

Análisis morfométrico de cuatro especies simpátricas del género *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae)

Maribet Gamboa* y Jazzmín Arrivillaga

Universidad Simón Bolívar, Departamento de Estudios Ambientales, Laboratorio de Genética de Poblaciones, Valle de Sartenejas, Caracas, Venezuela.

* Autor responsable de la correspondencia: maribetg@gmail.com

Recibido: 30/4/09

Aceptado: 23/2/10

ABSTRACT

Morphometric analysis of four sympatric species of the genus *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae)

Four sympatric species of stoneflies were evaluated (*A. chorrera*, *A. tachira*, *A. cacute*, and *A. paleta*) with morphometric analysis to estimate their differentiation through changes in shape. Results indicated no significant variance in form, showing morphological homogeneity explained by phenotypic integration resulting from the ecological similarity. Additional studies with non-traditional tools may help to delimit these species.

Key words: Phenotypic integration, morphometrics, stoneflies, Venezuela.

RESUMEN

Análisis morfométrico de cuatro especies simpátricas del género *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae)

Se evaluaron cuatro especies simpátricas de plecópteros (*A. chorrera*, *A. tachira*, *A. cacute* y *A. paleta*) con análisis morfométricos para estimar su diferenciación mediante cambios de forma. Los resultados indican no significativa varianza en la forma, mostrándose homogeneidad morfológica explicada por integración fenotípica derivada de la similaridad ecológica. Estudios adicionales con herramientas no tradicionales, podrían ayudar a delimitar estas especies.

Palabras clave: Integración fenotípica, morfometría, Plecoptera, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

Las características morfológicas y ecológicas que definen a un individuo pueden ser correlacionadas dado el resultado de las presiones selectivas y las adaptaciones fenotipo, genotipo y ambiente. La morfología determina muchas características ecológicas, tal como la alimentación o el rendimiento del aparato locomotor (Losos, 1990; Wainwright, 1994; Smith & Van Buskirk, 1995). Mientras, que los factores ecológicos pueden inducir cambios fenotípicos (Travis, 1994; Smith & Van Buskirk, 1995) y conducir a la diferenciación,

divergencia y evolución adaptativa de los rasgos morfológicos (Losos, 1990; Schluter & McPhail, 1992; Snorrason *et al.*, 1994; Westneat, 1995).

Esta relación ecomorfológica (Motta & Kotrschal, 1992) a menudo puede inferirse a través de la forma y el tamaño de los organismos, utilizando herramientas morfométricas (Ricklefs & Miles, 1994). El tamaño del cuerpo es uno de los caracteres fenotípicos utilizados con implicaciones en la historia de vida (ecología y biogeografía), fisiología, capacidad biológica (fitness), uso del recurso, relaciones presa-predador y comportamiento (Atkinson, 1994). Sheldon (1968) sugiere

que la variación del tamaño entre los individuos de una especie o entre especies relacionadas, modula la competencia intra e interespecífica y una repartición del recurso más eficiente.

La aplicabilidad de herramientas morfométricas en el estudio de insectos, se ha basado en la evaluación métrica de las partes duras del exoesqueleto, las cuales no presentan cambios de forma (Tierno de Figueroa & Sánchez-Ortega, 2004).

En el caso de Plecoptera, específicamente en individuos del género *Anacroneuria*, con un total de aproximadamente 300 especies descritas hasta el momento (Stewart & Stark, 2002), la identificación ha estado basada en la genitalia del adulto (Stark, 1999), con algunas asociaciones entre ninfas, al igual que el resto de géneros descritos para el orden. Sin embargo, la existencia de una baja variabilidad morfológica presente en los adultos de distintas especies, se ha propuesto la existencia de especies hermanas (Stark, 1998) y complejo de especies (Stark & Sivec, 1998; Stark & Zúñiga, 2002). Por lo que se hace necesaria la búsqueda de caracteres adicionales, para lograr la mejor identificación, delimitación y validación entre las especies ya sean en estado adulto como en estados inmaduros.

Existen estudios biométricos para los plecópteros, los cuales han sido realizados en estados inmaduros (náyades) para estudios del ciclo de vida, en donde la varianza de tamaño mediante medidas corporales por el crecimiento, permite determinar estadios de vida (Zwick, 1991; Beer-Stillier & Zwick, 1995; Froehlich, 1999; Tierno de Figueroa & López-Rodríguez, 2005).

Sin embargo, la morfometría tradicional bajo los enfoques convencionales, no considera la información de las relaciones entre las variables medidas, por lo que no permite hacer estimaciones propias de la forma y cambios conformacionales (Rohlf, 2002), lo que hace necesario incorporar herramientas y enfoques de la morfometría geométrica.

