

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Análisis del perfil de coloración de alas de lepidópteros diurnos (Lepidoptera: Papilionoidea), en dos bosques secos de Guatemala (Parque Regional Municipal Los Cerritos, Baja Verapaz; Reserva Natural Heloderma, Zacapa)

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por

Anna Rocío León Coloma

para optar al grado académico de

Licenciada en Biología

Guatemala,

2022

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

Análisis del perfil de coloración de alas de lepidópteros diurnos
(Lepidoptera: Papilionoidea), en dos bosques secos de Guatemala
(Parque Regional Municipal Los Cerritos, Baja Verapaz; Reserva
Natural Heloderma, Zacapa)

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por

Anna Rocío León Coloma

para optar al grado académico de

Licenciada en Biología

Guatemala,


2022


Vo.Bo.:

(f): 吉本治一郎
Dr. Jiichiro Yoshimoto

Tribunal Examinador:

(f): 吉本治一郎
Dr. Jiichiro Yoshimoto

(f): 
MSc. Gabriela Alfaro
Marroquín

(f): 
Lic. Alejandro Vásquez Contreras

Fecha de aprobación: Guatemala, 9 de diciembre de 2022

PREFACIO

Este trabajo de graduación está dedicado a Dios, a mis papás, a mi abuela, a mis hermanas, a mi novio y a mis amigos. Su apoyo ha sido parte fundamental para la elaboración de esta tesis y la culminación de mi carrera universitaria. Cada uno me ha inspirado a soñar en grande y trabajar arduamente por alcanzar mis metas. El acompañamiento y ánimo que siempre me dieron fue mi motivación de cada día.

Agradezco al Lic. Alejandro Vásquez, mi asesor secundario, quien puso todo su tiempo y empeño en apoyarme grandemente en el desarrollo de este proyecto desde su vasta experiencia en estadística y ciencia de datos. Asimismo, agradezco a la MSc. Gabriela Alfaro, mi asesora secundaria, quien se involucró con mucho entusiasmo en este trabajo y me brindó su apoyo, tiempo y acompañamiento en el desarrollo de este.

Por último, quiero dedicar un agradecimiento especial a PhD. Jiichiro Yoshimoto, mi asesor principal, que desde el día uno ha demostrado su interés y apoyo hacia esta investigación. Gracias a sus estudios previos, sus ideas, su amplio conocimiento en el campo de las mariposas y su acompañamiento, fue posible la elaboración del proyecto. Agradezco a su persona y a la Colección de Artrópodos del Laboratorio de Entomología Sistemática, por permitirme utilizar las muestras de mariposas del bosque seco de su colección como objeto de estudio.

Agradezco también a mi alma máter, la Universidad del Valle, y al departamento de Biología y sus catedráticos, por darme las herramientas para crecer académica e intelectualmente y hacer posible esta meta.

ÍNDICE

ÍNDICE.....	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE CUADROS	viii
LISTA DE APÉNDICES	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT.....	x
I. INTRODUCCIÓN	1
A. Antecedentes	1
B. Justificación	16
C. Objetivos.....	19
D. Hipótesis	19
II. MARCO METODOLÓGICO	20
A. Localidad de estudio.....	20
B. Fotografías y calibración	23
C. Cuantificación de color	25
D. Análisis de conglomerados.....	27
E. Coloraciones prevalentes y análisis de similitud	28
III. RESULTADOS.....	29
A. Cuantificación de perfiles de coloración	29
B. Análisis de conglomerados.....	33
C. Pruebas de hipótesis	43
IV. DISCUSIÓN	52
A. Cuantificación de color (Nymphalidae).....	52
B. Cuantificación de color (Géneros <i>Urbanus</i> , <i>Hemiargus</i> y <i>Pyrisitia</i>)	54
C. Relación con variables ambientales y otras variables descriptivas	55
D. Métodos de análisis de coloración.....	59
V. CONCLUSIONES	62
VI. RECOMENDACIONES Y FUTUROS PASOS	63
VII. REFERENCIAS.....	66
VIII. APÉNDICES.....	76

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Plano y nomenclatura de elementos y compartimentos de alas de Nymphalidae.....	5
FIGURA 2. Fotografías de especies de <i>Urbanus</i>	14
FIGURA 3. Fotografías de especies de <i>Pyrisitia</i>	15
FIGURA 4. Fotografías de especies de <i>Hemiargus</i>	16
FIGURA 5. Fotografías del paisaje del Parque Municipal Regional Los Cerritos.....	21
FIGURA 6. Fotografías del paisaje de la Reserva Natural Heloderma.....	22
FIGURA 7. Mapa de las dos localidades de bosque seco.....	22
FIGURA 8. Ejemplo de composición y arreglo estandarizado para la toma de fotografías.....	24
FIGURA 9. Ejemplo de fotografía enmascarada sobre un color verde uniforme.....	24
FIGURA 10. Ejemplo de histograma de perfil de coloración de <i>Siproeta stelenes</i>	26
FIGURA 11. Ejemplo de gráfica de píxeles según sus coordenadas.....	27
FIGURA 12. Especímenes fotografiados y sus perfiles de coloración.....	31
FIGURA 13. Especímenes fotografiados y perfiles de coloración de Nymphalidae.....	33
FIGURA 14. Dendrograma del análisis de conglomerados Nymphalidae (dorsal).....	35
FIGURA 15. NMDS Nymphalidae (dorsal).....	34
FIGURA 16. Dendrograma del análisis de conglomerados Nymphalidae (ventral).....	36
FIGURA 17. NMDS Nymphalidae (ventral).....	39
FIGURA 18. Dendrograma del análisis de conglomerados 3 géneros (dorsal).....	40
FIGURA 19. NMDS 3 géneros (ventral).....	41
FIGURA 20. Dendrograma del análisis de conglomerados 3 géneros (ventral).....	42
FIGURA 21. NMDS 3 géneros (ventral).....	43
FIGURA 22. Gráfica de proporciones de los 9 grupos de coloración por época.....	47
FIGURA 23. Gráfica de proporciones de los 9 grupos de coloración por mes.....	39
FIGURA 24. Gráfica de proporciones de los 9 grupos de coloración por subfamilia.....	51

LISTA DE CUADROS

CUADRO 1. Distribución regional de la diversidad de especies de Lepidoptera.	2
CUADRO 2. Funciones básicas del paquete Colordistance y su descripción.	25
CUADRO 3. Resumen de información de los individuos fotografiados.....	29
CUADRO 4. Análisis de Similitud (ANOSIM).....	44

LISTA DE APÉNDICES

APÉNDICE 1. Cartilla de color estándar utilizada para calibración de color de las fotografías	76
APÉNDICE 2. Ejemplo de mariposa <i>Manataria maculata</i> con daño estructural.	76
APÉNDICE 3. Resumen de información de especies fotografiadas (familia Nymphalidae).....	77
APÉNDICE 4. Resumen de información de especies no ninfálicas fotografiadas.....	79
APÉNDICE 5. Ejemplo de base de datos de valores RGB	79
APÉNDICE 6. Conformación de grupos del análisis de conglomerado (Nymphalidae, dorsal)	80
APÉNDICE 7. Conformación de grupos del análisis de conglomerado (Nymphalidae, ventral)	84
APÉNDICE 8. Conformación de grupos del análisis de conglomerado (géneros <i>Pyrisitia</i> , <i>Urbanus</i> y <i>Hemiargus</i> , dorsal).....	87
APÉNDICE 9. Conformación de grupos del análisis de conglomerado (géneros <i>Pyrisitia</i> , <i>Urbanus</i> y <i>Hemiargus</i> , ventral).	88
APÉNDICE 10. Prueba de hipótesis estadística por pares con Adonis de vegan.....	90
APÉNDICE 11. Vista dorsal de individuos fotografiados de <i>Pyrisitia proterpia</i>	91

RESUMEN

Las mariposas presentan una gran diversidad de colores y formas en las alas, por tal razón han sido objeto de estudio en múltiples investigaciones biológicas. Varios autores han reportado polifenismos estacionales y los cambios en patrones de coloración inducidos fisiológicamente mediante choques térmicos y de estrés (*e.g.* Brakefield y Larsen, 1984; Hiyama, *et al.*, 2012; Kertész, *et al.*, 2017; Burg y Reed, 2021). En un bosque estacionalmente seco de Guatemala, observaciones de campo han detectado que las coloraciones prevalentes de alas de lepidópteros diurnos en la época lluviosa difieren respecto a las coloraciones prevalentes en la época seca (J. Yoshimoto, observación personal). El objetivo de la presente investigación es explorar si existe un efecto de la estación del año sobre el perfil de coloración de alas de lepidópteros diurnos colectados desde 2011 a 2021 en dos bosques secos de Guatemala: Reserva Natural Heloderma en Cabañas, Zacapa y Parque Regional Municipal Los Cerritos en Salamá, Baja Verapaz. Se utilizó el paquete de R *Colordistance* (Weller y Westneat, 2019) para cuantificar el perfil de colores en las alas de mariposas mediante el procesamiento de imágenes calibradas. Los resultados del análisis de conglomerados y de las pruebas de hipótesis basadas en el análisis de similitud (ANOSIM) no mostraron una diferencia significativa en las coloraciones de alas de mariposas entre la época seca y lluviosa, no obstante, sí se detectaron diferencias de coloraciones entre los diferentes meses de colecta. Un hallazgo interesante de la presente investigación es que las especies con colores menos conspicuos (café y grises) en la subfamilia Satyrinae de la familia Nymphalidae prevalecen en la época seca, lo cual sugiere que el cambio drástico en la cobertura vegetal durante la época seca favorece la prevalencia de mariposas con colores más crípticos.

PALABRAS CLAVE

Coloración de alas, Lepidoptera, cuantificación de color, análisis de conglomerados, ANOSIM, bosque estacionalmente seco.

