) y pueden dedicarse a maximizar el desempeño de forrajeo (Herrel & Gibb, 2006), lo cual se traduce, entre otras cosas, a mayor fuerza en la mordida, llevando al pez a modificaciones en el área oral (Helfman *et al.*, 2009).

## **9.2 Otros patrones en la forma del cuerpo**

El análisis de componentes principales de los residuales presenta una señal

geográfica difusa. Se puede observar como los dos ejes principales de variación en la forma del cuerpo no obedecen a la división propuesta de acuerdo a bloque geológico. En estudios donde los grupos (generalmente distintas especies) son claramente divergentes, un análisis de componentes principales es capaz de separar las distintas formas en grupos conspicuos (Elmer *et al.*, 2010), pero en estudios como el presente, donde se estudia la variabilidad en una sola especie, se encuentra mayor traslape entre los grupos propuestos, recordando que metodológicamente, en un análisis de componentes principales, no se indica *a priori* la membresía de los individuos.

La mayor variabilidad, descrita por el componente principal 1 y que explica un 24.4% obedece a patrones no geográficos. En el extremo negativo de este eje se pueden observar formas más fusiformes, con un cuerpo menos profundo. Estos patrones morfológicos pueden relacionarse con el uso del hábitat, por ejemplo, Langerhans y sus colaboradores (2003) encontraron que la forma de cuerpo alargada en el cíclido *Biotodoma wavrini* estaba más relacionada a hábitats de mayor corriente. Sin embargo, también se encontró una menor divergencia corpórea entre hábitats, cuando estos se encontraban espacialmente cercanos.

La corriente a la que están expuestos los peces, representada por el tipo de hábitat (corriente alta para la parte alta de los ríos y corriente baja para las zonas bajas y cuerpos lénticos) fue un factor que se consideró podría ser un importante predictor de forma de cuerpo. Se hipotetizaba que este factor estaría ampliamente correlacionado con la forma de cuerpo, tal como se ha encontrado en numerosos estudios ictiológicos (McGuigan *et al.*, 2003; Langerhans, 2008; Foster *et al.*, 2015). Sin embargo, a pesar que se conoce que *Vieja maculicauda* habita tanto en zonas altas como bajas de los ríos, así como ecosistemas lénticos como el Lago Izabal (Matamoros, comentario personal), la mayor parte de la muestra presente proviene de sitios de colecta cercanos al nivel del mar, por lo que no fue posible incluir este factor dentro del presente estudio. Muestreos buscando esta especie en sitios de mayor corriente son necesarios, ya que por el momento no se puede descartar que cambios moderados en la corriente estén causando la

variabilidad encontrada por el primer componente principal.

El segundo componente principal parece estar relacionado a condiciones tróficas, ya que se concentra en el área cefálica y la oral en particular. En el extremo positivo se observa una disposición en forma de flecha, con una boca más terminal, como en la mayor parte de los peces (Helfman *et al.*, 2009), mientras que en el extremo negativo la cabeza se contrae y la boca tiene una posición subterminal. Esto parece sugerir que hay individuos de *Vieja maculicauda* que se han adaptado a comer distintos alimentos, ya que a pesar de su hábito generalista, la diferenciación trófica puede darse de acuerdo a la disponibilidad de recursos o para evitar competencia intraespecífica (Swanson *et al.*, 2003), por lo que es posible encontrar distintas formas tróficas conviviendo en un solo sitio.

No se han realizado estudios específicos de variación en la dieta de *Vieja maculicauda* a lo largo de su distribución. Únicamente se le ha incluido como parte de estudio de comunidad como los realizados por Winemiller y sus colaboradores (1995) y Cochran-Biederman y Winemiller (2010). El primer estudio, realizado en Tortuguero, Costa Rica, estudió la ecomorfología trófica de adultos de *Vieja maculicauda* como parte de un estudio comparativo de comunidades de cíclidos en tres regiones del mundo. Encontraron a través de morfometría tradicional que la forma de la cabeza indica que su hábito de forrajeo es raspador y desgarrador, aunque en la muestra del presente estudio se puede observar que existe mayor variabilidad que la reportada para un solo sitio por Winemiller y sus colaboradores (1995). Los resultados reportados para las muestras de Winemiller y sus colaboradores (1995) indican una composición dietética donde predomina el detrito, las algas y a menor escala los moluscos. Cochran-Biederman y Winemiller (2010) estudiaron también la ecomorfología trófica de adultos de *Vieja maculicauda* como parte de una comunidad de cíclidos en el río Bladen en Belice, describiendo a la especie como un “generalista trófico grande con mandíbulas compactas”, que se alimenta principalmente de algas y macrófitas obtenidas mediante forrajeo de mordidas.

Ambos estudios dan un indicio de la variedad de elementos que componen la dieta de *Vieja maculicauda* en dos sitios distintos (detrito, algas, macrófitas y moluscos), y al menos en el caso de los moluscos, se conoce que pueden alterar la forma debido a su mayor consistencia (Muschick *et al.*, 2011); por lo que resulta posible que a lo largo de su distribución e incluso dentro de un mismo sitio, *Vieja maculicauda* pueda desarrollar distintas formas, adaptadas a distintas necesidades tróficas. Los estudios tróficos mencionados anteriormente se enfocaron en individuos adultos, pero las diferencias alométricas encontradas en el presente estudio, sugieren que los hábitos alimenticios en las tallas menores pueden ser diferentes o bien, muy generalistas. Desafortunadamente, no existen aún estudios de dieta de *Vieja maculicauda* a lo largo de su desarrollo ontogénico para poder relacionar cambios en dieta con cambios en forma o estudios enfocados en la especie para poder determinar si existe una tendencia hacia la especialización en tallas mayores.

