



ARTÍCULO ORIGINAL

Comparación de la ubicación interna y externa de puntos morfológicos clave para describir la variación morfológica en conchas de *Cerion* (Pulmonata: Cerionidae)

Comparison of internal and external location of landmarks to describe the morphological variation in shells of Cerion (Pulmonata: Cerionidae)

Alejandro Rodríguez-Ochoa

Facultad de Biología, Universidad de La Habana

* Autor para correspondencia:
arodriguez@fbio.uh.cu

RESUMEN

En la última década la morfometría geométrica, a partir de fotografías digitales y coordenadas de puntos clave, se ha convertido en la herramienta fundamental en el análisis de la variación en forma de la concha en moluscos. La selección de los puntos morfológicos, por lo general en el exterior de la concha, es subjetiva y no se describe de forma clara en ningún trabajo la fundamentación biológica de tal selección. El objetivo de este trabajo es la comparación de la ubicación interna y externa de puntos morfológicos clave en conchas de especies de *Cerion*, en cuanto a la capacidad de describir la variación morfológica interespecífica y geográfica, y reflejar el patrón de crecimiento de la concha. Para ello se trabajó con 11 especies del género *Cerion*, representada cada una con 4 a 11 individuos, para un total de 77 unidades muestrales. Se seleccionaron 12 puntos clave externos en la concha, y de manera independiente 16 puntos clave internos. Entre las configuraciones de puntos externos e internos, mediante un análisis de deformación, se comparó el patrón en el espacio de forma de la variación morfológica entre especies y entre grupos geográficos, la varianza presente dentro de la primera curvatura y el número de componentes a partir del cual se incluye el 95% de la varianza de los datos. Se concluye que los métodos de puntos clave externos e internos describen de igual manera la variación morfológica de la concha en las especies del género *Cerion*; aunque los puntos clave internos, mediante las láminas de distorsión, permiten hacer una inferencia más completa sobre las diferencias en el crecimiento de la concha.

Palabras clave: Morfometría Geométrica, variación morfológica, análisis de distorsión

ABSTRACT

In the last decade the geometric morphometry, with used of digital photographs and coordinates of key points, has become a fundamental tool in the analysis of the shape variation of the shell in mollusks. The selection of landmark, usually on the outside of the shell, is subjective and is not described

Recibido: 2014-06-03

Aceptado: 2015-03-13

clearly in any work the biological rationale for their selection. The aim of this work is the comparison of internal and external location of key morphological points *Cerion* shell species, in terms of capacity to describe geographic and interspecific morphological variation, reflecting the growth pattern of the shell. To do this, we worked with 11 species of the genus *Cerion*, represented each with 4-11 individuals, for a total of 77 sampling units. 12 External landmarks were selected on the shell and independently 16 internal landmarks. Among the configurations of external and internal landmarks, by partials warps analysis, comparison the pattern in space shaped morphological variation among species and geographic groups, this variance within the first principal partial warp and the number of principal partial warps from which included 95% of the variance of the data. We conclude that the methods of internal and external key points equally describe the morphological variation of shell in the genus *Cerion*; although internal landmark through the thin-plate spline, allow a more complete inference about the differences in shell growth.

Keywords: Geometric morphometric, morphology variation, partial warp analysis

INTRODUCCIÓN

Los moluscos gasterópodos se caracterizan por presentar una gran diversidad de formas de la concha. El estudio de esa diversidad se centra en entender el porqué de estos cambios tanto a nivel genético como geográfico y ecológico (Nava y Severeyn, 2011). Además, las conchas constituyen un registro de todos los cambios en el crecimiento individual (Goodfried, 1989), por lo que permiten analizar las diferencias en el desarrollo ontogenético. De la combinación de estos análisis se logra llegar a conclusiones taxonómicas, de la que se infieren las relaciones evolutivas entre taxones.