ABSTRACT

Butterflies present a great diversity of colors and morphology on their wings, thereby being good materials for multiple biological investigations. Several authors have reported seasonal polyphenisms and changes in color patterns which were physiologically induced by thermal and stress shocks (e.g. Brakefield & Larsen, 1984; Hiyama, *et al.*, 2012; Kertész, *et al.*, 2017; Burg & Reed, 2021). In a seasonally dry forest in Guatemala, field observations have detected that the prevalent colorations of diurnal lepidopteran wings in the rainy season differ from the colorations prevalent in the dry season (J. Yoshimoto, personal observation). In the present study I examined whether there is a seasonal effect on wing coloration of diurnal lepidopterans collected from 2011 to 2021 in two dry forests of Guatemala: Reserva Natural Heloderma in Cabañas, Zacapa and Los Cerritos Regional Municipal Park in Salamá, Baja Verapaz. The R Colordistance package (Weller & Westneat, 2019) was used to quantify a color profile in butterfly wings by processing calibrated images. The results of the cluster analysis and the hypothesis tests based on the Analysis of Similarity (ANOSIM) showed that there is no significant difference in the colorations of butterfly wings between the dry and rainy seasons, although significant differences in coloration were detected among the different months of sampling. Interestingly, species with less conspicuous colors (browns and grays) in the subfamily Satyrinae of the family Nymphalidae occurred more in the dry season, suggesting that the drastic change in vegetation cover during the dry season favors the prevalence of butterflies with more cryptic colors.

KEYWORDS

Wing coloration, Lepidoptera, color quantification, cluster analysis, ANOSIM, seasonally dry forest.

I. INTRODUCCIÓN

El orden Lepidoptera es un grupo de insectos con una diversidad de colores y formas inigualable. La evolución de las alas cubiertas de escamas, la pigmentación y los sistemas de patrones espaciales ha dado lugar a una variedad espectacular de patrones de color de alas compuestos por varios conjuntos de elementos que evolucionan de forma independiente (Brunnetti, *et al.*, 2001). A pesar de esta diversidad, las mariposas son organismos muy homogéneos, estructural y ecológicamente hablando, por lo que han sido utilizados como organismos modelo en una amplia gama de investigaciones en disciplinas relacionadas (Kristensen, *et al.*, 2007).

A. Antecedentes

1. Información general de Lepidoptera

a. Taxonomía y filogenia

El nombre científico “Lepidoptera” proviene del latín *lepidó-* y del antiguo griego *lepis-*, que significa escamas y *-pteron*, que significa alas. Es decir, según su etimología, el nombre de este orden significa insectos con alas escamosas (Perveen, 2017).

El orden Lepidoptera es uno de los grupos de organismos más estudiados, es un orden rico en especies y su distribución se extiende hacia casi todas las regiones y hábitats. A pesar de su diversidad inigualable, son insectos mucho más homogéneos, estructural y ecológicamente, que los otros grandes grupos. Por tal razón, los lepidópteros se han utilizado a menudo como organismos modelo en una amplia gama de investigaciones en disciplinas relacionadas (Kristensen, *et al.*, 2007).

En cuanto a su taxonomía, se ha aceptado que es un grupo monofilético. La principal línea de evidencia que apoya su monofilia es el conjunto de sinapomorfías presentes en sus linajes basales. Asimismo, su jerarquía dentro del grupo taxonómico de insectos (clase Ectognatha) está bien establecida. Se reconoce a los lepidópteros como grupo hermano a Trichoptera, con el cual constituye el taxón Amphiesmenoptera (Kristensen, 1998; Kristensen *et al.*, 2007). Sin embargo, hasta el momento, no se ha realizado una

filogenia completa para el orden Lepidoptera. Si bien es cierto, algunas familias y subfamilias han sido investigadas a detalle recientemente (*e.g.* Pieridae, Nymphalinae, Riodininae), mediante métodos moleculares, sin embargo, para la mayoría de los otros grupos (*e.g.* Lycaenidae), las clasificaciones sistemáticas se basan en rasgos morfológicos como las escamas (Beck y Fiedler, 2009)

b. Diversidad de mariposas

La diversidad de especies de mariposas en proporción al área, es considerablemente más alta tanto en la región neotropical como en la región indoaustraliana, a comparación del resto de regiones biogeográficas (Kristensen, *et al.*, 2007). El Neotrópico alberga la mayor diversidad de mariposas de cualquier región biogeográfica mundial importante (Heppner, 2004).

CUADRO 1. Distribución regional de la diversidad de especies de Lepidoptera. PAL: Paleártico; NEA: Neártico; NET: Neotropical; AFT: Afrotropical; INA: Indoaustraliano

	PAL	NEA	NET	AFT	INA
Especies	22,465	11,532	44,791	20,491	47,286
Área (mi ²)	18,751	8,817	7,202	9,796	7,449
Especies/área	1.2	1.3	6.3	2.1	6.3

Fuente: Kristensen, *et al.* (2007).

c. Superfamilia Papilionoidea

Coloquialmente, se les conoce como “mariposas diurnas” a aquellas que vuelan de día, y “mariposas nocturnas” o “palomillas” a aquellas que vuelan de noche. Sin embargo, estas no son características taxonómicas reales que las separe o agrupe. Aunque hay muchas especies de mariposas nocturnas que vuelan de día, se considera que únicamente las mariposas pertenecientes a la superfamilia Papilionoidea (incluye la familia Hesperiiidae; van Nieukerken *et al.*, 2011) son en realidad mariposas diurnas (Murillo, 2008).

Las mariposas diurnas (Lepidoptera: Papilionoidea) cumplen roles ecológicos muy relevantes, como la polinización florística, ser alimento para otros animales, regular el crecimiento foliar de algunas plantas, entre otros (Silva, 2012). Además de cumplir una

función importante en la renovación de la vida silvestre, las mariposas diurnas son excelentes bioindicadores debido a su alta sensibilidad a cambios de factores ambientales como la temperatura, precipitación, nivel de luminosidad y humedad (Legal, *et al.*, 2020).

2. Coloración y patrones en alas de Lepidoptera

a. El color en organismos biológicos

El color es un rasgo que guarda una riqueza de información y conocimientos sobre la biología de los organismos en temas como el camuflaje, mimetismo, señalización, aposematismo, polinización, selección sexual, termorregulación, entre otros (Weller y Westneat, 2019). Su estudio ha sido muy relevante desde los inicios de la ciencia, por ejemplo, el uso de fenotipos de color como marcadores genéticos aplicados en el estudio de los procesos de desarrollo y selección natural permitió el surgimiento de los principales postulados de la genética y evolución (Caro, *et al.*, 2017).

Más recientemente, se ha prestado especial atención a la percepción del color, partiendo del principio que otros animales perciben el mundo y los colores de manera distinta a los humanos, en particular la recepción de longitudes de onda ultravioleta. A diferencia de los ojos de organismos vertebrados, los ojos de la mayoría de los invertebrados se caracterizan por ser compuestos, compactos y livianos, lo cual les proporciona un amplio campo de visión con alta resolución temporal (Caro, *et al.*, 2017).

Además de las ventajas metodológicas que presenta el estudio de los rasgos de color en organismos biológicos, su aplicación en la conservación ha sido desarrollado en dos ejes principalmente. Primero, se están desarrollando investigaciones para buscar soluciones que reduzcan el conflicto entre la vida silvestre y los humanos, basándose en el principio de la percepción de color por parte de los animales; por ejemplo, la reducción de colisión de aves en edificios mediante el uso de vidrios estampados con componentes reflectores de luz UV (Madliger, *et al.*, 2016). Segundo, las coloraciones llamativas en organismos como la mariposa monarca (*Danaus plexippus*) le ha otorgado el papel de especie bandera para la conservación a nivel mundial (Caro, *et al.*, 2017).

b. Escamas y coloración de alas en mariposas

Las escamas de mariposas cubren la cabeza, el tórax, el abdomen, las alas y las patas de estos insectos. En general, pueden ser lamelares o en forma de cuchilla y se fusionan al cuerpo mediante un pedicelo, mientras que otras escamas especializadas pueden constituir una apariencia de pelo o características sexuales secundarias. Las escamas cumplen una diversidad de roles, desde ayudar en el vuelo tipo planeo, hasta cumplir funciones de termorregulación, producción de feromonas, aislamiento y protección (Perveen, 2017).

El color de las mariposas puede ser el resultado de dos mecanismos: 1) *directa*: escamas que contienen los pigmentos de color o 2) *indirecta*: coloración estructural de las escamas mediante mecanismos como cristal fotónico y difracción (Perveen, 2017; Kertész, *et al.*, 2017). Las células de la escama epidérmica de un ala son morfológicamente homogéneas y "fijadas" en una superficie bidimensional sin migración celular cuando se determina el patrón de color. El patrón se determina principalmente inmediatamente antes y después de la pupación, siguiendo la información posicional de cada célula de la escama (Otaki y Yamamoto, 2004). La coloración de las alas de mariposas se debe en gran parte a la melanización; la melanina es un polímero complejo rico en nitrógeno, es un rasgo adaptativo y su síntesis puede verse limitada por la limitación de recursos (Echeverría y Hulshof, 2019).

La mayoría de especies de mariposas pueden identificarse mediante el patrón de coloración de sus alas, lo que da evidencia de una gran radiación evolutiva de patrones. Recientemente, se han desarrollado métodos efectivos que permiten analizar los mecanismos mediante los cuales se produce la gran diversidad de patrones, su control genético y evolución (Westerman, *et al.*, 2018; Sekimura y Nijhout, 2017). En muchos casos, parece que los patrones de color han evolucionado como resultado de una respuesta al estrés ambiental (Hiyama, *et al.*, 2012).

c. “Plano base” de mariposas

Schwanwitsch (1924) y Süffert (1927) fueron los primeros en proponer el esquema denominado “Plano Base de Ninfálidos” (PBN) o “Plano Corporal” (trad. “Nymphalid Groundplan”, NGP), el cual ha recibido críticas y correcciones en años posteriores (*e.g.*

Otaki, 2012). Este esquema establece que los sistemas de patrones de coloración las mariposas se componen de un sistema de simetría básico, a partir del cual han surgido modificaciones que generan la gran diversidad de colores y patrones (Otaki, 2009). Aunque el esquema originalmente fue nombrado en alusión a la familia Nymphalidae, recientemente se ha determinado que el mismo PBN es aplicable a todas las mariposas al menos del clado Macrolepidoptera (Suzuki, 2017). El PBN propone tres sistemas de simetría que se disponen de forma paralela uno al lado del otro: los sistemas de simetría basal, central y de borde; además, establece sistemas derivados como las bandas submarginales (trad. SMB) y marginales (trad. MB) y la banda de la raíz del ala (trad. WRB) (Otaki, 2008, 2012).