Estudios de dieta de *Vieja maculicauda* a lo largo de su distribución y de sus diferentes etapas ontogénicas, son necesarios para entender la variabilidad encontrada en el presente trabajo. Ya que la composición y disponibilidad de recursos es un factor que puede provocar plasticidad fenotípica entre peces que habitan distintos tipos de hábitats (Langerhans *et al.*, 2003). En el caso de *Vieja maculicauda* es muy probable que a lo largo de su distribución se encuentre en hábitats distintos, con presiones selectivas distintas como diferentes recursos y comunidades ecológicas que afecten la disponibilidad de alimento. Estudios posteriores podrían ayudar a comprender como estos distintos factores ecológicos pueden estar afectando la forma de cuerpo de *Vieja maculicauda* a un nivel geográfico.

Ambos componentes principales presentan notables diferencias en cuanto al perfil frontal de la cabeza, incluyendo la depresión en las formas positivas del segundo componente principal, sin embargo, debido al uso limitado de "semi-landmarks" en otros estudios en comparación al presente, es posible que este tipo de variación haya pasado despercebida y necesite ser mejor estudiada. De manera muy general, se puede intuir que esta variación

también esté relacionada a funciones tróficas.

El análisis indicó que las formas corporales no cambian entre los bloques geológicos, es decir, que no existe una forma exclusiva para algún bloque. Estos resultados indican que la variabilidad en forma de cuerpo no es producto de un aislamiento poblacional geográfico, como se observó en la poca variabilidad genética en el trabajo de McMahan y colaboradores (2017). La variación en forma de cuerpo observada debe estar respondiendo a variables ecológicas locales como las tomadas por Haas y sus colaboradores (2015), quienes encontraron que las variables que mejor explicaban la forma de cuerpo en *Cyprinella venusta*, un pez cipriniforme del sureste de los Estados Unidos, eran aquellas relacionadas a la morfología de ríos: velocidad promedio de la corriente, descarga fluvial promedio y escorrentía fluvial promedio anual del río al que pertenecía cada población. El tipo de dieta consumida también puede relacionarse a la forma del cuerpo, como se discutió anteriormente y como se ha observado en cíclidos de Mesoamérica (Pease *et al.*, 2018; Soria-Barreto *et al.*, 2019).

Al no contar con variables ecológicas directas, se decidió utilizar la base de datos en línea Worldclim (Fick & Hijmans, 2017) para obtener temperatura y precipitación. Estas variables son ampliamente usadas en estudios ecológicos, particularmente para el modelado de nichos ecológicos en grupos como las plantas (Waltari *et al.*, 2014). En estudios morfométricos, se han utilizado para estudiar adaptaciones morfológicas en poblaciones de abejas a lo largo de distintos climas (*Apis florea*; Herman, 2017) y como parte de un set de variables ambientales para estudiar gradientes latitudinales en la morfometría de un pez de amplia distribución (*Gambusia holbrooki*; Riesch *et al.*, 2018). En el presente estudio, debido a su correlación directa con los datos geográficos y la poca correlación entre los datos geográficos y los morfométricos, era esperado encontrar poco poder explicativo entre los datos ecológicos y los morfométricos. Además se debe considerar como el clima afecta diferentemente los cuerpos de agua donde habitan los peces. Una de las propiedades más importantes del agua es su capacidad calorífica, es decir que requiere el ingreso de una cantidad relativamente grande de

energía para incrementar su temperatura (Dodds y Whiles, 2020), existiendo así una considerable diferencia entre los valores atmosféricos reportados por Worldclim y los valores reales del medio acuático. A pesar que existe variación en los parámetros utilizados, esta es relativamente poca, considerando que todos los sitios de colecta pertenecen a la misma región subtropical.

La correlación entre variabilidad morfométrica y variabilidad genética fue la que mejor explicó la forma, sin embargo, representa apenas un 8% y no fue significativa, probablemente como resultado de haber utilizado promedios para hacer la matriz morfométrica comparable a la genética. Langerhans (2008) encontró base genética en la divergencia fenotípica en 16 de 19 casos analizados (84%), aunque también encontró evidencia de plasticidad fenotípica en 15 de 15 estudios (100%) concluyendo que ambos factores juegan papeles fundamentales como fuente de variación fenotípica. Debido a la poca variabilidad genética encontrada por McMahan y sus colaboradores (2017), es muy probable que la plasticidad fenotípica esté jugando un papel importante en la variación en forma de cuerpo en *Vieja maculicauda*.

Variables de morfología de río y descriptores de hábitat como la profundidad, velocidad de corriente, descarga, escorrentía y vegetación, así como variación en las comunidades de peces y la composición de la dieta deberán ser colectadas *in situ* a lo largo de toda la distribución de *Vieja maculicauda* con la finalidad encontrar si estos pueden explicar correlaciones consistentes entre forma de cuerpo y hábitat. La plasticidad fenotípica en *Vieja maculicauda* podría responder directamente a cambios en corriente, con individuos espacialmente cercanos poseyendo formas distintas como producto de vivir bajo presiones (Langerhans *et al.*, 2003). Sin embargo, ésta también podría estar respondiendo a variaciones en la dieta. Para indagar en este aspecto, sería necesario realizar estudios de contenido estomacal y analizar variables tróficas que no fueron consideradas en el presente estudio, como por ejemplo las diferencias en la mandíbula faríngea, las cuales han servido para distinguir morfotipos en *Herichthys minckleyi* (Swanson *et al.*,

2003). El caso observado en *Vieja maculicauda* a lo largo de toda su distribución podría ser similar a lo observado en Cuatro Ciénagas para *H. minckleyi*, donde los distintos morfotipos aparecen esparcidos, pero genéticamente son más parecidos a los otros morfotipos con los que conviven que con individuos de su misma forma. La teoría es que al convivir varios morfotipos de la misma especie, la competencia intraespecífica se ve reducida (Swanson *et al.*, 2003). De ser este el caso en *Vieja maculicauda*, es posible que esta sea una de las causas de su amplia distribución.