La morfometría geométrica es un sistema de métodos y procedimientos para el análisis de los patrones de forma, donde las mediciones usualmente derivan de contornos y puntos morfológicos clave. Desde su desarrollo a partir de los años 90, uno de sus principales objetos de aplicación ha sido el estudio de la diversidad morfológica en las conchas de moluscos (Johnston *et al.*, 1991). En la actualidad el uso de morfometría geométrica es común, y ha permitido analizar el valor adaptativo de la forma (Serb *et al.*, 2011; Vogler *et al.*, 2012), validar los resultados de datos moleculares (Guerra-Varela *et al.*, 2009) y encontrar patrones en la variación geográfica de la forma (Teso *et al.*, 2011).

En la mayoría de los trabajos que han aplicado morfometría geométrica para el estudio de la variación en moluscos, la ubicación de los puntos clave ha sido en el exterior de la concha. Según Johnston *et al.* (1991) esta selección es subjetiva y no tiene por qué representar la variación producto del crecimiento de la

concha del molusco. Además, no se describe de forma clara en ningún trabajo la fundamentación biológica de tal selección. Stone (1998) describió un método alternativo basado en la selección de puntos clave internos en la concha de moluscos. Este separa la información del crecimiento de la concha a partir de su forma, pero no ha sido comparado con otros métodos alternativos. El uso de puntos clave que contengan mayor información biológica garantiza que la interpretación de los resultados de estas técnicas se acerque más a la realidad.

En Cuba el género *Cerion* (Röding, 1798) es reconocido por presentar una alta variación morfológica, lo que ha propiciado un elevado interés en su estudio. De este modo está descrito el patrón de crecimiento de la concha para el género (Galler y Gould, 1979 y Stone, 1996) y la variación geográfica de la forma de algunas de sus especies en Cuba, utilizando las herramientas de la morfometría geométrica (Rodríguez - Ochoa, 2014). El objetivo de este trabajo es la comparación de la ubicación interna y externa de puntos morfológicos clave, en cuanto a la capacidad de ambas ubicaciones de describir la variación morfológica interespecífica y geográfica de las conchas de especies de *Cerion*, y de reflejar el patrón de crecimiento de la concha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con 11 especies (Tabla 1), de estas 5 cuyos ejemplares se encontraban depositados en la Colección Malacológica del Instituto de Ecología y Sistemática, y el resto fueron colectadas en poblaciones naturales. Las especies cuyos ejemplares se encontraban

Tabla 1. Tamaño de muestra y agrupación geográfica de las 11 especies cubanas del género *Cerion* utilizadas.

Table 1. Sample size and geographic clustering of the 11 Cuban species used of the genus *Cerion*.

Especie	N	Grupos geográficos
<i>C. mumia</i> (Bruguíere, 1792)	11	Occidente
<i>C. sagraianum</i> (Pfeiffer, 1847)	10	Occidente
<i>C. iostomum</i> (Pfeiffer, 1854)	10	Occidente
<i>C. marielinum</i> Torre in Pilsbry. 1927	5	Occidente
<i>C. infandum</i> (Shuttlewong in Poey 1858)	5	Occidente
<i>C. paredonis</i> Pilsbry. 1902	9	Centro
<i>C. scopulorum</i> Aguayo et Jaume, 1951	4	Centro
<i>C. cabocrucense</i> Pilsbry et Torre. 1943	5	Oriente
<i>C. torrei</i> Blanes in Pilsbry et Vanatta. 1898	7	Oriente
<i>C. blanesi</i> Clench et Aguayo, 1951	6	Oriente
<i>C. vulneratum</i> (Küster. 1855)	5	Oriente

en colecciones se seleccionaron teniendo en cuenta que presentaran toda la información en la etiqueta y que fueran representativas de las regiones de Cuba, y su número fue limitado ya que se necesitaba el corte de las conchas. La identificación de las especies se basó en la clasificación de Espinosa y Ortea (1999). Cada especie estuvo representada por 4 a 11 individuos de una misma población, para un total de 77 unidades muestrales. Las especies trabajadas fueron representativas de las tres principales zonas geográficas del país: cinco de Occidente, dos del Centro y cuatro de la región Oriental, lo que sirvió para clasificarlas dentro de estos tres grupos geográficos.