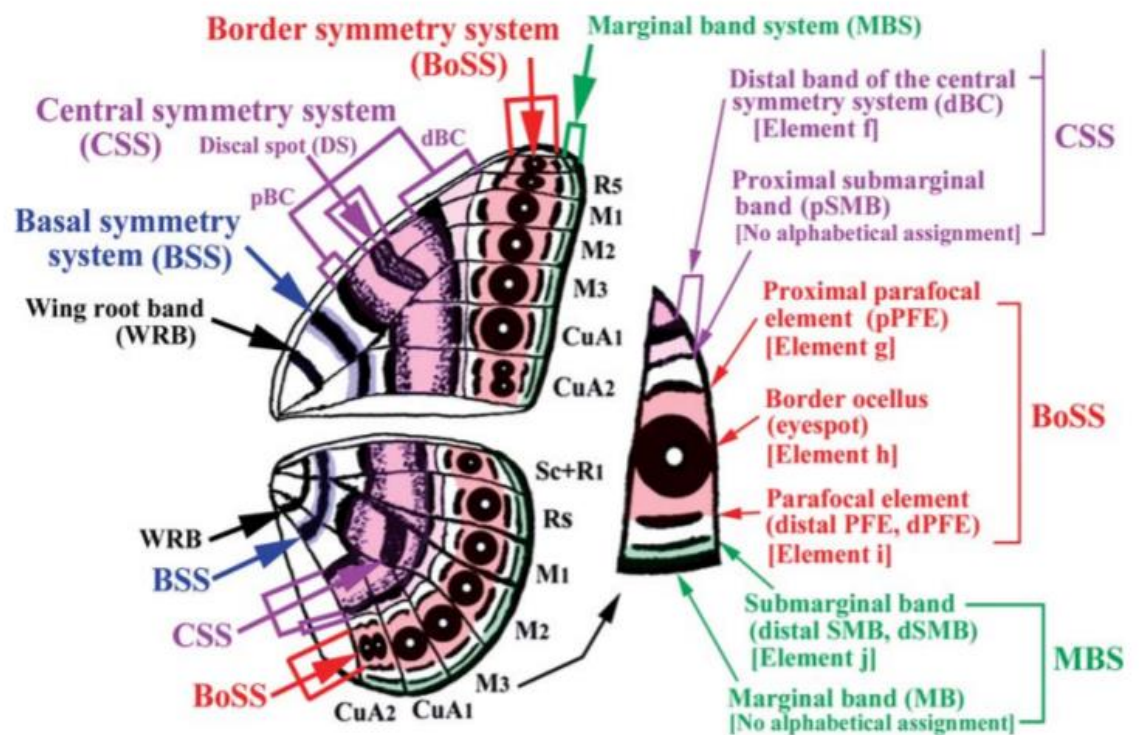


FIGURA 1. Plano y nomenclatura de elementos y compartimentos de alas de Nymphalidae.

Fuente: Otaki (2012).

Se presenta el esquema de PBN propuesto por Otaki (2012) resultante de la revisión de los planos corporales planteados en Nijhout (1991, 2001) y Otaki (2009) (Fig. 1). El patrón de color en toda el ala se compone principalmente de tres sistemas de simetría: el sistema de simetría basal (BSS, en azul), el sistema de simetría central (CSS, en morado) y el sistema de simetría de borde (BoSS, en rojo). Las bandas marginales y submarginales son consideradas elementos del sistema de bandas marginales (MBS, en verde). La banda submarginal proximal es parte de la banda distal del sistema de simetría central. También se muestra la banda de la raíz del ala (WRB, en negro).

d. Aspectos adaptativos y evolutivos de los patrones en las alas

La evolución de la actividad diurna en lepidópteros adultos abrió el campo para el uso generalizado del color como elemento de señalización intra e interespecífica. La diversificación morfológica de determinados grupos (*e.g.* Nymphalidae) ha permitido una mejor comprensión sobre cómo los patrones de coloración en las alas mediante la evolución de adaptaciones como el aposematismo, mimetismo y camuflaje (Penz, 2017). El mimetismo involucra a un organismo (imitador) que simula señales de otro organismo (modelo) que son percibidas como señales de interés por parte de un tercer organismo (operante/depredador) (Vane-Wright, 1980). Específicamente, el mimetismo batesiano es muy común dentro del grupo de mariposas y aparece en casos en el que las especies apetecibles se protegen de los depredadores debido a su parecido con las especies aposemáticas (Kunte, 2009).

Las mariposas pueden experimentar una rápida evolución adaptativa. Por lo tanto, los linajes son capaces de acumular modificaciones sustanciales en los planos de simetría y elementos sustanciales del patrón de las alas en escalas de tiempo relativamente cortas (Penz, 2017). Asimismo, la alta diversidad de patrones y formas se debe en gran manera a que son rasgos sujetos a la selección natural ejercida por la presión de los depredadores (Otaki y Yamamoto, 2004).

El PBN ha proporcionado una base para la comprensión y revelación de aspectos macroevolutivos de los patrones de coloración de las alas de mariposas (*e.g.* patrones de

camuflaje en Suzuki, 2017). Dichos fundamentos de morfología comparada basada en PBN para identificar elementos homólogos entre especies, en combinación con métodos comparativos filogenéticos, ha permitido revelar los pasos evolutivos secuenciales que han dado lugar a patrones especiales en algunas especies, como la imitación de hojas (Suzuki, 2017).

e. Inducción de cambios de coloración y morfología en alas de mariposas

Retomando el tema del PBN, se cree que cada sistema de simetría se forma a partir de la información posicional que se especifica mediante un gradiente del morfógeno putativo emitido en el estado larval y de pupación (Otaki, 2008). Bajo tal principio, las alas de las mariposas han sido sometidas a extensas manipulaciones experimentales (Otaki, 2004).

Los cambios morfológicos en las alas de mariposas pueden generarse a partir de: la inducción de un shock térmico, ya sea con choque frío (Nijhout, 1984) o con choque de calor (Otaki, 2007); la inducción de químicos tales como el tungstato de sodio (Otaki y Yamamoto, 2004). Estos tratamientos fisiológicos pueden transformar patrones de color normales estereotipados en patrones inusuales o modificados (Otaki, 2008). Los mecanismos detrás de dichos cambios inducidos han sido objeto de estudio para muchas investigaciones, y se ha descrito que, en su mayoría, el mecanismo de acción de los inductores trabaja a nivel hormonal de las mariposas. Por ejemplo, la secreción endocrina de CSH (hormona del choque por frío) es sensible a una amplia gama de choques de temperatura, lo que luego afecta la interpretación celular de la información posicional del ala que se emite desde las ubicaciones focales (Otaki, 2007).

3. Polifenismo estacional en mariposas

El polifenismo es el fenómeno en el que dos o más fenotipos distintos son producidos por el mismo genotipo. Estos fenotipos diferenciales pueden ser: estacionales, dependientes de la densidad, seleccionados sexualmente y por la dieta (Simpson y Sword, 2011). Los polifenismos pueden surgir a partir de una norma de reacción cuando el ambiente es discontinuo o a partir de cambios en las vías de desarrollo que producen una norma de reacción discontinua (Nijhout, 2003).

El término “polifenismo estacional” hace referencia a un fenotipo o patrón que se repite anualmente en generaciones sucesivas bajo la presión de algún control ambiental (Brakefield y Larsen, 1984). Las mariposas tienen tiempos de vida cortos, lo que implica que pueden vivir toda su vida en una misma temporada o estación climática. Asimismo, las generaciones que emergen en diferentes estaciones están expuestas a entornos ecosistémicos muy diferentes y por consiguiente, se verán afectadas por presiones selectivas diferentes también. La combinación de estos factores promueve la evolución de polifenismos estacionales, que son un tipo de plasticidad fenotípica adaptativa que responde a los ambientes predecibles y recurrentes, pero alternativos que las diferentes generaciones experimentan en diferentes épocas del año (Monteiro, 2017).

Se ha reportado que los polifenismos estacionales en los patrones de coloración son el producto de cambios en el tiempo de secreción de hormonas como la ecdisona, una de las principales hormonas involucradas en la muda de los insectos (Burg y Reed, 2021). En ese sentido, los patrones de polifenismo observados en algunas mariposas, pueden considerarse una expresión de heterocronía plástica, lo que implica que el sistema de patrones puede evolucionar para refinar o alterar aún más el fenotipo modificado (Nijhout, 2017).

Brakefield y Larsen (1984) condujeron uno de los estudios pioneros sobre los polifenismos estacionales que exhiben algunas especies de mariposas (*Melanitis leda*, *Orsotrioena medus* y *Junonia almana*). Sus resultados demuestran que, en la época lluviosa, estas mariposas tienden a mostrar patrones prominentes de manchas oculares marginales, que cumplen la principal función de ahuyentar a ciertos depredadores. Contrariamente, en la época seca tienen a mostrar manchas muy pequeñas o nulas y son totalmente crípticas. En ese sentido, los autores hipotetizan que los fenotipos alternativos representan respuestas a las diferencias de comportamiento, medio ambiente y naturaleza de la depredación (Brakefield y Larsen, 1984).

Más recientemente, se reportó que algunos patrones de color de las alas y aberraciones en el fenotipo pueden producirse fisiológicamente en respuesta al estrés ambiental, y pueden carecer de una función significativa. Este hallazgo se determinó a partir del análisis de otros tres casos específicos: 1) inducción de patrones de color modificados en

Vanessa indica a partir de tratamientos de temperatura; 2) inducción de patrones de color modificados en *Vanessa cardui* a partir de tratamientos de estrés; y 3) migración de *Zizeeria maha* a sitios con temperaturas más bajas ha resultado en fenotipos similares a los inducidos mediante shocks de temperatura (Hiyama, *et al.*, 2012).

Se ha descrito que los polimorfismos observados en mariposas pueden ser el resultado de mecanismos que están regulados por variaciones en los patrones de secreción hormonal y patrones de desarrollo, que se ven afectados por variables como la temperatura, dieta, fotoperiodo, pH, entre otros. Por ejemplo, un polifenismo estacional puede ser una adaptación al frío o al estrés por nutrientes, pero típicamente es inducido por un cambio en el fotoperíodo (Nijhout, 2003). Tales variables ambientales se traducen señales endocrinas, encargadas de activar las vías de desarrollo alternativas. Los rasgos del patrón de las alas (color, forma del ala y tamaño de las manchas oculares) pueden evolucionar de forma independiente para responder a estas señales endocrinas, lo que permite una mejor adaptación a las condiciones específicas de la época o estación del año (Burg y Reed, 2021).