Un tercer factor que valdría la pena estudiar es como las comunidades de peces varían a lo largo de la distribución de *Vieja maculicauda*, y como diferencias en su composición podrían estar relacionadas a cambios en la forma. Este factor está íntimamente relacionado con el factor alimento, pues si bien podrían existir adaptaciones a distintos tipos de depredadores, particularmente en las tallas más pequeñas (Helfman *et al.*, 2009), el mayor efecto se esperaría como producto de la competencia, y el desplazamiento de un nicho óptimo de poblaciones de *Vieja maculicauda* hacia alternativas alimentarias dentro de su hábito generalista. Cochran-Biederman y Winemiller (2010) mencionan que las composiciones de comunidades de cíclidos en América, varían de una especie a más de 20. En sitios como el río Bladen en Belice (Cochran-Biederman y Winemiller, 2010), las composiciones son relativamente sencillas (8 especies de cíclidos y un número no especificado de peces de otras familias) y las especies parecen establecerse a partir del *pool* regional, es decir que no están respondiendo a una evolución adaptativa propia del sitio. Sin embargo, en comunidades más complejas como la presentada por Winemiller y sus colaboradores (1995) para Tortuguero, Costa Rica, con 72 especies estudiadas (14 de ellas cíclidos), se puede esperar que existan efectos de interacciones ecológicas que puedan estar relacionados con el acceso a alimentos y por tanto, plasticidad fenotípica.

## X. CONCLUSIONES

- Se evidenció una variación alométrica en la forma de cuerpo de *Vieja maculicauda* a lo largo de la ontogenia. En tallas pequeñas se presenta una forma alargada lateralmente, semejante a un rombo horizontal, con una cabeza alargada lateralmente y con un perfil frontal pronunciado. A medida el pez crece, su cuerpo se comprime lateralmente y aumenta en altura, particularmente en la zona media del cuerpo, y la cabeza se vuelve más comprimida y con un perfil más convexo. Esta variación alométrica coincide con lo encontrado en otros peces, donde las formas juveniles están adaptadas a evitar la depredación y las formas adultas a optimizar el forrajeo y la reproducción.
- Las formas de cuerpo en *Vieja maculicauda* permitieron diferenciar el bloque geológico del que provienen, pero la señal geográfica es difusa, ya que la forma de cuerpo parece estar variando a magnitudes similares a lo largo de todo Istmo Centroamericano.
- La correlación entre la forma del cuerpo y la ubicación, las variables ecológicas, y genéticas obtuvieron valores explicativos bastante bajos, lo que parece indicar que la variación en forma de cuerpo encontrada pueda ser un escenario de plasticidad fenotípica en respuesta a condiciones ecológicas locales tales como la geomorfología de río, dieta u otras interacciones ecológicas.
- La variación en forma de cuerpo de *Vieja maculicauda* coincide con la variación genética, al presentar una mayor diferenciación entre los individuos a ambos lados de la Falla del Motagua. Considerando que la variación genética encontrada en un estudio previo es menor a la variación en forma de cuerpo, existe una alta probabilidad de que esta se deba a un efecto de plasticidad fenotípica.

## XI. RECOMENDACIONES

- *Vieja maculicauda* es un pez cuyo estudio es de relevancia biogeográfica, para poder entender la historia evolutiva de la ictiofauna de agua dulce de Centroamérica y puede arrojar pistas para un mejor entendimiento en general de los procesos ocurridos durante el Gran Intercambio Biótico Americano. Entender que factores ecológicos y evolutivos hicieron que esta especie, a diferencia de los demás cíclidos centroamericanos, lograra esparcirse por un área de distribución tan grande y en aparente flujo génico continuo y que factores marcan los extremos de su distribución puede servir como un aproximado para entender las barreras que han evitado más amplias distribuciones en otras especies y los patrones en general, seguidos por la ictiofauna norteamericana en su ruta hacia el sur.
- Las diferencias en forma de cuerpo en esta especie tienen todavía un campo abierto para poder ser explicadas. El presente trabajo ha utilizado los datos y los especímenes disponibles, se recomienda incluir más especímenes de las zonas más altas, así como datos que caractericen la variedad ecológica de cada hábitat, como por ejemplo datos de caudal y corriente, estudios de variación en la dieta y de composición de comunidades.
- La correlación entre datos morfométricos y genéticos, debe incluir información genética y morfométrica de cada individuo, para evitar utilizar promedios.
- Llevar a cabo estudios sobre las etapas de vida de esta especie, para así tener un aproximado de la talla de maduración y analizar los datos morfológicos en cada etapa por separado.

- La plasticidad fenotípica es un fenómeno conocido y bastante estudiado entre los peces cíclidos. Sin embargo, para poder constatar este efecto, es necesario llevar a cabo trabajos experimentales donde se someta a individuos de una misma camada a condiciones divergentes en pruebas de laboratorio.

## XII. LITERATURA CITADA

Adams DC, Rohlf FJ, Slice DE. 2013. A field comes of age: geometric morphometrics in the 21st century. *Hystrix* 24 (1): 7-14

Adams, D. C., M. L. Collyer, Kaliontzopoulou A. 2018. Geomorph: Software for geometric morphometric analyses. R package version 3.0.6. <https://cran.r-project.org/package=geomorph>.

Aguirre-Macedo ML, Scholz T. 2005. *Culuwiya cichlidorum* N. Sp. (Digenea: Haploporidae) from the black-belt cichlid *Vieja maculicauda* (Pisces: Cichlidae) from Nicaragua. *Journal of Parasitology* 91(6): 1379-1384

Avice JC. 2000. Phylogeography: The History and Formation of Species. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts

Avice JC, Arnold J, Ball RM, Bermingham E, Lamb T, Neigel JE, Reeb CA, Saunders NC. 1987. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 18: 489-522

Bagley JC, Johnson JB. 2014. Phylogeography and biogeography of the lower Central American Neotropics: diversification between two continents and between two seas. *Biological Reviews* 89: 767-790

Barluenga M, Stölting KN, Salzburger W, Muschick M, Meyer A. 2006. Sympatric speciation in Nicaraguan crater lake cichlid fish. *Nature* 439 (9): 719-723

Bermingham E, Martin P. 1998. Comparative mtDNA phylogeography of neotropical freshwater fishes: testing shared history to infer the evolutionary landscape of lower Central America. *Molecular Ecology* 7: 499-517

Bookstein, FL. 1989. Size and shape: A comment on semantics. *Systematic Zoology*, 38: 173-190.