Se seleccionaron 12 puntos clave morfológicos externos en la cocha (Fig. 1A). Estos se ubicaron en las intercepciones de la primera, tercera y quinta espiras (partiendo de la apertura), en el ápice, en el ancho y largo máximo de la apertura de la concha, y en la intercepción de la última espira con la apertura. Los puntos clave morfológicos internos fueron 16. Para su ubicación, se hizo un corte transversal en cada concha, para luego situar cuatro puntos claves por cada apertura de las espiras (Fig. 1B). Estos se pusieron desde la apertura de la concha, y a partir de esta, hasta la séptima espira, para un total de 60 puntos. Posteriormente, fue calculado el centroide para cada apertura, cuyas coordenadas sirvieron para los 15 puntos clave internos con los que se trabajó. Finalmente, se ubicó el último punto clave en el ápice de la concha (Fig. 1B).

Se hizo una superposición procrustes generalizada a las coordenadas de los puntos clave para eliminar el efecto de las diferencias en tamaño, rotación y traslación en las imágenes. Se hizo un análisis de distorsión, método de deformación en el que se utiliza un ejemplar de referencia y se mueven la configuración de puntos hasta que tome la forma de cada especie. Se empleó como referencia el consenso de todas las especies. Posteriormente fueron analizados los vectores de la deformación resultante, específicamente las curvaturas relativas, que son los componentes principales de una distribución de formas en el espacio tangente al espacio de forma de Kendall, y que presentan un por ciento de la varianza existente en los datos de forma. Entre las configuraciones de puntos externos e internos se comparó el patrón en el espacio de forma de la variación morfológica entre especies y entre grupos geográficos, la varianza presente dentro de la primera curvatura y el número de componentes a

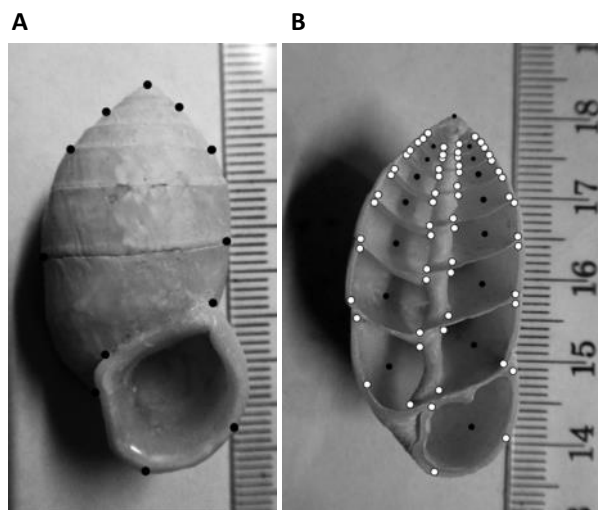


Figura 1. Ubicación de los puntos clave de los puntos clave externos e internos en conchas de *Cerion*, en posición ventral. A: Los 12 puntos clave externos. B: Los 16 puntos internos (puntos negros) obtenidos a partir de las coordenadas del centroide para cada apertura. Los puntos blancos son los usados en el paso intermedio en el que se ubican cuatro puntos en cada una de las siete primeras aperturas.

Figure 1. The location of internal and external landmarks in *Cerion* shells in ventral views. A: The 12 external landmark, B: The 16 internal landmarks (Black points) obtained as the centroid for each opening. The white points used in the first step for the location of internal landmark in the cross section of a shell of four points in each opening of the last seven whorls.

partir del cual se incluye el 95% de la varianza de los datos. Con un mayor porcentaje de varianza en las primeras curvaturas se garantiza, con un menor número de variables, que el análisis de la forma sea más exacto y simple. A la curvatura relativa 1 se le calculó, por especie, los intervalos de confianza con el método de Montecarlos (1000 iteraciones). Los cambios de la configuración de referencia fueron representados a través de rejillas de deformación, con la ayuda de vectores que representan el movimiento de cada punto del consenso a la referencia. El valor determinado de α fue de cero dándole igual valor a los cambios sin importar la escala. Todo el procesamiento se realizó utilizando el PAST 3.0 y la serie de programas TPS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Análisis de Curvaturas Relativas se obtuvo que para los puntos externos, los componentes principales solo alcanzaron el 95 % de la varianza a partir del décimo componente, mientras que en los puntos internos se alcanzó con el octavo componente. En ambos métodos, el primer componente contenía más del 50 % de varianza de los datos; un 50,17 % para los puntos externos y un 67,94 % para los puntos internos.