La evolución de estas adaptaciones fenotípicas puede seguir dos caminos: 1) resultar en la fijación del fenotipo en una población, eliminando por lo tanto, su plasticidad; o bien, 2) resultar en la explotación de la plasticidad. Si la sensibilidad fenotípica a la variación estacional afecta negativamente el *fitness* (trad. aptitud) de una especie, lo más plausible es que será eliminada por la evolución de mecanismos que reduzcan la sensibilidad del fenotipo a una variable ambiental particular (Nijhout, 2003).

4. Efectos del cambio climático

El cambio climático y sus efectos han sido objeto de estudio en infinidad de investigaciones en las últimas décadas. Se predice que este fenómeno será de las principales causas de extinción, puesto que afecta directamente la distribución de las especies, su fenología, la composición de especies y la interacción biótica en la biosfera (Kwon, *et al.*, 2021). En ese sentido, ha habido un creciente interés en investigar los posibles efectos de los factores ambientales inducidos por el cambio climático sobre los insectos (Rodrigues y Beldade, 2020) y más específicamente con mariposas, tanto a nivel

de individuo, como de población (Klockmann, *et al.*, 2017; Echeverría y Hulshof, 2019; MacLean, *et al.*, 2019; Davies, 2018; Kwon, *et al.*, 2021; Crossley, *et al.*, 2021; Bonoan, *et al.*, 2021; Zografou, *et al.*, 2021).

De lo anterior, han resultado hallazgos muy relevantes, la mayoría indicando un futuro negativo para las mariposas ante los escenarios del cambio climático. Por ejemplo, se determinó que los efectos de estrés por calor en la etapa de huevo durante el desarrollo de *Bicyclus anynana* ocasionan una disminución en la supervivencia, crecimiento y masa corporal (Klockmann, *et al.*, 2017). Además, se ha reportado que en varias mariposas silvestres, las temperaturas más altas durante la etapa tardía de las larvas tempranas y el desarrollo de las pupas después de la diapausa adelantan la emergencia de las mariposas, mientras que las temperaturas más altas al inicio del período de enfriamiento lo retrasan (Davies, 2019). Muchos estudios se han enfocado en los efectos del cambio climático en la fenología de lepidópteros. En general, sus hallazgos sugieren que los rasgos de las especies dan forma a las respuestas fenológicas de las mariposas al cambio climático y están vinculados a importantes impactos en la comunidad (Zografou, *et al.*, 2021).

5. Las colecciones biológicas

Las colecciones biológicas han surgido como una alternativa prometedora a las colecciones de campo para comprender los patrones macroecológicos. Los esfuerzos internacionales de digitalización han puesto a disposición del público millones de imágenes estandarizadas de lepidópteros de todo el mundo (Echeverría y Hulshof, 2019). El acceso a estas fuentes de información ha resultado en numerosas investigaciones que buscan monitorear los cambios morfológicos y en coloración en determinadas especies de mariposas a través del tiempo (*e.g.* Echeverría y Hulshof, 2019; MacLean, *et al.*, 2019; Kwon, *et al.*, 2021).

Algunos ejemplos de investigaciones pioneras en el uso de colecciones de mariposas para el monitoreo de cambios morfológicos a través del tiempo son: el uso de colecciones de museos digitalizadas para comprender los efectos del hábitat en la coloración de las alas de la monarca puertorriqueña (Echeverría y Hulshof, 2019) y el uso de especímenes de museo para rastrear cambios morfológicos a través del cambio climático (MacLean, *et*

al., 2019). La ventaja de ambas metodologías es que se puede abarcar una cantidad significativa de años (*e.g.* hasta 60 años de información disponible), con el fin de obtener resultados informativos sobre los efectos netos del cambio climático en la coloración e incluso tamaño de alas de mariposas. Los hallazgos de ambas investigaciones reportan cambios en el melanismo de las alas. Se sugiere que estos cambios en la concentración de melanina se deben a la reducida o aumentada absorción de la radiación solar y, por lo tanto, representan un riesgo de sobrecalentamiento o enfriamiento, dependiendo del contexto (Echeverría y Hulshof, 2019; MacLean, *et al.*, 2019).

6. Estudios de mariposas en Guatemala

La región Neotropical alberga la mayor diversidad de lepidópteros (*e.g.*, Heppner, 2004), por tal razón ha sido objeto de estudio por muchos años. A pesar de su importancia como medida ecológica, pocos estudios han documentado la distribución de la abundancia de especies en el espacio y tiempo de las comunidades tropicales (Devries y Walla, 2001). En el contexto guatemalteco, se han realizado relativamente pocos estudios que aborden la diversidad faunística de lepidópteros (Austin, *et al.*, 1996, 1998; Salinas-Gutiérrez, *et al.* 2009, 2012; Yoshimoto, *et al.*, 2018, 2019, 2021).

Austin *et al.* (1996) reportan 535 especies de Papilionoidea (incluyendo HesperIIDae; van Nieukerken, *et al.*, 2011) de la región norte del país, lo cual formó el primer inventario que comprende varios años de colecta de mariposas para Guatemala. Desde entonces, se han realizado investigaciones de mariposas diurnas, creando las listas de especies de HesperIIDae a nivel nacional (Austin, *et al.*, 1998; Barrios, *et al.*, 2006) y los inventarios de Papilionoidea a nivel regional (Salinas, 2010; Yoshimoto, *et al.*, 2018, 2019, 2021). Sin embargo, hay algunos esfuerzos científicos con mariposas nocturnas también. Tal es el caso de Monzón y Haxaira (2006), quienes reportaron un listado de 137 especies de mariposas nocturnas de la familia Sphingidae, y Monzón, *et al.* (2010) que presentaron un listado de 163 especies de mariposas de las familias Sphingidae, ArctIIDae y Saturniidae para la Reserva Refugio del Quetzal, Suchitepéquez, Guatemala.

Los bosques secos en Guatemala son un ecosistema peculiar con alta biodiversidad (CONAP-ZOOTROPIC-CECON-TNC, 2011; Ariano-Sánchez y Salazar, 2015). Se han realizado muestreos de mariposas diurnas principalmente en dos bosques secos de

Guatemala: en el Valle del Motagua, Zacapa (Yoshimoto, *et al.*, 2019) y en el Parque Municipal Regional Los Cerritos, Baja Verapaz (Yoshimoto, *et al.*, 2018). Los resultados de ambas investigaciones sustentan que existe una alta riqueza de mariposas, registrando un total de 139 y 166 especies, respectivamente (Yoshimoto, *et al.*, 2022). En todas estas investigaciones, generalmente hay reportes nuevos de especies para el país, indicando que más esfuerzos de investigación son necesarios.

7. Especies de estudio

a. Familia Nymphalidae

La familia Nymphalidae agrupa alrededor de 7200 especies cosmopolitas con una distribución que abarca todos los hábitats, exceptuando la Antártida y el Ártico (Freitas y Brown, 2004; Chacón y Montero, 2007). Su filogenia y las discusiones sobre sus clasificaciones taxonómicas inferiores han variado, entre ellos, Freitas y Brown (2004) proponen la clasificación en 13 subfamilias, reconocidas como monofiléticas, a excepción de Biblidinae y Satyrinae, que se proponen como grupos parafiléticos.

Los adultos de esta familia varían de tamaños pequeños a muy grandes (25-130 mm) y se caracterizan por tener las patas anteriores reducidas, dando la apariencia de tener solamente cuatro. En su mayoría son nectarívoros, pero hay algunas especies que consumen savia, líquido de frutas fermentadas, carroña y heces (Yoshimoto, *et al.*, 2015).

En Guatemala se han reportado al menos 337 especies de ninfálidos (Salinas-Gutiérrez, *et al.*, 2012; Salinas-Gutiérrez, 2013), lo que la hace la segunda familia más diversa de mariposas diurnas en Guatemala (la primera es Hesperidae) (Yoshimoto, *et al.*, 2015). Dentro de las seis familias reportadas en el bosque seco de Guatemala, la familia Nymphalidae es la más rica en Los Cerritos y la segunda más rica en la Reserva Heloderma (Yoshimoto, *et al.*, 2022). Se tiene registro de 66 especies de ninfálidos que habitan en estos dos sitios, las cuales se distribuyen en nueve subfamilias: Libytheinae, Biblidinae, Cyrestinae, Charaxinae, Danainae, Heliconiinae, Limenitidinae, Nymphalinae y Satyrinae (Yoshimoto, *et al.*, 2022). En cuanto a la fenología de los ninfálidos, se ha reportado un patrón estacional, en donde la riqueza de especies aumenta considerablemente en junio, alcanza un pico en septiembre y disminuye bruscamente en noviembre (Yoshimoto, *et al.*, 2019).

b. Género *Urbanus* (Hesperiidae: Eudaminae)

La familia Hesperiidae agrupa aproximadamente a 4000 especies distribuidas en 567 géneros a nivel mundial. Los lepidópteros de esta familia son comúnmente llamados “mariposas saltadoras”, tienen tamaños de pequeños a medianos (20-60 mm), un cuerpo robusto y veloso, una cabeza ancha y antenas separadas en la base (Yoshimoto, *et al.*, 2015). Son tan diferentes del resto de mariposas, que solían agruparse aparte en la superfamilia Hesperioidea; sin embargo, en el presente estudio se incluye la familia Hesperiidae en la superfamilia Papilionoidea, según van Nieukerken *et al.* (2011). Los hespéridos visitan desde terrenos abiertos con flores abundantes, hasta sitios con vegetación densa. Son especies nectarívoras y en ocasiones se alimentan de estiércol (Yoshimoto, *et al.*, 2015). En Guatemala, hay alrededor de 400 especies registradas (Austin, *et al.*, 1998; Barrios *et al.*, 2006).

Dentro de Hesperiidae, el género *Urbanus* pertenece a la subfamilia Eudaminae, y se agrupa en el clado con el género *Telegonus* y a su clado hermano de *Cecropterus* spp. de la subtribu Eudamina (Li, *et al.*, 2019). Existen 37 especies de *Urbanus* a nivel mundial, de las cuales cinco han sido reportadas en el bosque seco de Guatemala (Yoshimoto, *et al.*, 2022). Este género presenta mucha diversidad interespecífica, pues hay especies que presentan coloraciones muy metálicas en el dorso, mientras que otras presentan colores más crípticos (Fig. 2). Para este análisis se seleccionaron las tres especies que disponían con un mayor número de ejemplares dentro de la colección: *Urbanus dorantes dorantes* (Stoll, 1790), *Urbanus esmeraldus* (Butler, 1877) y *Urbanus viterboana* (Ehrmann, 1907).