Bookstein FL. 1991. Morphometric tools for landmark data: Geometry and Biology. Cambridge University Press, New York

Bookstein FL. 1997. Landmark methods for forms without landmarks: morphometrics of group differences in outline shape. *Medical Image Analysis* 1(3): 225-243

Bookstein FL, Streissguth AP, Sampson PD, Connor PD, Barr HM. 2002. Corpus Callosum shape and neuropsychological deficits in adult males with heavy fetal alcohol exposure. *NeuroImage* 15:233-251

Bradshaw AD. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics* 13: 115-155

Brown JH. 2003. Macroecología. Fondo de Cultura Económica, México

Burkhardt B. 1994. Northern Central America. En: Donovan S, Jackson T (Editores). Caribbean Geology: An Introduction University of the West Indies Publisher's Association p: 265-284

Bussing WA. 1976. Geographic distribution of the San Juan ichthyofauna of Central America with remarks on its origin and ecology. En: Thorson TB (editor). The Great American Biotic Interchange. Plenum Press, NY pp153-173

Bussing WA. 1998. Freshwater fishes of Costa Rica. Editorial de la Universidad de Costa Rica.

Cardini A, Diniz-Filho JAF, Polly PD, Elton S. 2010. Biogeographic analysis using Geometric Morphometrics: Clines in Skull Size and Shape in a Widespread African Arboreal Monkey. En Elewa AMT (Editor). Morphometrics for Nonmorphometricians. Springer-Verlag, Berlin

Coates AG, Obando JA. 1996. The geologic evolution of the Central American Isthmus. En: Jackson JBC, Budd AF, Coates AG (editores). Evolution and environment in tropical America. University of Chicago Press, p. 21-56

Cochran-Biederman JL, Winemiller KO. 2010. Relationships among habitat, ecomorphology and diets of cichlids in the Bladen River, Belize. *Environmental Biology of Fishes* 88(2): 143-152

Collyer M, Adams D 2018. RRPP: Linear Model Evaluation with Randomized Residuals in a Permutation Procedure. R package version 0.3.0. <https://CRAN.R-project.org/package=RRPP>

Díaz-Murillo BP, Ruiz-Campos G, Piller KR, McMahan CD, García-De-León FJ, Camarena-Rosales F. 2017. Assessing population-level morphometric variation of the Mountain Mullet *Agonostomus monticola* (Teleostei: Mugilidae) across its Middle American distribution. *Neotropical Ichthyology* 15(4): e170036

Diniz-Filho JAF, Soares TN, Lima JS, Dobrovolski R, Landeiro VL, de Campos Telles MP, Rangel TF, Bini LM. 2013. Mantel test in population genetics. *Genetics and Molecular Biology* 36(4): 475-485

Dodds WK, Whiles MR. 2020. Freshwater Ecology: Concepts and Environmental Applications of Limnology. Elsevier Academic Press, Londres, Reino Unido.

Donnelly TW, Horne GS, Finch RC, López-Ramos E. 1990. Northern Central America. The Maya and Chortis Blocks. En: Dengo G(Editor) The Geology of North America: The Caribbean Region. Geological Society of America p: 37-76

Dryden IL (2018). shapes: Statistical Shape Analysis. R package version 1.24 <https://CRAN.R-project.org/package=shapes>

Elmer KR, Kusche H, Lehtonen TK, Meyer A. 2010. Local variation and parallel evolution: morphological and genetic diversity across a species complex of neotropical crater lake cichlid fishes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 365:1763-1782

Fernández-Yepez A. 1969. Contribución al conocimiento de los cíclidos. *Evencias* 22(7): 1-10

Fick SE, Hijmans RJ. 2017. WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 37: 4302-4315

Fishnet2 Portal. fishnet2.net. Consultado en enero de 2018

Foster K, Bower L, Piller K. 2015. Getting in shape: habitat-based morphological divergence for two sympatric fishes. *Biological Journal of the Linnean Society* 114:152-162

Fricke R, Eschmeyer WN, van der Laan R (editores). 2019. Eschmeyer's Catalogue of Fishes: Genera, Species, References. Accedido electrónicamente abril 2019

Giunta G, Beccaluva L, Siena F. 2006. Caribbean Plate margin evolution: Constraints and current problems. *Geologica Acta* 4: 158-162

Greenfield DW, Thomerson JE. 1997. Fishes of the Continental Waters of Belize. University Press of Florida

Haas TC, Heins DC, Blum MJ. 2015. Predictors of body shape among populations of a stream fish (*Cyprinella venusta*, Cypriniformes: Cyprinidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 115: 842-858

Helfman GS, Collette BB, Facey DE, Bowen BW. 2009. The Diversity of Fishes Second Edition. John Wiley & Sons LTD, RU

Herman JJ. 2017. Morphometrics of the dwarf honey bee *Apis florea* show biogeographic differentiation across India. Tesis de Maestría. The University of Texas at Austin, Estados Unidos

Herrel A, Gibb AC. 2006. Ontogeny of performance in vertebrates. *Invited Perspectives in Physiological and Biochemical Zoology* 79(1): 1-6

Hijmans RJ. 2019. raster: Geographic Data Analysis and Modeling. R package version 2.9-23. <https://CRAN.R-project.org/package=raster>

Hood CS, Heins DC. 2000. Ontogeny and allometry of body shape in the blacktail shiner *Cyprinella venusta*. *Copeia* 2000: 270-275

Hulsey CD, López-Fernández H. 2011. Nuclear Central America. En: Albert JS, Reis RE (editors). Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes. University of California pp. 279-291

Jones JC, Fruciano C, Keller A, Schartl M, Meyer A. 2016. Evolution of the elaborate male intromittent organ of *Xiphophorus* fishes. *Ecology and Evolution* 6(20): 7207-7220