A partir de la primera curvatura relativa se encontró que ambos tipos de puntos clave describen un patrón de variación morfológica parecido (Fig. 2). Se separaron del resto de las especies, *C. torrei* y *C. blanesi* de la región de Oriente, descritas para localidades cercanas; y con los puntos internos, *C. scopulorum* de la región central del país, se agrupó a estas dos especies. La variación geográfica de la forma fue parecida con ambos métodos, aunque no coincide con el descrito por Rodríguez-Ochoa (2014), en el que los tres grupos geográficos se separaron.

Al ser la concha un registro de los cambios en algunas fases de crecimiento individual, se han buscado modelos sobre la base de los cambios durante la formación de la concha, que expliquen la forma final del individuo. Un ejemplo de estos es el modelo de Stone (1995, 1996), basado en los cambios en la trayectoria y forma de las aperturas de cada espira. Aunque existen otros modelos que tienen en cuenta procesos vinculados a la fisiología de la formación de la concha (Rice, 1998), la ventaja del anterior es que la "trayectoria de la apertura" durante el crecimiento, o sea el crecimiento de la concha, puede ser descrita de manera general con el uso de puntos clave (Stone, 1998). En el género *Cerion* se estudiaron los cambios

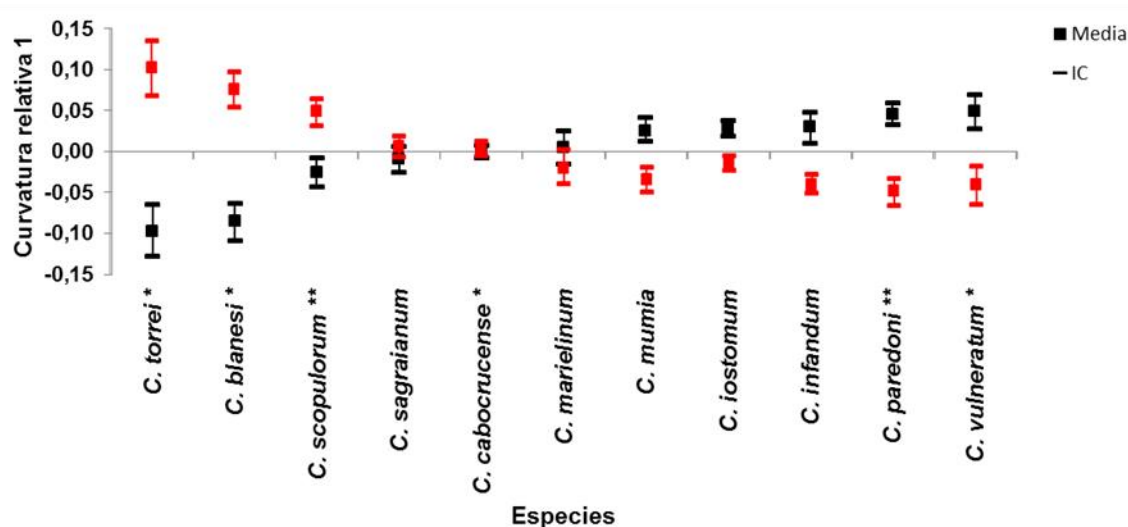


Figura 2. Curvatura relativa 1 obtenida en el análisis de forma de 11 especies del género *Cerion* en Cuba, empleando 12 puntos externos (color negro) y 16 puntos internos (color rojo). Grupos geográficos: especies de Occidente (sin símbolo), especies de Oriente (*) y especies del Centro (**).

Figure 2. Relative warp 1 obtained in the shape analysis of 11 species of the genus *Cerion* in Cuba from 12 external points (color black) and 16 internal points (color red). Geographic clustering: West species (without symbol), East species (*) and Central species (**).