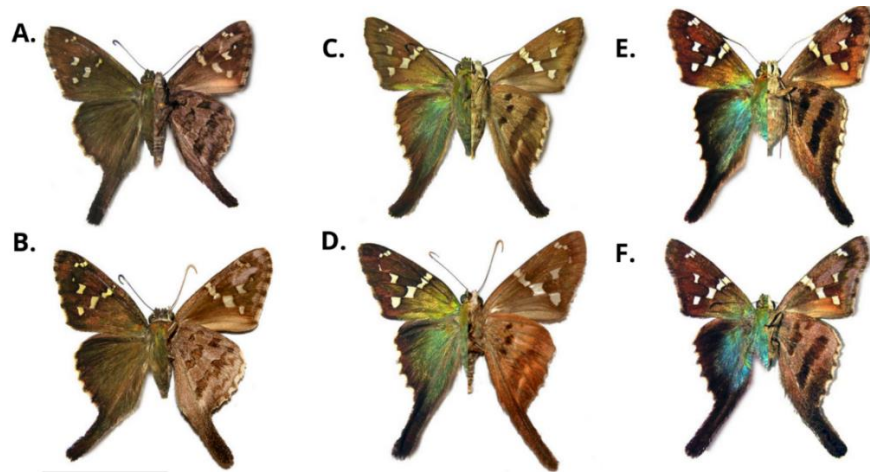


FIGURA 2. *Urbanus dorantes dorantes*, macho (A) y hembra (B); *Urbanus esmeraldus*, macho (C) y hembra (D); *Urbanus viterboana*, macho (E) y hembra (F). Todas las fotografías muestran ambos lados de la mariposa (izquierda: vista dorsal; derecha: vista ventral).

Fuente: Warren, et al. (2017).

c. Género *Pyrisitia* (Pieridae: Coliadinae)

La familia Pieridae agrupa a lepidópteros de mediano a gran tamaño (30-90 mm) con coloraciones entre blancas y amarillas, tienen un vuelo ágil y visitan con regularidad flores de plantas herbáceas y arbustivas (Yoshimoto, *et al.*, 2015). Actualmente comprende alrededor de 1,000 especies clasificadas en 85 géneros y 4 subfamilias a nivel mundial. Watt (1969) reportó que algunas especies de Pieridae como *Colias eurytheme* y *Nathalis iole* muestran un aumento de la deposición de melanina en los adultos de estación fría, causando un polimorfismo de color estacional. Se ha sugerido que este fenómeno evolucionó para maximizar la absorción de calor solar en las estaciones frías y minimizar el sobrecalentamiento en las estaciones cálidas.

De acuerdo con la clasificación sistemática con soporte molecular propuesta por Wahlberg, *et al.* (2014), los géneros *Eurema* y *Pyrisitia*, son grupos hermanos dentro de uno de los dos clados monofiléticos de la subfamilia Coliadinae. Las mariposas del género *Pyrisitia* habitan en áreas abiertas y son comunes en pastos y tierras de cultivo. Todas las especies de este género son fácilmente reconocibles por su pequeño tamaño y por la coloración amarilla, anaranjada o blanca de sus alas con un margen negro. Los

machos a menudo son más brillantes y pueden agregarse en suelo húmedo para absorber sustancias minerales (Krenn, *et al.*, 2010). Para el propósito de esta investigación, se utilizarán todas las especies del género que se colectaron en la Reserva Heloderma y Los Cerritos: *Pyrisitia proterpia* (Fabricius, 1775), *Pyrisitia dina westwoodi* (Boisduval, 1836) y *Pyrisitia nise nelphe* (R. Felder, 1869).

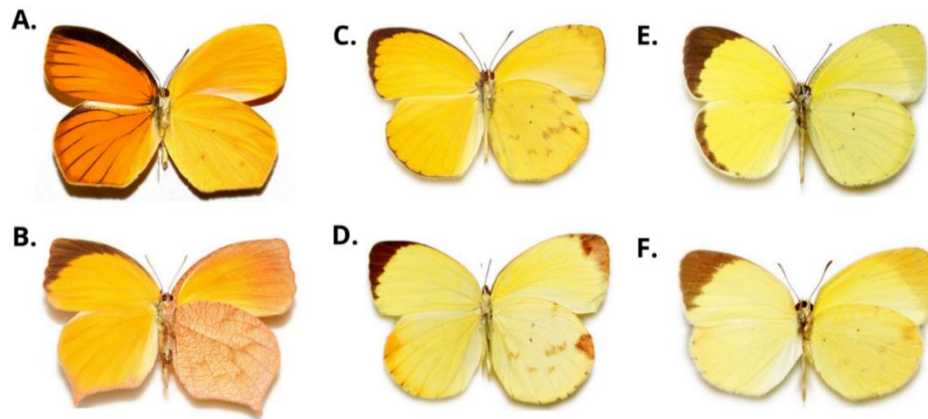


FIGURA 3. *Pyrisitia proterpia*, macho (A) y hembra (B); *Pyrisitia dina westwoodi*, macho (C) y hembra (D); *Pyrisitia nise nelphe*, macho (E) y hembra (F). Todas las fotografías muestran ambos lados de la mariposa (izquierda: vista dorsal; derecha: vista ventral).

Fuente: Warren, *et al.* (2017).

d. Género *Hemiargus* (Lycaenidae: Polyommatainae)

La familia Lycaenidae engloba especies que se caracterizan por tener alas pequeñas (20-50 mm), comúnmente con coloraciones metálicas en la parte dorsal y por ser nectarívoras. Además, presentan apéndices posteriores que, al posarse con las alas plegadas, dan la apariencia de ser antenas. En Guatemala hay 164 especies de licénidos reportados (Yoshimoto, *et al.*, 2015).

Se ha reportado que las mariposas del género *Hemiargus* y otros licénidos de climas más fríos tienen una emisividad de infrarrojo más baja que las mariposas de climas más cálidos (Krishna, *et al.*, 2021). Esta ventaja adaptativa permite que para las de clima frío, se limite la pérdida de calor y para las de climas cálidos se mejora el enfriamiento radiativo. Se sugiere que tal diferencia en emisividad se relaciona con diferencias en

coloración y microestructuras del ala de estos lepidópteros (Krishna, *et al.*, 2021). Las especies seleccionadas para esta investigación son: *Hemiargus ceraunus astenidas* (Lucas, 1857) y *Hemiargus hanno hanno* (Stoll, 1790), las cuales cuentan con un mayor número de especímenes colectados.

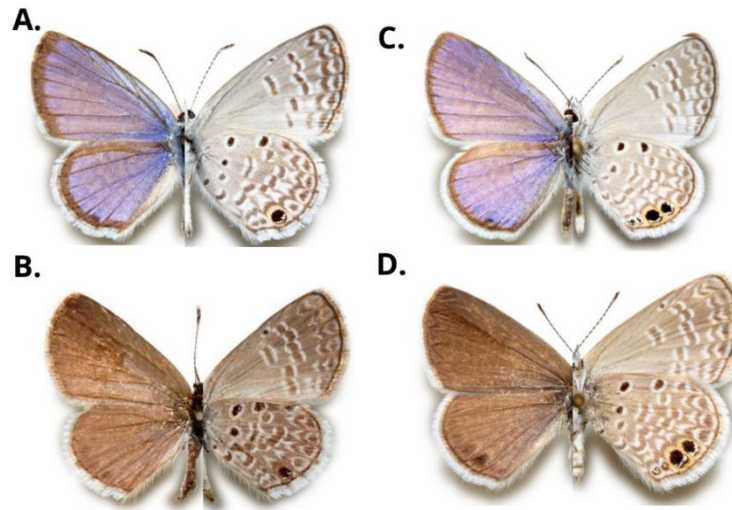


FIGURA 4. *Hemiargus ceraunus astenidas*, macho (A) y hembra (B) y *Hemiargus hanno hanno*, macho (C) y hembra (D). Todas las fotografías muestran ambos lados de la mariposa (izquierda: vista dorsal; derecha: vista ventral).

Adaptado de: Warren, *et al.* (2017).

B. Justificación

El color es un rasgo rico en información y ha proporcionado innumerables conocimientos en biología, en aspectos como el camuflaje, mimetismo, polinización, señalización, atracción de pareja, infección por patógenos y termorregulación. Además, es un dato que se puede coleccionar de formas no invasivas para el organismo (Weller y Westneat, 2019). El sistema de alas de mariposa también tiene muchas ventajas metodológicas sobre otros sistemas biológicos. Por ejemplo, las células de la escama epidérmica son en gran parte homogéneas y fijadas en una superficie bidimensional, lo que facilita determinar el patrón de color de manera precisa (Otaki y Yamamoto, 2004).

El Dr. Jiichiro Yoshimoto ha trabajado más de diez años con lepidópteros del bosque seco de Guatemala (Yoshimoto *et al.*, 2022). Dicho ecosistema se caracteriza por una alta

diversidad de mariposas, de las cuales se ha reportado un patrón estacional marcado, en donde hay mayor riqueza de especies en la época lluviosa, respecto a la época seca (Yoshimoto, *et al.*, 2018, 2019). A través de sus estudios ha observado que las especies que salen en la época lluviosa tienden a tener colores más llamativos y metálicos que las de la época seca. Se hipotetiza que esta diferencia de coloración podría estar relacionada con las condiciones ambientales de cada estación del año, sin embargo, es necesario cuantificar el perfil de coloración de las alas de estas mariposas para evaluar si hay alguna correlación que pueda ser validada. Entender si existe algún patrón de coloración en las alas de mariposas que se correlacione con la época del año, tendrían muchas implicaciones a nivel de la ecología de las especies de lepidópteros (*e.g.* estrategias defensivas contra depredadores) y su conservación a la luz de los posibles efectos del cambio climático sobre los patrones y colores en las alas de mariposas.

Se ha reportado que la plasticidad fenotípica juega un papel importante en la evolución del patrón de color de las alas de las mariposas (Hiyama, *et al.*, 2012). Ha habido varios estudios pioneros que reportan cambios de patrones de color inducidos fisiológicamente mediante shocks térmicos (Otaki, 2007), sometimiento a algún factor de estrés (Brakefield y Larsen, 1984), regulación de la expresión de ciertos genes (Westerman, *et al.*, 2018) e inyección de inhibidores como el tungstato sódico (Otaki, *et al.*, 2004). Por otro lado, el polifenismo estacional en patrones de coloración de alas de mariposas ha sido abordado en algunas investigaciones anteriores (Brakefield y Larsen, 1984; Kertész, *et al.* 2017; Burg y Reed, 2021). Sin embargo, sigue siendo un área muy poco explorada a nivel nacional y hay un vacío de información en cuanto al valor adaptativo de estos cambios de coloración.