La morfometría geométrica señala que la forma es una función de las posiciones relativas de los hitos morfológicos. Matemáticamente, la forma consiste en las propiedades de las coordenadas del hito que son invariantes a los efectos de tamaño, traslación y rotación del objeto (Books-

tein, 1996) y estos hitos o puntos deben indicar la ubicación de la misma característica anatómica en diferentes especímenes, así, las estructuras deben ser homólogas (Bookstein, 1994).

En insectos, existen varios autores que utilizan esta herramienta para la identificación y diferenciación de especies o poblaciones (Dujardin *et al.*, 1999; Dujardin & Le pont, 2000; Matias *et al.*, 2001; Riva *et al.*, 2001; Jaramillo *et al.*, 2002; Monroy *et al.*, 2003; Gamboa *et al.*, 2007). Pero no existen estudios de morfometría geométrica, ni comparaciones de ésta con la morfometría tradicional en plecópteros.

Para el género *Anacroneuria*, no hay registros de mediciones corporales para distinguir o caracterizar especies. En este estudio, se pretende evaluar caracteres morfométricos, tanto tradicionales como geométricos de cuatro especies de plecópteros (*Anacroneuria chorrera* Stark 1995, *Anacroneuria cacute* Maldonado, Stark y Cressa 2002, *Anacroneuria tachira* Stark y Zúñiga 2002 y *Anacroneuria paleta* Stark 1995) en simpatría, para establecer un método alternativo al estudio taxonómico de estas especies. Estas cuatro especies han presentado solapamiento en sus dietas (Gamboa *et al.* 2009a) y en su ecología (Gamboa *et al.* 2009b) debido a su simpatría y problemas taxonómicos debido a caracteres morfológicos similares (Maldonado *et al.* 2002), por lo que han sido consideradas para este estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Este estudio fue realizado en el río La Picón (8°37'-8°39'N y 71°1'-71°5'W) de la Cordillera de los Andes del estado Mérida, el cual está situado al suroeste del territorio venezolano y abarca una superficie de 11 300 km², a 2274 m.s.n.m., localizado cerca del sector La Mucuy (Pérez, 2002). Este río es un tributario importante del río Chama y drena en un bosque húmedo de alta montaña con un régimen climático bimodal.

Un total de 80 ninfas maduras del género *Anacroneuria* fueron colectadas, usando una red tipo D en cuatro esfuerzos de muestreo en la estación

seca entre los meses de enero y febrero del 2008. Veinte individuos de cada especie de plecóptero fueron preservados en etanol al 80 % y llevados al laboratorio, fueron identificados con las descripciones de Maldonado (2002), Maldonado *et al.* (2002), Stark (1995) y Stark y Zúñiga (2002).

Morfometría tradicional

Se hicieron mediciones corporales con una regla de 10 milímetros de longitud máxima, bajo un microscopio estereoscópico de alta resolución y rendimiento óptico (Leica, modelo MZ125 y Wild M3, HEERBRUGG). A cada náyade, se midieron las siguientes variables: la longitud total del cuerpo, el ancho y largo cefálico, ancho y largo del pronoto y ancho y largo de la pteroteca, para determinar la existencia de relaciones entre las variables medidas y comparar el tamaño entre las especies.

Análisis univariado

Las medidas realizadas fueron tratadas a fin de eliminar el efecto del tamaño isométrico y trabajar con variables de conformación, para esto, todas las variables medidas se normalizaron por el logaritmo en base 10 y fueron promediados a fin de obtener un estimador de tamaño (ET) para cada individuo independientemente del grupo taxonómico, éste se obtuvo del promedio de todas las variables medidas por individuo. La diferencia entre el ET y el valor de la variable por cada individuo fue utilizada para construir una nueva matriz de datos libres de tamaño isométrico (Arrivillaga *et al.*, 1999; Dujardin *et al.*, 1999; Dujardin & Le pont, 2000).

Para cada grupo de poblaciones pertenecientes a cada especie se estimó el promedio de cada variable estudiada. Para el conjunto de los datos por variable se estimó un promedio total, así como la desviación estándar. Luego, para cada variable se graficó la diferencia de los promedios de cada grupo con el promedio total, dividido por la desviación estándar total (*desvt*):

$$\frac{Mg - Mt}{desvt} = \pm \text{variación}$$

Con el fin de determinar caracteres diagnósticos para cada especie (perfiles de Guillaumin, Guillaumin, 1972).

La regresión lineal (Microsoft Office Excel 2007) se realizó comparando cada par de estructura medida, en cada una de las especies de plecópteros.

Análisis multivariados

Con la nueva matriz de datos normalizados sin la variable isométrica, se realizó un análisis de componentes principales en función de la matriz de varianza-covarianza (Microsoft Office Excel 2007), a fin de determinar las diferencias entre las poblaciones independientes de la variable de tamaño y la contribución de cada variable a las diferencias. El análisis de CP fue realizado en el programa estadístico Past versión 1.42 (Hammer *et al.*, 2001).