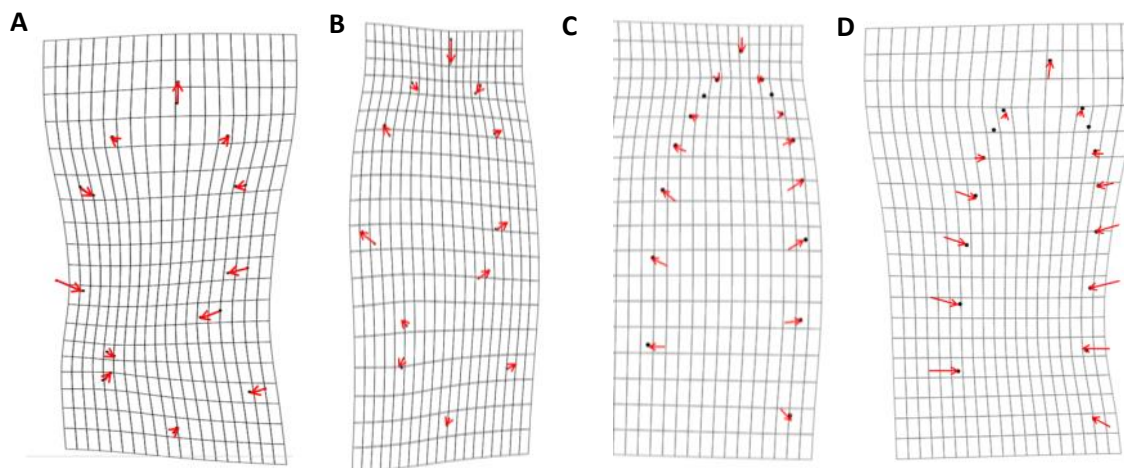


Figura 3. Variación de la forma en la curvatura relativa 1 visualizada mediante láminas de distorsión en el análisis de forma en 11 especies del género *Cerion* en Cuba, para el método de puntos externos A y B (posición 0,1 y -0,1 respectivamente) y el método de puntos internos C y D (posición 0,1 y -0,1 respectivamente). Los vectores representan el movimiento de puntos del consenso a la referencia.

Figure 3. Variation in the relative warp 1 displayed by the thin-plate spline in the analysis of 11 species of the genus *Cerion* in Cuba, for the method of external points A and B (position 0.1 and -0.1, respectively) and the method of internal points C and D (position 0.1 and -0.1, respectively). The vectors represent the motion from consensus points to the reference.

morfométricos de la concha durante las etapas de desarrollo pos-embriionario (Galler y Gould, 1979), para lo cual se dividió el proceso en tres etapas. La primera de ellas se caracteriza por el incremento del ancho de la concha, o sea un ensanchamiento de las espiras a medida que se van formando. En la segunda etapa hay un incremento en la altura de la concha, con un pequeño o ausente incremento del ancho. Y en la tercera etapa hay un cambio de dirección de la espira, posicionándose la apertura en su posición final y comenzando el engrosamiento de los labios.

La variación de la forma en la curvatura relativa 1, para ambos tipos de puntos clave, está dada por conchas con expansiones verticales en el ápice y contracciones horizontales en el resto de las espiras, o sea formas más cilíndricas (Fig. 3 A y D), y conchas con el patrón contrario, más aovadas, para las tres especies que se separaron (Fig. 3 B y C). Sobre la base de lo anterior, para ambos métodos de selección de puntos clave, se puede comparar de igual manera las dos primeras fases de crecimiento de la concha entre especies, al relacionarlas con las características de la forma de la concha (que en este caso se corresponde las características del ápice y las espiras). En el caso de los puntos externos, Stone (1995) señala que puede incorporarse variación por otros factores como las diferencias en el engrosamiento de la concha, que en este caso aparentemente no afecta. Para la región de

la apertura de la concha (correspondiente a la tercera fase de crecimiento), con los puntos externos se puede ver que la variación de debe a aperturas más anchas o más estrechas, pero es difícil observar como varía con respecto a las espiras que le anteceden. Con los puntos internos se observa que la apertura continúa con la misma variación presente en las espiras que le anteceden, pudiéndose inferir a la trayectoria de crecimiento de la concha para las tres fases de descritas. Hay que señalar que ambos métodos pudieran verse afectados por las diferencias en el número de espiras entre y dentro de las especies, ya que el número de puntos clave independientemente debe mantenerse fijo, y se pudiera variar la posición del punto del ápice con respecto a los otros puntos.