Kassam DD, Adams DC, Hori M, Yamaoka K. 2003. Morphometric analysis on ecomorphologically equivalent cichlid species from Lake Malawi and Tanganyika. *Journal of Zoology*. 260: 153-157

Kendall, DG. 1977. The diffusion of shape. *Advances in Applied Probability*, 9: 428-430

Keppie JD. 2004. Terranes of Mexico revisited: A 1.3 billion year odyssey. *International Geology Review* 46: 473-491

Kerschbaumer M, Sturmbauer C. 2011. The Utility of Geometric Morphometrics to Elucidate Pathways of Cichlid Fish Evolution. *International Journal of Evolutionary Biology*: 1-8

Klingenberg CP, Barluenga M, Meyer A. 2003. Body shape variation in cichlid fishes of the *Amphilophus citrinellus* species complex. *Biological Journal of the Linnean Society* 80: 397-408

Klingenberg CP. 2016. Size, shape and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Development Genes and Evolution* 226: 113-137

Koblmüller S, Albertson RC, Genner MJ, Sefc KM, Takahashi T. 2017. Preface: Advances in cichlid research II: behavior, ecology and evolutionary biology. *Hydrobiologia* 791: 1-6

Langerhans RB. 2008. Predictability of phenotypic differentiation across flow regimes in fishes. *Integrative and Comparative Biology* 48: 750-768

Langerhans RB, Layman CA, Langerhans AK, Dewitt TJ. 2003. Habitat-associated morphological divergence in two Neotropical fish species. *Journal of the Linnean Society* 80: 689-698

Lomolino MV, Riddle BR, Brown JH. 1998. Biogeography Third Edition. Sinauer Associates

Loy A, Cataudella S, Corti M. 1996. Shape changes during the growth of the sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Teleostei: Perciformes), in relation to different rearing conditions. En: Marcus LF, Corti M, Loy A, Naylor GJP, Slice DE (editores). NATO ASI Series Vol. 284. Plenum Press, Nueva York

Maderbacher M, Bauer C, Herler J, Postl L, Makasa L, Sturmbauer C. 2008. Assessment of traditional versus geometric morphometrics for discriminating populations of the *Tropheus moorii* species complex (Teleostei: Cichlidae), a Lake Tanganyika model for allopatric speciation. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 46(2): 153-161

Malato G, Shervette VR, Navarrete Amaya R, Valdiviezo Rivera J, Nugra Salarazar F, Calle Delgado P, Karpan KC, Aguirre WE. 2017. Parallel body shape divergence in the Neotropical fish genus *Rhoadsia* (Teleostei: Characidae) along elevational gradients of the western slopes of the Ecuadorian Andes. *PLoS ONE* 12(6): e0179432

Mantel N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res* 27: 209-220

Martens U, Solari LA, Sisson V, Harlow GE. 2007. High-Pressure belts of central Guatemala: the Motagua suture and the Chuacús complex. 2007 Field Workshop of IGCP 546 “ Subduction Zones of the Caribbean

Martínez JJ, Di Cola V. 2011. Geographic distribution and phenetic skull variation in two close species of *Graomys* (Rodentia, Cricetidae, Sigmodontinae). *Zoologischer Anzeiger* 250: 175-194

Martin AP, Bermingham E. 2000. Regional endemism and cryptic species revealed by molecular and morphological analysis of a widespread species of Neotropical catfish. *Proceedings of the Royal Society of London B* 267: 1135-1141

Matamoros WA, Kreiser BR, Schaefer JF. 2012. A delineation of Nuclear Middle America biogeographical provinces based on river basin faunistic similarities. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 22:351-365

Matamoros WA, McMahan CD, Chakrabarty P, Albert JS, Schaefer JF. 2014. Derivation of the freshwater fish fauna of Central America revisited: Myer's hypothesis in the twenty-first century. *Cladistics* 31(2): 1-12

McGuigan K, Franklin CE, Moritz C, Blows MW. 2003. Adaptation of rainbow fish to lake and stream habitats. *Evolution* 57: 104-118

McMahan CD, Davis MP, Domínguez-Domínguez O, García-de-León FJ, Doadrio I, Piller KR. 2013. From the mountains to the sea: phylogeography and cryptic diversity within the mountain mullet, *Agonostomus monticola* (Teleostei: Mugilidae). *Journal of Biogeography* 40: 894-904

McMahan CD., Ginger L, Cage M, David KT, Chakrabarty P, Johnston M, Matamoros WA. 2017. Pleistocene to Holocene Expansion of the Black-Belt Cichlid in Central America, *Vieja Maculicauda* (Teleostei: Cichlidae). *PLOS ONE* 12 (5): e0178439.

Meyer A. 1987. Phenotypic plasticity and heterochrony in *Cichlasoma managuense* (Pisces, Cichlidae) and their implications for speciation in cichlid fishes. *Evolution* 41(6): 1357-1369

Monteiro LR. 1999. Multivariate regression models and Geometric Morphometrics: The search for causal factors in the analysis of shape. *Systematic Biology*. 48(1): 192-199

Muschick M, Barluenga M, Salzburger W, Meyer A. 2011. Adaptive phenotypic plasticity in the Midas cichlid fish pharyngeal jaw and its relevance in adaptive radiation. *BMC Evolutionary Biology* 2011 11:116

Myers GS. 1966. Derivation of the freshwater fish fauna of Central America. *Copeia* 4: 766-773

Nelson JS, Grande TC, Wilson MVH. 2016. *Fishes of the World* Fifth Edition. John Wiley & Sons, New Jersey

Nogueira MR, Monteiro LR, Peracchi AL, de Araujo AFB. 2005. Ecomorphological analysis of the masticatory apparatus in the seed-eating bats, genus *Chiroderma* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Journal of Zoology* 266: 355-364