Morfometría geométrica

Se tomaron fotografías a cada náyades de las cuatro especies de plecópteros (*A. cacute*, *A. tachira*, *A. chorrera* y *A. paleta*), usando una cámara digital Nikon Coolpix modelo 880 de 3,4 megapíxeles. Y a cada fotografía se colocaron 19 hitos morfológicos de “tipo I” en el contorno de toda la superficie de la cabeza en vista ventral (Fig. 1).

Las coordenadas de los hitos fueron digitalizadas usando el programa informático TPS dig

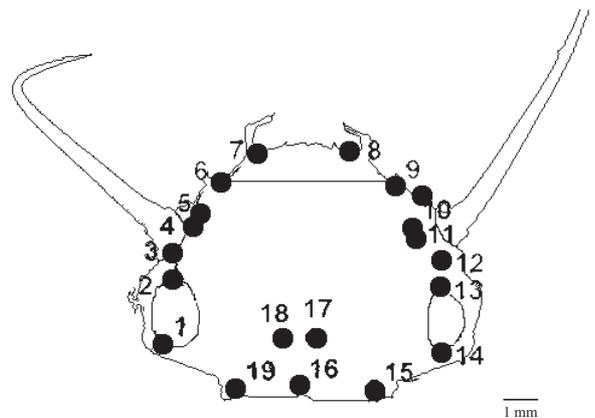


Figura 1. Localización de hitos morfológicos tipo I en la vista dorsal de la cabeza del plecóptero. *Localization of type I morphological landmarks on the dorsal view of the head of the stonefly.*

(versión 1.5; Rohlf, 1997), y se comprobó que los organismos están lo suficientemente cerca en el espacio de Kendall para ser proyectados en un espacio lineal tangente con el programa informático TPS small (Rohlf, 1998b).

La configuración de los hitos fueron trasladados, estandarizados al tamaño del centroide y alineados a través de análisis de procrustes generalizados (GPA, Rohlf & Slide, 1990), usando el programa informático TPS relw (Rohlf, 2003). Una vez eliminados los efectos de posición, orientación y escala, se divide la variación en un componente uniforme y un componente no-uniforme, para ello se utilizó el método de la inspección visual de las placas delgadas (*thin-plate spline*) (Bookstein, 1991; Rohlf & Marcus, 1993). También se realizó un análisis de deformaciones relativas (*relative warps*), que es un análisis de componentes principales de las deformaciones parciales (*partial warps*, variables de forma obtenidas con el método de *thin-plate spline*) (Bookstein, 1991).

Con el programa informático TPS relw (Rohlf, 2003) se obtuvieron los análisis de las deformaciones relativas (*relative warps*) y el componente principal de la matriz de energía de ple-

gamiento (*thin-plate spline*), para que con los autovectores y autovalores de conformación de la matriz de energía de plegamiento con un $\alpha = 1$, se observen las distribuciones de las conformaciones mediante un análisis de componentes principales de la variación en la forma. Finalmente, con el programa informático TPS regr (Rohlf, 1998a) se obtuvieron tanto los análisis estadísticos multivariantes como los análisis de regresión de los datos y con el programa TETwin, (Dujardin, 2002b) se transformaron los datos de formato .tps a formato .format, para que con el programa MOGwin (Dujardin, 2002a) se observaran la dispersión en el espacio de los individuos (Dujardin, 2002c).

RESULTADOS

Morfometría tradicional

Análisis univariado

Las relaciones de tamaño de las partes del cuerpo fueron similares para las cuatro especies (Fig. 2).