La mayor limitante de las investigaciones que buscan asociar cambios en el fenotipo de las mariposas con ciertas variables ambientales es el tamaño de la muestra. Generalmente, tales estudios evalúan datos de colectas en campo que corresponden a un esfuerzo de muestreo de un par de meses o a lo sumo, un par de años. Sin embargo, cuando el fin es inferir sobre patrones macroecológicos y tendencias a largo plazo en poblaciones enteras de lepidópteros, la muestra obligatoriamente debe ser mayor, y abarcar un lapso de tiempo más grande (Grabowski y Porto, 2017). Ante esta problemática, los esfuerzos

internacionales de digitalización y los repositorios de colecciones biológicas representan una alternativa prometedora para comprender estos patrones macroecológicos (Echeverría y Hulshof, 2019; MacLean, *et al.*, 2019; Kwon, *et al.*, 2021). Por tal motivo, esta investigación planteó el uso de los datos de la Colección de Artrópodos de la Universidad del Valle de Guatemala (UVGC), que representan décadas de esfuerzos de colecta en campo y preservación de especímenes, con el fin de sentar los precedentes de una investigación replicable y con el potencial de ser continuada en los siguientes años.

Se cuantificaron los colores de las alas de mariposas disponibles en la UVGC provenientes de la Reserva Heloderma y de Los Cerritos mediante una aproximación de procesamiento de imágenes: *Colordistance*. *Cd* es un paquete de R para procesar imágenes de organismos con el fin de cuantificar perfiles de color, recopilar datos de rasgos de color y comparar paletas de colores sobre la base de la similitud y la cantidad de colores (Weller y Westneat, 2019). A través de este enfoque se buscó comparar los patrones de coloración de las alas de mariposas del bosque seco, colectadas durante los meses de noviembre a abril (época seca) y las colectadas durante los meses de mayo a octubre (época lluviosa) de 2011 y 2021. Con la información obtenida se propusieron razones adaptativas y ecológicas plausibles que expliquen la relación observada y contribuir al conocimiento del polimorfismo estacional y fenología de las mariposas del bosque seco de Guatemala.

C. Objetivos

1. Objetivo general

Explorar si existe un efecto de la estación del año sobre el perfil de coloración de alas de lepidópteros diurnos colectados (2011-2021) en dos bosques secos de Guatemala: Reserva Heloderma en Cabañas, Zacapa y Los Cerritos en Salamá, Baja Verapaz.

2. Objetivos específicos

Cuantificar el color de las alas de los especímenes de la familia Nymphalidae y de los géneros *Pyrisitia*, *Hemiargus* y *Urbanus*, preservados en la Colección de Artrópodos de la Universidad del Valle de Guatemala (UVGC) aplicando el método de *Colordistance* (Weller y Westneat, 2019) basado en el procesamiento de imágenes.

Determinar cuáles son las coloraciones prevalentes de alas de ninfálidos en la época seca y en la época lluviosa en el bosque seco de Guatemala.

Establecer si existe alguna variación cromática inter- o intraespecífica en el perfil de coloración de las alas que se atribuya a la variable estacional en *Pyrisitia*, *Urbanus* y *Hemiargus*.

D. Hipótesis

Los perfiles de coloración de alas de lepidópteros colectados en Los Cerritos, Salamá, Baja Verapaz y en Reserva Heloderma, Cabañas, Zacapa, durante la época seca se diferenciarán de los perfiles de coloración de los lepidópteros colectados durante la época lluviosa en el periodo comprendido entre 2011 y 2022, presentando los segundos, coloraciones más llamativas y metálicas.

II. MARCO METODOLÓGICO

El presente análisis corresponde a una investigación cuantitativa del tipo correlacional, pues se plantea trabajar exclusivamente con operacionalizaciones de medida. La investigación no requiere de la manipulación artificial de ninguna variable, por lo que no es una investigación meramente experimental. La ventaja inminente del tipo de estudio correlacional es que el contexto de investigación es más natural y, por lo tanto, hace que tengan una mejor validez externa ecológica (Arguibay, 2009).

A. Localidad de estudio

1. Parque Regional Municipal Los Cerritos, Baja Verapaz

El primer sitio de colecta es un bosque del Parque Municipal Regional Los Cerritos, ubicado en el municipio de Salamá, en el departamento de Baja Verapaz, con las coordenadas 90°18'W, 15°05'N. El sitio se encuentra a una elevación entre los 960 y 1160 msnm y tiene una extensión territorial de aproximadamente 69 ha. El promedio anual de precipitación es de 1160 mm y el promedio anual de temperatura es de 21°C. La estación lluviosa es de mayo a octubre, y la estación seca es de noviembre a abril con menos de 50 mm de precipitación mensual (ver Fig. 1 de Yoshimoto, *et al.*, 2018), lo cual corresponde a la definición del bosque tropical estacionalmente seco (4 a 6 meses al año con menos de 100 mm de lluvia; Dirzo *et al.*, 2011). La vegetación dominante está compuesta por varias especies de las familias Fabaceae y Cactaceae (Yoshimoto y Ariano, 2017; Yoshimoto, *et al.*, 2018).

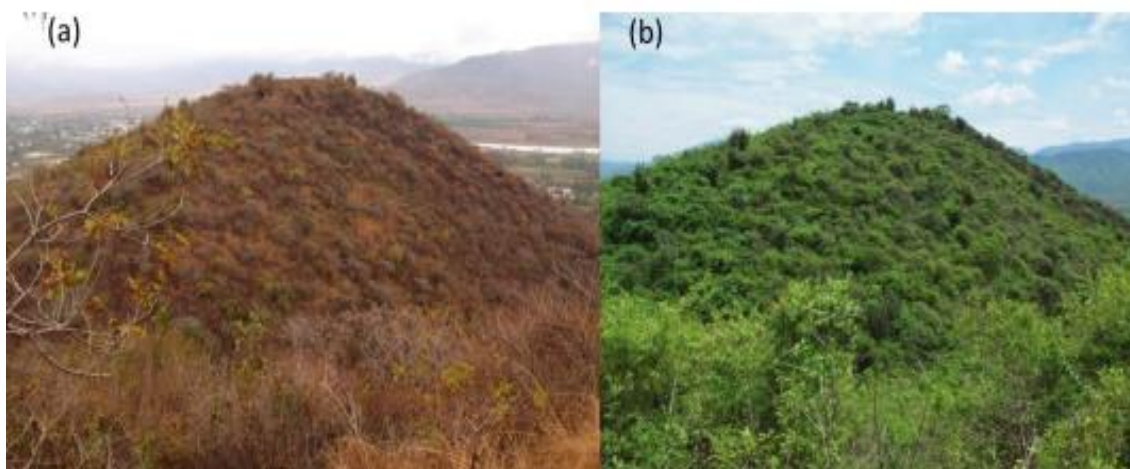


FIGURA 5. Fotografías del paisaje del Parque Municipal Regional Los Cerritos, Salamá, en: a) época seca y b) época lluviosa.

Fuente: Yoshimoto, *et al.* (2018).

2. Reserva Natural Heloderma, Zacapa

El segundo lugar de colecta para este estudio es un bosque de la Reserva Natural Heloderma, en el municipio de Cabañas, departamento de Zacapa, ubicado al oriente del Valle del Motagua en Guatemala. Las coordenadas del lugar son 89°47'O, 14°53'N y se encuentra a una elevación entre los 510 y 790 msnm. La Reserva cuenta con una extensión de 58 ha (Yoshimoto, *et al.*, 2019).

El sitio cuenta con una precipitación promedio anual de 815 mm, temperatura de 26.9°C, humedad relativa de 71% y evapotranspiración de 1798.8 mm (Ariano-Sánchez y Salazar, 2015). Se distinguen dos épocas: la estación lluviosa que dura de mayo a octubre, y la seca de noviembre a abril con menos de 50 mm de precipitación mensual (ver Fig. 3 de Yoshimoto, *et al.*, 2019); por lo cual este sitio también se clasifica como un bosque tropical estacionalmente seco (Dirzo *et al.*, 2011). La vegetación de la Reserva está dominada por plantas como Roble (*Bucida macrostachya*, Combretaceae), Quebracho (*Lysiloma divaricatum*, Mimosaceae), Yaje (*Leucaena collinsii*, Mimosaceae), Tuno de Órgano (*Stenocereus pruinosus*, Cactaceae) y Fruta de Cabro (*Karwinskia calderonii*, Rhamnaceae) (Ariano-Sánchez y Salazar, 2015).



FIGURA 6. Fotografías del paisaje de la Reserva Natural Heloderma, Zacapa, en: a) época seca y b) época lluviosa.

Fuente: Yoshimoto, *et al.* (2019).