O'Dea A, Lessios HA, Coates AG, Eytan RI, Restrepo-Moreno SA, Cione AL, Collins LS, de Queiroz A, Farris DW, Norris RD, Stallard RF, Woodburne MO, Aguilera O, Aubry MP, Berggren WA, Budd AF, Cozzuol MA, Coppard SE, Duque-Caro H, Finnegan S, Gasparini GM, Grossman EL, Johnson KG, Keigwin LD, Knowlton N, Leigh EG, Leonard-Pingel JS, Marko PB, Pyenson ND, Rachello-Dolmen PG, Soibelzon E, Soibelzon L, Todd JA, Vermeij GJ, Jackson JBC. 2016. Formation of the Isthmus of Panama. *Science Advances* 2: e1600883

Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlinn D, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Henry M, Stevens H, Szoecs E, Wagner H. 2019. vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-4 . <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>

Ornelas-García CP, Domínguez-Domínguez O, Doadrio I. 2008. Evolutionary history of the fish genus *Astyanax* Baird & Girard (1854) (Actinopterygii, Characidae) in Mesoamerica reveals multiple morphological homoplasies. *BMC Evolutionary Biology* 8:340

Pankhurst NW. 1989. The relationship of ocular morphology to feeding modes and activity periods in shallow marine teleosts. *Environmental Biology of Fishes* 26: 201-211

Parsons KJ, Robinson BW, Hrbek T. 2003. Getting into shape: An empirical comparison of traditional truss-based morphometric methods with a newer geometric method applied to New World cichlids. *Environmental Biology of Fishes* 67: 417-431

Pease AA, Mendoza-Carranza M, Winemiller KO. 2018. Feeding ecology and ecomorphology of cichlid assemblages in a large Mesoamerican river delta. *Environmental Biology of Fishes*, 101(6), 867–879. doi:10.1007/s10641-018-0743-

Perdices A, Bermingham E, Montilla A, Doadrio I. 2002. Evolutionary history of the genus *Rhamdia* (Teleostei: Pimelodidae) in Central America. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 25: 172-189

Perdices A, Doadrio I, Bermingham E. 2005. Evolutionary history of the synbranchid eels (Teleostei: Synbranchidae) in Central America and the Caribbean islands inferred from their molecular phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37: 460-473

Pérez SI, Bernal V, Gonzalez PN. 2006. Differences between sliding semi-landmark methods in geometric morphometrics, with an application to human craniofacial and dental variation. *Journal of Anatomy* 208(6): 769-784

R Core Team. 2019. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria URL <https://www.R-project.org/>

Reeves RG, Bermingham E. 2006. Colonization, population expansion and lineage turnover: phylogeography of Mesoamerican characiform fish. *Biological Journal of the Linnean Society* 88(2): 235-255

Reid WV, Miller KR. 1989. Keeping Options Alive: the Scientific Basis for Conserving Biodiversity. World Resources Institute, Washington

Reis RE, Zelditch ML, Fink WL. 1998. Ontogenetic allometry of body shape in the Neotropical catfish *Callichthys* (Teleostei: Siluriformes). *Copeia* 1998: 177-182

Reyment RA. 1996. An idiosyncratic history of early morphometrics. En: Marcus LF, Corti M, Loy A, Naylor GJP, Slice DE (editores). *Advances in Morphometrics*. Plenum Press, New York, pp. 15-22

Riesch R, Martin RA, Diamond SE, Jourdan J, Plath M, Langerhans RB. 2018. Thermal regime drives a latitudinal gradient in morphology and life history in a livebearing fish. *Biological Journal of the Linnean Society* 125: 126-141

Říčan O, Piálek L, Dragová K, Novák J. 2016. Diversity and evolution of the Middle American cichlid fishes (Teleostei: Cichlidae) with revised classification. *Vertebrate Zoology* 66(1): 1-102

Roche DG, Leung B, Mendoza Franco EF, Torchin ME. 2010. Higher parasite richness, abundance and impact in native versus introduced cichlid fishes. *International Journal for Parasitology* 40(13): 1525-1530

Rogers RD, Mann P, Emmet PA. 2007. Tectonic terranes of the Chortis Block based on integration of regional aeromagnetic and geologic data. En: Mann P (Editor). Geologic and Tectonic development of the Caribbean Plate Boundary in Northern Central America. Geological Society of America p: 65-88

Rohlf FJ. 2009. tpsUtil: tps file utility program, ver 1.45. Stony Brook: Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. Disponible en : <http://life.bio.sunysb.edu/morph/soft-utility.html>

Rohlf FJ. 2010. tpsDig: Digitize Landmarks and Outlines from Image Files, Scanner or Video, Ver 2.15. Stony Brook: Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. Disponible en : <http://life.bio.sunysb.edu/morph/soft-utility.html>

Rüber L, Adams DC. 2001. Evolutionary convergence of body shape and trophic morphology in cichlids from Lake Tanganyika. *Journal of Evolutionary Biology* 14: 325-332

Salgado-Maldonado G. 2008. Helminth parasites of freshwater fish from Central America. *Zootaxa* 1915: 29-53

Schlager S (2017). "Morpho and Rvcg - Shape Analysis in R." In Zheng G, Li S, Szekely G (eds.), *\_Statistical Shape and Deformation Analysis\_*, 217-256. Academic Press.

Sheets HD. 2010. MakeFan 1: Buffalo, USA Department of Physics, Canisius College disponible en [www3.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html](http://www3.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html)

Smith SA, Bermingham E. 2005. The biogeography of lower Mesoamerican freshwater fishes. *Journal of Biogeography* 32:1835-1854

Soria-Barreto M, Rodiles-Hernández R, Winemiller KO. 2019. Trophic ecomorphology of cichlid fishes of Selva Lacandona, Usumacinta, Mexico. *Environmental Biology of Fishes* (2019) 102: 985. <https://doi.org/10.1007/s10641-019-00884-5>

Stauffer Jr JR, Van Snik Gray E. 2004. Phenotypic plasticity: its role in trophic radiation and explosive speciation in cichlids (Teleostei: Cichlidae). *Animal Biology* 54(2): 137-158