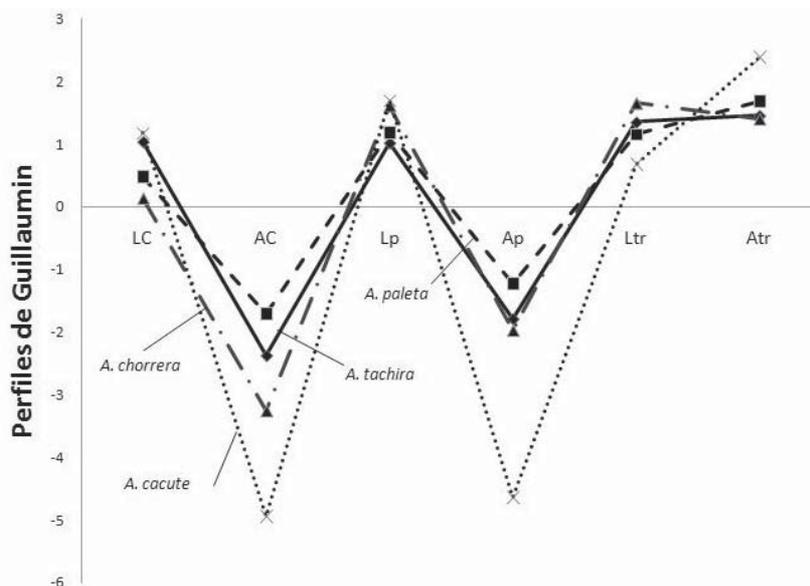


Figura 2. Perfil de caracteres diagnósticos para cada especie de plecóptero en estudio. Variables: longitud total (TL), longitud de la cabeza (LC), longitud del pronoto (Lp), longitud de la pteroteca (Ltr), anchura de la pteroteca (Atr), anchura de la cabeza (AC) y anchura del pronoto (Ap). *Profile of diagnostic characters for each of the species of stonefly studied. Variables: total length (TL), head length (LC), pronotum length (Lp), pteroteca length (Ltr), pteroteca width (Atr) head width (AC), and pronotum width (Ap).*

El largo de la cabeza (LC), el largo del pronoto (Lp) y el largo (Ltr) y el ancho (Atr) de la pteroteca, son las estructuras que presentan mayor tamaño con respecto al cuerpo; en cambio, el ancho de la cabeza (AC) y el ancho del pronoto (Ap), son las estructuras sin cambio aparente de tamaño a medida que crece el individuo o son las estructuras de menor tamaño con respecto al cuerpo.

La especie *A. cacute*, presenta una distribución similar a las otras especies, pero con mayores signos de deformaciones de la forma, tal como se observar en la figura 2, todas las estructuras morfológicas medidas para esta especie se encuentra en los extremos con respecto al resto de especies estudiadas.

Los perfiles de Guillaumin establecen que las cuatro especies no tienen distinción entre ellas. La regresión (Tabla 1) concuerda con esto, ya que los valores son cercanos a 1, donde no existen diferencias entre las estructuras.

Análisis multivariados

La no distinción de las especies mediante el análisis univariados es observada igualmente, por el análisis multivariado. El análisis de componentes principales no muestra diferencias para las cuatro especies (Fig. 3).

Tabla 1. Regresión lineal de cada una de las estructuras medidas en las cuatro especies de plecópteros. *Linear regression of each of the structures measured on the four species of stoneflies.*

	<i>A. chorrera</i>	<i>A. tachira</i>	<i>A. paleta</i>	<i>A. cacute</i>
LC vs AC	0.95	0.76	0.91	0.82
Lp vs Ap	0.90	0.73	0.96	0.86
Ltr vs Atr	0.94	0.85	0.93	0.90
LT vs LC	0.92	0.76	0.79	0.73
LT vs AC	0.93	0.88	0.85	0.80
LT vs Lp	0.90	0.77	0.87	0.70
LT vs Ap	0.90	0.71	0.78	0.79
LT vs Ltr	0.91	0.76	0.87	0.86
AC vs Ap	0.94	0.82	0.92	0.97
LT vs Atr	0.90	0.85	0.89	0.71

EL ACP muestra que la contribución del componente principal 1 es del 42 % de la varianza de la data y el componente principal 2 es 28.056 % de la varianza de la data y corresponden al largo de la cabeza (LC) y al largo de la pteroteca (Ltr) respectivamente. El CP3 corresponde al 10 % de la varianza de la data y representa el ancho de la pteroteca (Ap), siendo estos tres componentes un 80.056 % de la varianza de la data, lo cual corresponde a lo observado con los perfiles de Guillaumin.

Tanto los análisis uni- como multivariados de variables lineales, no contemplan la diferenciación de las especies.

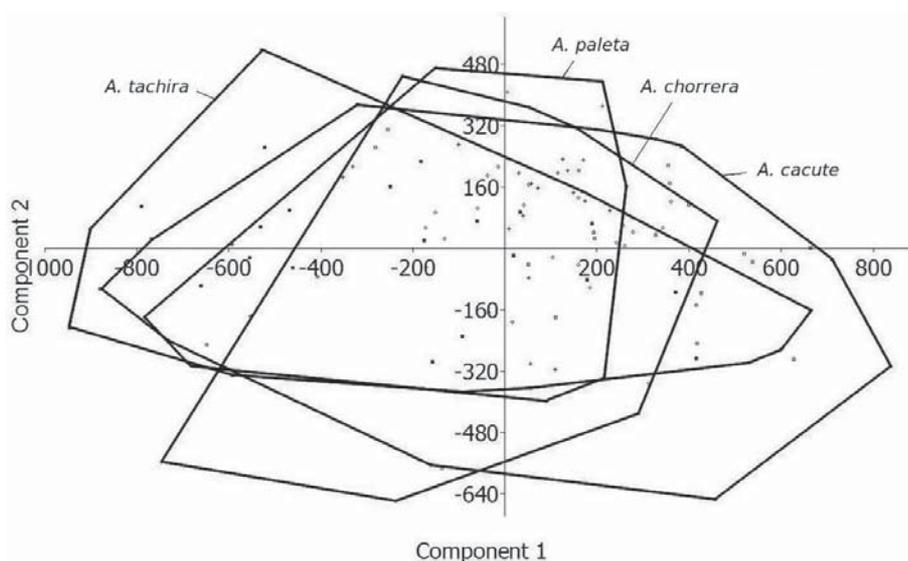


Figura 3. Análisis de componentes principales construidos con las variables (caracteres) escogidos. *Principal component analysis constructed with the chosen variables (characters).*