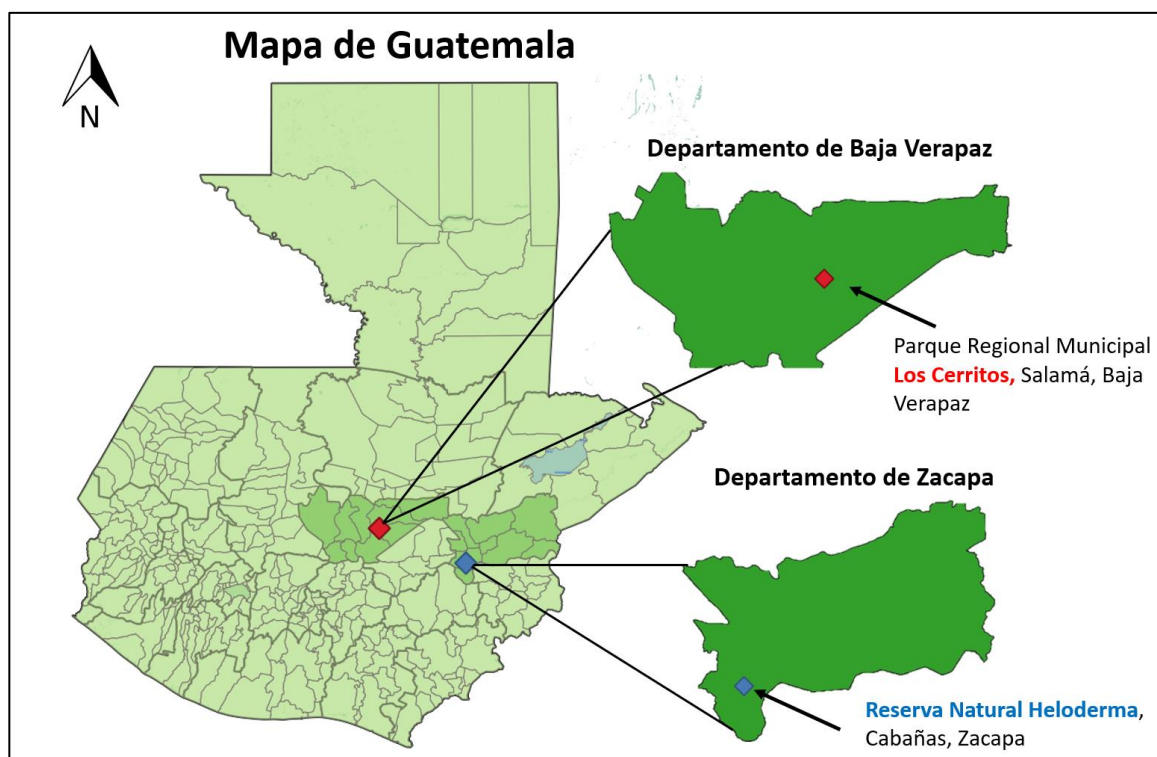


FIGURA 7. Mapa de las dos localidades de bosque seco utilizadas en este estudio: Reserva Natural Heloderma (Cabañas, Zacapa) y Parque Regional Municipal Los Cerritos (Salamá, Baja Verapaz).

B. Fotografías y calibración

Se tomaron fotografías de cada ejemplar preservado en la Colección de Artrópodos de la Universidad del Valle de Guatemala, a cargo del Dr. Jiichiro Yoshimoto, de: 1) la familia Nymphalidae y 2) los géneros *Pyrisitia*, *Urbanus* y *Hemiargus*. Se incluyeron en el análisis todos los especímenes colectados entre el periodo de 2011 a 2021 de Los Cerritos y la Reserva Heloderma. Las fotografías se realizaron con una cámara CANON EOS 700D y un lente de 50 mm, sobre un fondo gris estándar de 30x30 cm, montado en una base de duroport pegada al fondo de una caja de luz de 32 cm² (Troscianko y Stevens, 2015; Echeverría y Hulshof, 2019). Se fotografió tanto la vista dorsal como la vista ventral de cada ejemplar, sumando un total de 2 fotografías por espécimen. El encuadre de cada imagen constó del ejemplar posicionado con un alfiler al centro, las etiquetas de identificación en la esquina inferior derecha y una escala de medición en centímetros dispuesta horizontalmente en la parte inferior (Fig. 8). La iluminación se ajustó con 2 lámparas de escritorio con cabezal inclinable posicionadas una a cada lado de la caja de luz.

Para la corrección de color de las imágenes se utilizó una tarjeta de color estándar ColorChecker® Classic, marca X-Rite, la cual se fotografió bajo los mismos parámetros que los especímenes entre intervalos de 10-15 fotografías de mariposas (Apéndice 1). Se utilizó el programa ColorChecker Passport (versión de Windows) para crear un perfil DNG por cada fotografía de la tarjeta de color que representara una única condición de iluminación y configuración de cámara. Los perfiles creados, se importaron en Lightroom Classic (versión 11.5) y se aplicaron manualmente durante la revelación de las fotografías de cada ejemplar. Las fotografías reveladas se exportaron como JPG. Durante la limpieza de fotografías se descartaron aquellas con ejemplares que presentaran daños estructurales significativos (más del 30% del área de las alas) (Apéndice 2).

Las fotografías reveladas en alta resolución se importaron al programa Adobe Photoshop (versión 22.5.1). Con la caja de herramientas de recorte se procedió a enmascarar el fondo de cada una de las fotografías, de manera que quedara solo la mariposa sobre un fondo de color verde uniforme, con el código R:0, G: 255, B:0 (Fig. 9) (Weller y Westneat, 2019). Al terminar de recortar el fondo, cada imagen se exportó en

formato PNG y se guardó bajo un código único con el nombre de la especie (o familia en caso de los ninfálicos) y un número correlativo para cada set de imágenes. Simultáneamente se preparó una base de datos en Excel que contiene toda la información sobre cada ejemplar: 1) Nombre de archivo, 2) Especie, 3) Subespecie (si aplica), 4) Vista (dorsal o ventral), 5) Código de catálogo (ej. UVGC0007241), 6) Código personal del colector (ej. M0147), 7) Sitio de colecta, 8) Fecha de colecta, 9) Época de colecta (seca o lluviosa), 10) Sexo (si aplica).



FIGURA 8. Ejemplo de composición y arreglo estandarizado para la toma de fotografías de lepidópteros: vista dorsal (izquierda) y ventral (derecha) de *Siproeta stelenes* (Nymphalidae)



FIGURA 9. Ejemplo de fotografía de *Siproeta stelenes* enmascarada sobre un color verde uniforme (R: 0, G:255, B:0) procesada en Adobe Photoshop.

C. Cuantificación de color

Se instalaron las librerías asociadas al paquete *Colordistance* de R v.4.0.2 (2020-06-22). Se descargó una distribución estable del paquete *Colordistance* de forma gratuita en <https://CRAN.R-project.org/package=colordistance>. Material adicional sobre la versión de desarrollo, las instrucciones de instalación y un foro de comentarios y sugerencias están disponibles en <https://github.com/hiweller/colordistance> (Weller y Westneat, 2019). El Cuadro 2 muestra un resumen adaptado de Weller y Westneat (2019) sobre ocho de las 29 funciones del paquete *Colordistance*.

CUADRO 2. Funciones básicas del paquete *Colordistance* y su descripción.

Función	Descripción
loadImage	Importa la imagen como una matriz 3D y genera una matriz de píxeles 2D filtrada de objetos no enmascarados
convertColorSpace	Convierte píxeles entre diferentes espacios de color (CIE Lab, RGB y HSV)
plotPixels	Traza píxeles de una imagen en el espacio de color
getImageHist y getHistList	Genera un histograma 3D basado en la distribución del color en una imagen (o una lista de histogramas para un conjunto de imágenes)
getKMeanColors y get KMeansList	Genera agrupaciones de colores utilizando agrupación de k-means para una imagen (o una lista de agrupaciones para un conjunto de imágenes)
combineList	Combina una lista de características de clúster en un solo conjunto de clústeres
getColorDistanceMatrix	Genera una matriz de distancia para una lista de histogramas de color o conjuntos de grupos
imageClusterPipeline	Genera y traza una matriz de distancia de color a partir de un conjunto de imágenes.

Fuente: Weller y Westneat, 2019.

Las fotografías de la vista dorsal de los ejemplares fueron organizadas en carpetas bajo la terminación “A”, y las fotografías de la vista ventral de los ejemplares en carpetas con la terminación “B”. Se utilizó la función de “getImagePaths” para cargar todas las

imágenes PNG clasificadas en directorios con el nombre del género o familia correspondiente (A/B). Para los análisis posteriores se utilizaron los argumentos “lower” and “upper” para discriminar todos los píxeles RGB que corresponden al color verde del fondo ($\text{lower}=\text{c}(0, 0.55, 0)$, $\text{upper}=\text{c}(0.24, 1, 0.24)$) (Weller y Westneat, 2019).

Para determinar el perfil de color de cada ejemplar (tanto la vista dorsal como ventral) se obtuvieron histogramas en espacio de color RGB para clasificar los píxeles en un número determinado de contenedores (Fig. 10). Para estandarizar y agilizar el proceso, se definió una cantidad de doce contenedores para todo el análisis. Además, se graficaron en un plano tridimensional 2000 píxeles aleatorios ($n=2000$) de cada objeto (ignorando el fondo), según sus coordenadas para los espacios de color RGB (Fig. 11) (Weller y Westneat, 2019). Cabe aclarar que este método ignora el componente UV de la coloración, que puede desempeñar un papel importante en la selección sexual de las mariposas (Medina, *et al.*, 2020).



FIGURA 10. Ejemplo de histograma que demuestra el perfil de coloración de *Siproeta stelenes*, mediante la clasificación de los píxeles RGB en doce contenedores.

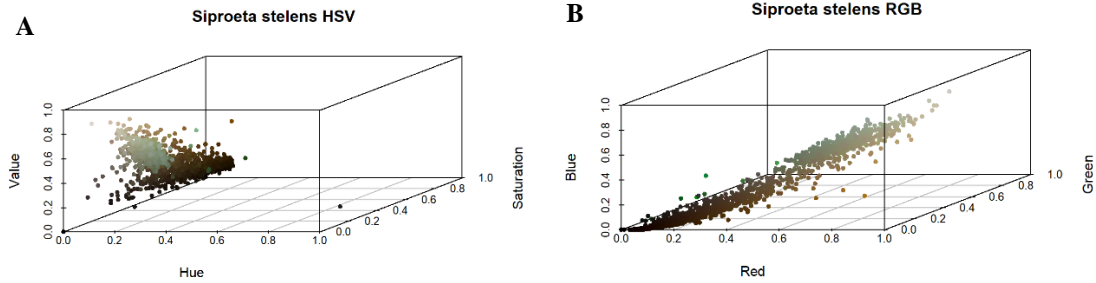


FIGURA 11. Ejemplo de gráfica de píxeles según sus coordenadas en espacio de color:

A) HSV y B) RGB de *Siproeta stelenes*.

D. Análisis de conglomerados

Se utilizó la métrica de movimiento de la tierra (EMD: Earth mover's distance) para hacer comparaciones por pares de los histogramas de todas las imágenes (getColorDistanceMatrix: Cuadro 2), según la metodología propuesta por Medina, *et al.* (2020). Se obtuvo una matriz de distancia que contiene un resumen del valor de distancia de color entre cada par analizado (Weller y Westneat, 2019).

La matriz de distancia se utilizó para hacer un análisis de agrupamiento jerárquico (análisis de conglomerados) con la función *hclust* del paquete *dendextend*. En este análisis, cada fotografía fue asignada a su propio cluster y luego el algoritmo realizó uniones de los clusters con mayor similitud mediante un número determinado de iteraciones. Los dos métodos utilizados para encontrar los clusters y sus distancias, fueron: “average” y “ward.D2” (Murtagh, 2014). A partir de la topología observada de los dendrogramas resultantes, se nombró a cada individuo según el número correspondiente del cluster al que fue asignado. Se estableció una categoría cualitativa que representara a la coloración promedio de los individuos del grupo (Ej: Grupo 1- brillantes y coloridas, Grupo 2- cafés y neutrales, etc.). Luego, se realizó un escalamiento multidimensional no métrico (NMDS por sus siglas en inglés) como método de ordenación y graficaron elipses de acuerdo con el número de clusters resultante en el agrupamiento jerárquico.