Swanson BO, Gibb AC, Marks JC, Hendrickson DA. 2003. Trophic polymorphism and behavioral differences decrease intraspecific competition in a cichlid, *Herichthys minckleyi*. *Ecology* 84(6): 1441-1446

Tada S, Hori M, Yamaoka K, Hata H. 2016. Diversification of functional morphology in herbivorous cichlids (Perciformes: Cichlidae) of the tribe Tropheini in Lake Tanganyika. *Hydrobiologia* 1-19

Toro Ibacache MV, Manríquez Soto G, Suazo Galdames I. 2010. Morfometría geométrica y el estudio de las formas biológicas: de la morfología descriptiva a la morfología cuantitativa. *International Journal of Morphology* 28(4): 977-990

Udvardy MDF. 1975. A classification of the biogeographical provinces of the world. *IUCN Occasional paper* 18

Walker JA. 1993. Ontogenetic allometry of three-spine stickleback body form using landmark based morphometrics. En: Marcus LF, Bello E, García-Valdecasas A. (editores). Monografía del Museo Nacional de Ciencias Naturales 8, Madrid, España

Waltari E, Schroeder R, McDonald K, Anderson RP, Carnaval A. 2014. Bioclimatic variables derived from remote sensing: assessment and application for species distribution modeling. *Methods in Ecology and Evolution* 5: 1033-1042

Wanek KA, Sturmbauer C. 2015. Form, function and phylogeny: comparative morphometrics of Lake Tanganyika's cichlid tribe Tropheini. *Zoologia Scripta* 44(4): 362-373

Wimberger PH. 1991. Plasticity of jaw and skull morphology in the neotropical cichlids *Geophagus brasiliensis* and *G. steindachneri*. *Evolution* 45 (7): 1545-1563

Wimberger PH. 1992. Plasticity of fish body shape. The effects of diet, development, family and age in two species of *Geophagus*. (Pisces, Cichlidae *Biological Journal of the Linnean Society* 45: 197-218

Winemiller KO, Kelso-Winemiller LC, Brenkert AL. 1995. Ecomorphological diversification and convergence in fluvial cichlid fishes. *Environmental Biology of Fishes* 44: 235-261

Witte F, Barel CDN, Hoogerhoud RJC. 1990. Phenotypic plasticity of anatomical structures and its ecomorphological significance. *Netherlands Journal of Zoology* 40 (1-2): 278-298

Zelditch ML, Fink WL. 1995. Allometry and developmental integration of body growth in a piranha, *Pygocentrus natterei* (Teleostei: Ostariophysi). *Journal of Morphology* 223: 341-355

Zelditch ML, Swiderski DL, Sheets HD. 2012. Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer Second Edition. Elsevier Academic Press, New York.

### XIII. ANEXOS

#### 13.1 Lotes de colecciones museográficas utilizados

<b>Código</b>	<b>Institución</b>	<b>País de colecta</b>	<b>Año de Colecta</b>	<b>Individuos en el estudio</b>
<b>FMNH-5537</b>	Field Museum of Natural History	Guatemala		2
<b>FMNH-8091</b>	Field Museum of Natural History	Panamá	1911	4
<b>FMNH-8095</b>	Field Museum of Natural History	Panamá	1912	12
<b>FMNH-8096</b>	Field Museum of Natural History	Panamá	1911	19
<b>FMNH-8568</b>	Field Museum of Natural History	Panamá	1911	22
<b>FMNH-29115</b>	Field Museum of Natural History	Panamá	1911	2
<b>FMNH-29117</b>	Field Museum of Natural History	Panamá	1911	1
<b>FMNH-29118</b>	Field Museum of Natural History	Panamá	1912	1
<b>FMNH-29119</b>	Field Museum of Natural History	Panamá	1911	20
<b>FMNH-29152</b>	Field Museum of Natural History	Panamá	1912	10
<b>FMNH-36951</b>	Field Museum of Natural History	Panamá	1935	1
<b>FMNH-36952</b>	Field Museum of Natural History	Panamá	1935	2
<b>FMNH-36955</b>	Field Museum of Natural History	Panamá	1937	2
<b>FMNH-55275</b>	Field Museum of Natural History	Panamá	1911	1

	History			
<b>FMNH-82057</b>	Field Museum of Natural History	Belice	1976	1
<b>FMNH-82071</b>	Field Museum of Natural History	Belice	1976	1
<b>FMNH-83107</b>	Field Museum of Natural History	Belice	1971	3
<b>FMNH-83134</b>	Field Museum of Natural History	Belice	1971	9
<b>FMNH-84973</b>	Field Museum of Natural History	Honduras	1975	5
<b>FMNH-84990</b>	Field Museum of Natural History	Honduras	1975	5
<b>FMNH-97729</b>	Field Museum of Natural History	Belice	1971	13
<b>FMNH-127884</b>	Field Museum of Natural History	Guatemala	2004	4
<b>FMNH-127885</b>	Field Museum of Natural History	Guatemala	2004	11
<b>FMNH-127886</b>	Field Museum of Natural History	Guatemala	2004	11
<b>FMNH-127887</b>	Field Museum of Natural History	Guatemala	2004	7
<b>FMNH-127888</b>	Field Museum of Natural History	Guatemala	2004	1
<b>FMNH-127889</b>	Field Museum of Natural History	Guatemala	2004	8
<b>FMNH-127890</b>	Field Museum of Natural History	Guatemala	2004	9
<b>FMNH-127891</b>	Field Museum of Natural History	Guatemala	2004	18
<b>FMNH-127892</b>	Field Museum of Natural History	Guatemala	2004	21