Tabla 2. Pruebas estadísticas multivariantes de los GPA. *GPA multivariate statistical tests.*

Estadística	Valores	Fs	df1	df2	Prob
Wilks' Lambda	0.24467785	7.718	34	85.0	1.235E-014
Pillai's trace	0.75532215	7.718	34	85.0	1.235E-014
Hotelling-Lawley trace	3.08700665	7.718	34	85.0	1.235E-014
Roy's maximum root	3.08700665	7.718	34	85.0	1.235E-014

originalmente, señala un solapamiento de las conformaciones obtenidas de los individuos para cada especie de plecóptero analizado, lo que corrobora con los análisis estadísticos que no existen diferencias significativas entre las especies en la estructura morfológica escogida.

DISCUSIÓN

Morfometría tradicional

Para el análisis morfométrico se pudo eliminar los cambios de tamaño inducidos por el ambiente a fin de obtener variables métricas independientes del tamaño isométrico entre los caracteres homólogos elegidos, esto permitió evidenciar la existencia de diferencias métricas, las cuales pueden ser consideradas como caracteres diagnósticos para describir las especies taxonómicamente. En este estudio, el perfil de caracteres diagnósticos para cada especie así como los análisis estadísticos no generaron diferencias significativas.

Hasta ahora, no han habido estudios biométricos en náyades de plecópteros que sean indicativos de diferenciación taxonómica, simplemente los estudios han estado basados en la ontogenia y en el establecimiento de instares entre especies (Zwick, 1991, 1992; Beer-Stiller & Zwick, 1995). Maldonado (2002), con las mismas cuatro náyades de plecópteros, estudia las variables morfométricas de adultos y ninfas y su relación con la altitud. Este autor encuentra que no existe correlación entre las variables morfométricas y la variable ambiental, debido a la variabilidad interespecífica existente y recomienda la medición de la mayor cantidad de variables morfométricas posibles.

En el sitio de colecta, estudios de caracterización ecológica indican similares requerimientos ambientales para las cuatro especies en el

área de simpatria (Maldonado, 2002; Gamboa *et al.*, 2009b). Esto puede ser explicado porque en ambientes acuáticos, las presiones selectivas no generan cambio de la forma a nivel morfológico y por ende el análisis no muestra diferencias significativas entre ellas, explicado por una integridad fenotípica (Schlichting & Pigliucci, 1998; Wagner & Schwenk, 2000) a pesar de su diferenciación morfológica.

Morfometría geométrica

Los hitos morfológicos escogidos incluyen caracteres que son localizados en la cabeza y que describen la forma de la estructura que mayormente es utilizada para la clasificación taxonómica debido a patrones de coloración (Stewart & Stark, 2002).

Debido a que se le da mas peso a la variación en pequeña escala (variación en la posición relativa de los hitos morfológicos que están cercanos entre sí) que a la variación a gran escala (variación entre los especímenes en la posición relativa de los hitos morfológicos separados ampliamente) (Bookstein, 1991; Rohlf *et al.*, 1996), la morfometría geométrica revela diferencias intraespecíficas en la forma inferior de la cabeza, donde se encuentran los ocelos y los ojos, mostrando variaciones en la forma y cambio de conformación de las 4 especies, agrupándolas en dos grupos distintos.

La distinción de especies en simpatria mediante esta herramienta morfométrica ha sido de gran ayuda en los estudios de vertebrados (Adams & Rohlf, 2000) como en invertebrados (Giri & Collins, 2004), donde encuentran importantes cambios anatómicos basados en cambios de forma producto de explicaciones ecológicas y mostrando el ejemplo, de como la morfometría geométrica puede ser útil para la identificación de especies dentro de poblaciones.

Los análisis estadísticos multivariantes, de regresión y discriminantes aplicados en este estudio, demuestran que las cuatro especies de plecópteros, están muy relacionadas morfométricamente entre sí debido a la homogeneidad morfológica que presentan ($P > 0.001$), tal como es demostrado en otros grupos de organismos (Adams & Funk 1997; Murat *et al.*, 2007).