Se puede concluir que con la ubicación de puntos clave externos e internos se describen de igual manera la variación morfológica de la concha en las especies del género *Cerion*; aunque los puntos clave internos, mediante las láminas de distorsión, permiten hacer una inferencia más completa sobre las diferencias en el crecimiento de la concha.

AGRADECIMIENTOS

A Emerio Curbelo y al personal de colecciones del Instituto de Ecología y Sistemática por su colaboración. A Dennis Denis por su apoyo y consejos en la confección de este trabajo.

LITERATURA CITADA

- Espinosa, J. y J. Ortea (1999) Moluscos terrestres del archipiélago cubano. *Avicennia*. Suplemento 2: 1-137.
- Galler, L., y S. Gould (1979) The morphology of a "hibrid zone" in *Cerion*: variation, cline, and an ontogenetic relationship between two "species" in Cuba. *Evolution* 33(2): 714-727.
- Goodfriend, G. A. (1986) Variation in land-snail shell form and size and its causes: a review. *Syst. Zool.* 35 (2): 204-223.
- Guerra-Varela, J., I. Colson, T. Backeljau, K. Breugelmans, R. Hughes y E. Rolan-Alvarez (2009) The evolutionary mechanism maintaining shell shape and molecular differentiation between two ecotypes of the dogwhelk *Nucella lapillus*. *Evol. Ecol.* 23:261-280.
- Johnston, M., E. Tabachnick y F. Bookstein (1991) Landmark-based morphometrics of spiral accretionary growth. *Paleobiology*. 17(1):19-36.
- Nava, M. y H. Severeyn (2011) Variaciones morfológicas en la concha del gasterópodo *Pyrgophorus platyrachis* como posible respuesta a factores físico-químicos en el sistema de Maracaibo, Venezuela. *Ecotrópicos* 24(2):145-163.
- Rice, S. (1998) The bio-geometry of mollusc shells. *Paleobiology*. 24(1): 133-149.
- Rodríguez-Ochoa, A. (2014) Relación entre la distribución geográfica y los patrones morfológicos en el género *Cerion* (Mollusca: Cerionidae) en Cuba. *Rev. Cub. Cien. Biol.* 3 (1): 59-67.
- Serb, J., A. Alejandrino, E. Otárola-Castillo y D. Adams (2011) Morphological convergence of shell shape in distantly related scallop species (Mollusca: Pectinidae). *Zool. J. Linn. Soc. Lond.* 163: 571-584
- Stone, J. (1995) CerioShell: A Computer program designed to simulate variation in shell. *Paleobiology*. 21(4): 509-519.
- Stone, J. (1996) Computer simulated Shell size and shape variation in the Caribbean land snail genus *Cerion*: a test of geometrical constraints. *Evolution*. 50: 341- 347.
- Stone, J. (1998) Landmark-Based Thin-Plate Spline Relative Warp Analysis of Gastropod Shells. *Syst. Biol.* 47(2): 254- 263.
- Teso, V., Signorelli H., y G. Pastorino (2011) Shell phenotypic variation in the southwestern Atlantic gastropod *Olivancillaria carcellesi* (Mollusca: Olividae). *J. Mar Biol Assoc. UK.* 91 (5): 1089 – 1094.
- Vogler, R., A. Beltramino, D. Gutiérrez-Gregoric, J. Peso y M. Griffin (2012) Moluscos neotropicales amenazados: análisis de diferencias de forma en tres caracoles endémicos del río Alto Paraná mediante morfometría geométrica. *RMB.* 83: 1045-1052



Editor para correspondencia: Dr. Alejandro Barro Cañamero