<b>FMNH-129603</b>	Field Museum of Natural History	Guatemala	2015	4
<b>FMNH-130871</b>	Field Museum of Natural History	Guatemala		2
<b>FMNH-134419</b>	Field Museum of Natural History	Guatemala		1
<b>LSUMZ-14423</b>	Louisiana State University	Honduras	2010	8
<b>LSUMZ-14455</b>	Louisiana State University	Honduras	2010	3
<b>LSUMZ-14491</b>	Louisiana State University	Honduras	2010	4
<b>LSUMZ-14921</b>	Louisiana State University	Honduras	2010	1
<b>LSUMZ-14945</b>	Louisiana State University	Honduras	2010	1
<b>LSUMZ-14966</b>	Louisiana State University	Honduras	2010	1
<b>LSUMZ-15015</b>	Louisiana State University	Honduras	2010	2
<b>LSUMZ-15303</b>	Louisiana State University	Nicaragua	2011	6
<b>LSUMZ-15317</b>	Louisiana State University	Nicaragua	2011	5
<b>LSUMZ-15340</b>	Louisiana State University	Nicaragua	2011	3
<b>LSUMZ-15351</b>	Louisiana State University	Nicaragua	2011	3
<b>LSUMZ-15425</b>	Louisiana State University	Nicaragua	2011	1
<b>LSUMZ-15444</b>	Louisiana State University	Nicaragua	2011	1
<b>LSUMZ-15630</b>	Louisiana State University	Honduras	2011	3
<b>LSUMZ-15667</b>	Louisiana State University	Honduras	2011	2
<b>LSUMZ-16002</b>	Louisiana State University	Honduras	2012	1
<b>LSUMZ-16003</b>	Louisiana State University	Honduras	2012	2
<b>LSUMZ-16011</b>	Louisiana State University	Honduras	2012	1
<b>LSUMZ-16016</b>	Louisiana State University	Honduras	2012	1
<b>LSUMZ-</b>	Louisiana State University	Honduras	2012	3

<b>16028</b>	University			
<b>LSUMZ-16036</b>	Louisiana State University	Honduras	2012	3
<b>LSUMZ-16184</b>	Louisiana State University	Honduras		3
<b>LSUMZ-17181</b>	Louisiana State University	Honduras	2012	1
<b>LSUMZ-17185</b>	Louisiana State University	Honduras	2012	1
<b>LSUMZ-17283</b>	Louisiana State University	Honduras	2012	1
<b>LSUMZ-17291</b>	Louisiana State University	Honduras	2012	4
<b>LSUMZ-17292</b>	Louisiana State University	Honduras	2012	3
<b>LSUMZ-17300</b>	Louisiana State University	Honduras	2012	1
<b>ROM-84144</b>	Royal Ontario Museum	Costa Rica	2004	2
<b>ROM-84352</b>	Royal Ontario Museum	Costa Rica	2004	1
<b>ROM-87616</b>	Royal Ontario Museum	Costa Rica	1996	1
<b>ROM-87618</b>	Royal Ontario Museum	Costa Rica	1996	1
<b>ROM-87619</b>	Royal Ontario Museum	Costa Rica	1996	3
<b>ROM-87625</b>	Royal Ontario Museum	Costa Rica	1996	1
<b>ROM-87627</b>	Royal Ontario Museum	Costa Rica	1996	1
<b>ROM-87646</b>	Royal Ontario Museum	Costa Rica	1996	1
<b>ROM-87647</b>	Royal Ontario Museum	Costa Rica	1996	2
<b>ROM-87729</b>	Royal Ontario Museum	Costa Rica	1996	5
<b>UCR-804</b>	Universidad de Costa Rica	Costa Rica	1974	804
<b>UCR-1083</b>	Universidad de Costa Rica	Costa Rica		1083
<b>UCR-1067-3</b>	Universidad de Costa Rica	Costa Rica	1977	1067-3
<b>UCR-2841-6</b>	Universidad de Costa Rica	Costa Rica	2005	2841-6
<b>UCR-2858-3</b>	Universidad de Costa Rica	Costa Rica	2004	2858-3
<b>UCR-443-2</b>	Universidad de	Costa Rica	1970	443-2

	Costa Rica			
<b>UCR-457-6</b>	Universidad de Costa Rica	Nicaragua	1971	457-6
<b>UCR-457-8</b>	Universidad de Costa Rica	Nicaragua	1971	457-8
<b>UCR-605-2</b>	Universidad de Costa Rica	Costa Rica		605-2
<b>UCR-990-5</b>	Universidad de Costa Rica	Costa Rica	1976	990-5
<b>UCR-991-2</b>	Universidad de Costa Rica	Costa Rica	1976	991-2
<b>UCR-998-3</b>	Universidad de Costa Rica	Costa Rica	1976	998-3
<b>UMMZ-180667</b>	University of Michigan	Costa Rica	1962	4
<b>UMMZ-188312</b>	University of Michigan	Nicaragua	1948	2
<b>UMMZ-195944</b>	University of Michigan	Belize	1971	1
<b>UMMZ-196949</b>	University of Michigan	Nicaragua	1935	2
<b>USM-31767</b>	University of Southern Mississippi	Honduras	2006	3
<b>USM-31885</b>	University of Southern Mississippi	Honduras	2006	2
<b>USM-31901</b>	University of Southern Mississippi	Honduras	2006	6
<b>USM-34086</b>	University of Southern Mississippi	Honduras	2007	2
<b>USM-35975</b>	University of Southern Mississippi	Honduras	2009	2
<b>USM-43121</b>	University of Southern Mississippi	Honduras	2010	2
<b>USM-43284</b>	University of Southern Mississippi	Honduras	2010	1
<b>USM-43313</b>	University of Southern Mississippi	Honduras	2010	2
<b>USM-43317</b>	University of Southern Mississippi	Honduras	2010	10

<b>USM-43359</b>	University of Southern Mississippi	Honduras	2010	4
<b>USM-43365</b>	University of Southern Mississippi	Honduras	2010	1
<b>USM-43383</b>	University of Southern Mississippi	Honduras	2010	6
<b>USM-44165</b>	University of Southern Mississippi	Honduras	2011	2
<b>USM-44187</b>	University of Southern Mississippi	Honduras	2011	1
<b>USM-44213</b>	University of Southern Mississippi	Honduras	2011	3
<b>USM-44925</b>	University of Southern Mississippi	Honduras	2011	3
<b>USM-44937</b>	University of Southern Mississippi	Honduras	2011	6