Vidal *et al.* (2005), señala que la homogeneidad morfológica encontrada por especies simpátricas, está asociada con el hábitat típico utilizado por la especie. En los plecópteros en estudio, su condición de hemimetábolos, las características del hábitat similares (Maldonado, 2002), la simpatria y su estadía permanente en estado ninfal en el sistema de agua dulce, pudiera estar generando similaridad morfológica y la no delimitación clara de las especies.

En conclusión, ambas técnicas morfométricas concuerdan con la existencia de la homogeneidad morfológica entre las cuatro especies de plecópteros, reflejando la integración fenotípica del género *Anacroneria* por la baja covarianza y el compartir los mismos mecanismos de reproducción y similaridad ecológica. La herramienta morfológica geométrica, debido a su distinción específica de caracteres, permitió establecer una separación de dos grupos, los cuales deben ser confirmados con otras herramientas taxonómicas, como por ejemplo, a escala molecular.

AGRADECIMIENTOS

A Jonathan Liria y a Roberto Cipriani por sus valiosos comentarios. A la Universidad Simón Bolívar por el financiamiento de este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

- ADAMS, D. C. & D. J. FUNK. 1997. Morphometric inferences on sibling species and sexual dimorphism in *Neochlamisus bebbianae* leaf beetles: multivariate applications of the Thin-Plate Spline. *Syst. Biol.*, 46: 180-194.
- ADAMS, D. & F. J. ROHFL. 2000. Ecological character displacement in Plethodon: biochemical differences found from a geometric morphometric study. *Proc Natl Acad. Sci.*, 97(8): 4106-4111.
- ARRIVILLAGA, J. C., Y. RANGEL, M. D. FELICANGELI & G. LANZARO. 1999. Morphogenetic studies of *Lutzomyia longipalpis* (Psychodidae: Phlebotominae) from Venezuela. In: *Mosquito vector control and biology in Latin America*. Proceedings of the 9th symposium Latin America. Journal American Mosquito Control Association 15: 410.
- ATKINSON, D. 1994. Temperature and organism size a biological law for ectothermes? *Adv. Ecol. Res.*, 156: 390-415.
- BEER-STILLER, A. & P. ZWICK. 1995. Biometric studies of some stoneflies and a mayfly (Plecoptera and Ephemeroptera). *Hydrobiologia*, 299: 169-178.
- BOOKSTEIN, F. L. 1991. *Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology*. Cambridge University Press. Cambridge. 435 pp.
- BOOKSTEIN, F. L. 1994. Can biometrical shape be a homologous character? In: *Homology: the hierarchical basis of comparative biology*. B. K. Hall (ed.): 197-227. Academic Press, New York.
- BOOKSTEIN, F. L. 1996. Visualizing group differences in outline shape: Methods from biometrics of landmark points. In: *Visualization in Biomedical Computing*. K. Höhne & R. Kikinis (eds.): 405-410. Lecture Notes in Computer Science. Springer-Verlag.
- DUJARDIN, J. P. 2002a. MOGwin. Institut de Recherches pour le Développement (IRD, France). Disponible en www.life.Bio.SUNYYSB.edu/MORPHMET.
- DUJARDIN, J. P. 2002b. TETwin. Institut de Recherches pour le Développement (IRD, France). Disponible en www.life.Bio.SUNYYSB.edu/MORPHMET.
- DUJARDIN, J. P. 2002c. PADwin. Institut de Recherches pour le Développement (IRD, France). Disponible en www.life.Bio.SUNYYSB.edu/MORPHMET.
- DUJARDIN, J. P. & F. LE PONT. 2000. Morphometrics of a neotropical sandfly subspecies, *Lutzomyia carerrai thula*. *Cr. Acad. Sci. III-Vie.*, 3: 273-279.
- DUJARDIN, J. P., F. LE PONT & E. MARTINEZ. 1999. Quantitative phenetics and taxonomy of some phlebotominae taxa. *Mem. I. Oswaldo Cruz*, 94(6): 735-741.

- FROEHLICH, C. 1999. Biometric notes on *Tupiperla* Froehlich (Plecoptera, Perlidae). *Rev. Bras. Zool.*, 16: 181-183.
- GAMBOA, M., R. CIPRIANI & J. ARRIVILLAGA. 2007. Ontogenia de *Anacroneuria chorrera* (Plecoptera:Perlidae) usando morfometría geométrica de la pteroteca. *Entomología Mexicana*, 6: 183-188.
- GAMBOA, M., M. M. CHACÓN & S. SEGNINI. 2009a. Diet composition of the mature larvae of four *Anacroneuria* species (Plecoptera: Perlidae) from the Venezuelan Andes. *Aquat. Insects*, 31(1): 407-415.
- GAMBOA, M., M. M. CHACÓN & S. SEGNINI. 2009b. Ritmo diario de alimentación y tamaño de la presa en cuatro especies simpátricas de Plecoptera (Insecta) en un río tropical andino. *Ecotropicos*, 22(1): 37-43.
- GIRI, F. & P. A. COLLINS. 2004. A geometric morphometric análisis of two sympatric species of the family *Aeglidae* (Crustacea, Decapada, Anomura) from the La Plata basin. *Ital. J. Zool.*, 71: 85-88.
- GUILLAUMIN, M. 1972. Etude biometrique des populations naturelles de *P. Carlivae* Rbr et *P. Ciasii* Rbr (Lep. Hesperiiidae). I Estimation du taux de chevauchement des distributions statistiques de deux populations en relation avec la notion de distance taxonomique. *Arch. Zool. Exp. Gen.*, 115: 505-548.
- HAMMER, O., D. A. T. HARPER & P. D. RYAN. 2001. PAST: *Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis*. Version 1.42. *Palaeontologia Electrónica* 4(1):9 pp. Disponible en http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.
- JARAMILLO, N., D. CASTILLO & M. WOLF. 2002. Geometry morphometric differences between *Panstrongylus geniculatus* from field and laboratory. *Mem. I. Oswaldo Cruz*, 97: 667-673.
- LOSOS, J. B. 1990. Ecomorphology, performance capability, and scaling of West Indian *Anolis* lizards: an evolutionary analysis. *Ecol. Monogr.*, 60: 369-388.
- MALDONADO, V. 2002. *Biodiversidad de Plecópteros (Insecta: Plecoptera:Perlidae) en Venezuela*. Tesis doctoral, Universidad Central de Venezuela. 157 pp.
- MALDONADO, V., B. P. STARK & C. CRESSA. 2002. Descriptions and records of *Anacroneuria* from Venezuela (Plecoptera:Perlidae). *Aquat. Insects.*, 24(3): 219-236.
- MATIAS, A., J. DE LA RIVA, M. TORREZ & J. DUJARDIN. 2001. *Rhodnius robustus* in Bolivia identified by its wings. *Mem. I. Oswaldo Cruz*, 96: 947-950.
- MONRROY, A., D. BUSTAMANTE, A. RODAS, R. ROSALES, M. MEJIA & Y. TABURU. 2003. Geographic distribution and morphometric differentiation of *Triatoma nitida* Usinger 1939 (Hemiptera:Reduviidae:Triatominae) in Guatemala. *Mem. I. Oswaldo Cruz*, 98: 37-43.
- MOTTA, P. J. & K. M. KOTRSCHAL. 1992. Correlative, experimental, and comparative evolutionary approaches in ecomorphology. *Netherlands J. Zool.*, 42: 400-415.
- MURAT, A., M. TERZO, P. RASMONT & N. CAVÁTAY. 2007. Landmark based geometric morphometric analysis of wing shape *Sibiricobombus* Vogt (Hymenoptera: Apidae: Bombus Latreille). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 4: 95-102.
- PÉREZ, B. 2002. *Variación temporal y espacial de los efemerópteros (Insecta: Ephemeroptera) en un río altiandino venezolano*. Tesis de Magister, Universidad de los Andes. 122 pp.
- RICKLEFS, R. E. & D. B. MILES. 1994. Ecological and evolutionary inferences from morphology: an ecological perspective. In: *Ecological morphology: integral organismal biology*. P. C. Wainwright & S. M. Reilly (eds.): 13-41. Chicago: University of Chicago Press.
- RIVA, J., F. LE PONT, V. ALI, A. MATIAS, S. MOLLINEDO & J. DUJARDIN. 2001. Wing geometry as a tool for studying the *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) complex. *Mem. I. Oswaldo Cruz*, 96: 1069-1094.
- ROHLF, F. J. 1997. TPS dig for Windows version 1.5. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook. Disponible en www.life.bio.sunysb.edu/MORPHMET.
- ROHLF, F. J. 1998a. TPS reg for Windows version 1.15. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook. Disponible en www.life.bio.sunysb.edu/MORPHMET.
- ROHLF, F. J. 1998b. TPS small for Windows version 1.15. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook. Disponible en www.life.bio.sunysb.edu/MORPHMET.
- ROHLF, F. J. 2002. Geometric morphometrics in phylogeny. In: *Morphology, Shape and Phylogenetics*. P. Forey & N. Macleod (eds.): 175-193. Francis & Taylor: London.

- ROHLF, F. J. 2003. TPS relw, relative warps analysis, version 1.36. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. Disponible en www.life.bio.sunysb.edu/MORPHMET.
- ROHLF, F. J. & L. MARCUS. 1993. A Revolution in Morphometrics. *Trends Ecol. Evol.*, 8(4): 129-132.
- ROHLF, F. J. & D. SLIDE. 1990. Extension of the procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Syst. Zool.*, 39(1): 40-59.
- ROHLF, F. J., A. LOY & M. CORTI. 1996. Morphometric Analysis of Old World *Talpidae* (Mammalia: Insectivora) Using Partial Warp Score. *Biología Sistemática*, 45: 344-362.
- SCHLICHTING, C. D. & M. PIGLIUCCI. 1998. *Phenotypic evolution: a reaction norm perspective*, 1st ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA. 387 pp.
- SCHLUTER, D. & J. D. MCPHAIL. 1992. Ecological character displacement and speciation in sticklebacks. *Am. Nat.*, 140: 85-108.
- SHELDON, A. L. 1968. Size relationships of *Anacronuria californica* (Perlidae, Plecoptera) and its prey. *Hydrobiologia*, 34: 85-94.
- SMITH, D. C. & J. VAN BUSKIRK. 1995. Phenotypic design, plasticity, and ecological performance in two tadpole species. *Am. Nat.*, 154: 211-233.
- SNORRASON, S. S., S. SKÚLASON, B. JONSSON, H. J. MALMQUIST, P. M. JÓNASSON, O. T. SANDLUND & T. LINDEM. 1994. Trophic specialization in Arctic charr *Salvelinus alpinus* (Pisces; Salmonidae): morphological divergence and ontogenetic niche shifts. *Biol. J. Linn. Soc.*, 52: 1-18.
- STARK, B. P. 1995. New species and records of *Anacronuria* (Klapálek) from Venezuela. *Spixiana*, 18: 211-249.
- STARK, B. P. 1998. The *Anacronuria* of Costa Rica and Panama (Insecta: Plecoptera: Perlidae). *Proc. Biol. Soc. Wash.*, 112: 551-603.
- STARK, B. P. 1999. *Anacronuria* from northeastern South America (Insecta: Plecoptera: Perlidae). *Proc. Biol. Soc. Wash.*, 112: 70-93.
- STARK, B. P. & I. SIVEC. 1998. *Anacronuria* of Peru and Bolivia (Plecoptera: Perlidae). *Scopolia*, 40: 1-64.
- STARK, B. P. & M. ZÚÑIGA. 2002. The *Anacronuria guambiana* complex of South America (Plecoptera: Perlidae). In: *Proceedings of International Symposium of Plecoptera*. E. Gaino (ed.): 229-237. Italy.
- STEWART, K. W. & B. P. STARK. 2002. *Nymphs of the North American Stonefly Genera (Plecoptera)*. The Thomas Say Foundation. Volume XII. USA. 460 pp.
- TIERNO DE FIGUEROA, J. M. & M. J. LÓPEZ-RODRÍGUEZ. 2005. Biometric relationships among female size, fecundity, and flight period in *Isoperla Nevada* Aubert 1952 (Plecoptera: Perlodidae). *Ann. Soc. Entomol. Fra.*, 41(1): 3-6.
- TIERNO DE FIGUEROA, J. M. & A. SANCHÉZ-ORTEGA. 2004. Implications of imaginal-size variation over the flight period in stoneflies (Plecoptera). *Ann. Soc. Entomol. Fra.*, 40(1): 37-40.
- TRAVIS, J. 1994. Evaluating the adaptive role of morphological plasticity. In: *Ecological morphology: integral organismal biology*. P. C. Wainwright & S. M. Reilly (eds.): 99-122. Chicago, University of Chicago Press.
- VIDAL, M. A., J. C. ORTIZ, C. C. RAMIREZ & M. LAMBOROT. 2005. Intraspecific variation morphology and sexual dimorphism in *Liolaemus tenuis* (Tropiduridae). *Amphibia-Reptilia*, 26(3): 343-351.
- WAGNER, G. P. & K. SCHWENK. 2000. Evolutionarily stable configurations: functional integration and the evolution of phenotypic stability. *Evol. Biol.*, 31: 155-217.
- WAINWRIGHT, P. C. 1994. Functional morphology as a tool in ecological research. In: *Ecological morphology: integral organismal biology*. P. C. Wainwright & S. M. Reilly (eds.): 42-59. Chicago, University of Chicago Press.
- WESTNEAT, M. W. 1995. Feeding, function, and phylogeny: analysis of historical biomechanics in labrid fishes using comparative methods. *Syst. Biol.*, 44: 361-383.
- ZWICK, P. 1991. Biometric studies of the growth and development of two species of *Leuctra* and *Nemurella pictetti* (Plecoptera: Leuctricidae and Nemouridae). In: *Overview and strategies of Ephemeroptera and Plecoptera*. J. Alba-Tercedor & A. Sanchez-Ortega (eds): 512-525. Sandhill Crane Press, Gainesville.
- ZWICK, P. 1992. Growth and emergence of *Leuctra prima* (Plecoptera): Habitat-species interactions. *Verh. Internat. Verein. Theor. Angew. Limnol.*, 24: 2886-2890.