E. Coloraciones prevalentes y análisis de similitud

A partir de la categorización de individuos en un grupo de color, se graficaron las proporciones de cada grupo para la época seca y época lluviosa, con el fin de definir las coloraciones prevalentes en cada mes del año y en cada época climática. Asimismo, se calculó el Índice de Equidad de Pielou (J') para estimar si la abundancia de los distintos grupos de coloración en cada época es equitativa.

Asimismo, se llevó a cabo la prueba de hipótesis conocida como el análisis de similitud (ANOSIM, Clarke y Green, 1988) con el paquete *vegan* de R, con la finalidad principal de determinar si las diferencias entre dos o más grupos son significativas. Para esto se analizaron las siguientes variables ambientales (y otras variables descriptivas del tiempo de colecta o de la identidad del ejemplar) correspondientes a la información de colecta de cada individuo, con sus respectivos niveles: 1) época del año, 2) sitio de colecta, 3) año de colecta, 4) mes de colecta, 5) subfamilia (en el caso de Nymphalidae), 6) especie y 7) sexo (en el caso de *Pyrisitia*).

Para las variables que obtuvieron un valor-p menor a 0.05 se aplicó una función para la comparación por pares de varios niveles usando PairwiseAdonis (análisis multivariante de varianza utilizando matrices de distancia por pareja) del paquete *vegan*. Esta función devuelve valores p ajustados mediante `p.adjust()`.

III. RESULTADOS

A. Cuantificación de perfiles de coloración

Se obtuvo un total de 514 fotografías correspondientes a 257 individuos de 67 especies fotografiadas en su vista dorsal y ventral, de los cuales, 184 individuos pertenecen a la familia Nymphalidae, 16 al género *Hemiargus* de la familia Lycaenidae, 30 al género *Pyrisitia* de la familia Pieridae y 27 al género *Urbanus* de la familia Hesperidae. Las subfamilias representadas de Nymphalidae son: Biblidinae, Charaxinae, Cyrestinae, Danainae, Heliconiinae, Libytheinae, Limenitidinae, Nymphalinae y Satyrinae (Cuadro 3). La mayoría de individuos fueron colectados durante la época lluviosa (198 individuos), y el resto en la época seca (59 individuos). Se obtuvieron muestras equiparables para el sitio de colecta (148 para Los Cerritos y 109 para Reserva Heloderma) para el periodo comprendido entre los años 2011 y 2022 (Cuadro 3).

CUADRO 3. Resumen de información de los individuos fotografiados (Apéndice 3 y 4 para información extendida)

Familia	Subfamilia	spp. ^a	Ind. ^b	Época de colecta			Sitio de colecta		Años de colecta
				Sec ^c	Llu ^d	LC ^e	RH ^f		
Nymphalidae	Biblidinae	16	54	10	44	44	10	2011, 2012, 2014-2018, 2021	
Nymphalidae	Charaxinae	3	15	3	12	11	4	2011, 2012, 2016, 2018	
Nymphalidae	Cyrestinae	1	3	0	3	3	0	2011	
Nymphalidae	Danainae	4	7	2	5	3	4	2011, 2016, 2021	
Nymphalidae	Heliconiinae	7	11	4	7	9	2	2011, 2012, 2016	
Nymphalidae	Libytheinae	1	2	0	2	1	1	2011, 2016	
Nymphalidae	Limenitidinae	4	11	1	10	6	5	2011, 2012, 2016	
Nymphalidae	Nymphalinae	15	47	9	38	34	13	2011, 2012, 2015, 2016, 2019, 2020, 2021	
Nymphalidae	Satyrinae	9	34	12	22	14	19	2011, 2012, 2016, 2017, 2018, 2019, 2021	
Lycaenidae	Polyommatainae ¹	2	16	3	13	3	13	2011, 2015, 2016, 2018	
Pieridae	Coliadinae ²	3	30	11	19	11	19	2011, 2015, 2016, 2017, 2018, 2020, 2021	
Hesperidae	Eudaminae ³	3	27	4	23	9	18	2011, 2012, 2016, 2018	
TOTAL		67	257	59	198	148	109		

^aNúmero de especies, ^bNúmero total de individuos, ^cNúmero de individuos colectados en la época seca, ^dNúmero de individuos colectados en la época lluviosa, ^eNúmero de individuos colectados en Los Cerritos, ^fNúmero de individuos colectados en Reserva Heloderma. ¹Solamente *Hemiargus*, ²Solamente *Pyrisitia*, ³Solamente *Urbanus*.

Se obtuvo una base de datos conformada por los valores RGB para cada uno de los doce contenedores (extractClusters: Cuadro 2), con un valor de porcentaje que indica la extensión de área que cubre cada color en el individuo (Apéndice 5). A partir de estos datos, se obtuvo el perfil de coloración de cada individuo graficado en un histograma de doce contenedores, ignorando los pixeles de color verde que corresponden al fondo (Figs. 12 y 13).

En los perfiles de color de las ocho especies de *Hemiargus*, *Pyrisitia* y *Urbanus*, se observa una clara distinción en la coloración de los tres géneros (Fig. 12). *Pyrisitia* es el género con mayor diferencia interespecífica, debido a que *P. proterpia* se encuentra en una gama de color anaranjado (Fig. 12E), que difiere de la paleta amarilla de las otras dos especies del género (Fig. 12C, D). Por otro lado, *Hemiargus* es el género con mayor variación de ambas superficies, con un perfil lila metálico en la vista dorsal y un perfil más café-grisáceo en la vista ventral (Fig. 12A, B). Las tres especies de *Urbanus* presentaron perfiles con paletas de cafés oscuros y tonos azul metálicos en el caso de *U. viterboana* y *U. esmeraldus* (Fig. 12F-H).

Por otro lado, en los perfiles de coloración de Nymphalidae destacan las coloraciones naranjas-rojizas y detalles cafés y negros, aunque las formas de las alas y los patrones son muy diversos dentro de esta familia (Fig. 13). Mientras que hay muy poca representación de tonos verdes, amarillos, azules, lilas y rojos. Algunas especies presentan coloraciones metálicas, tal es el caso de *Eunica tatila*, *Bolboneura sylphis*, *Dynamine postverta* y *Diaethria astala*.

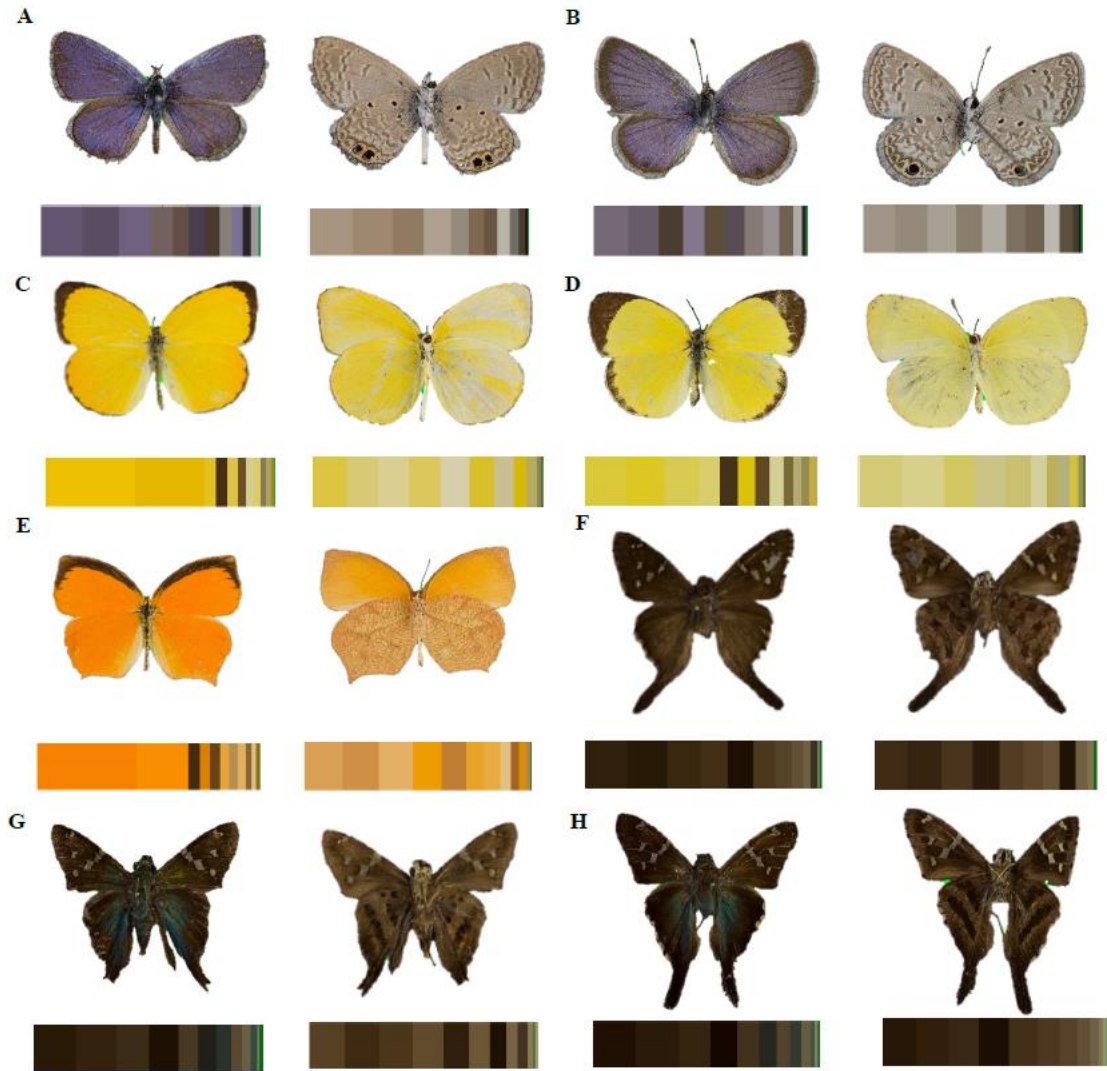
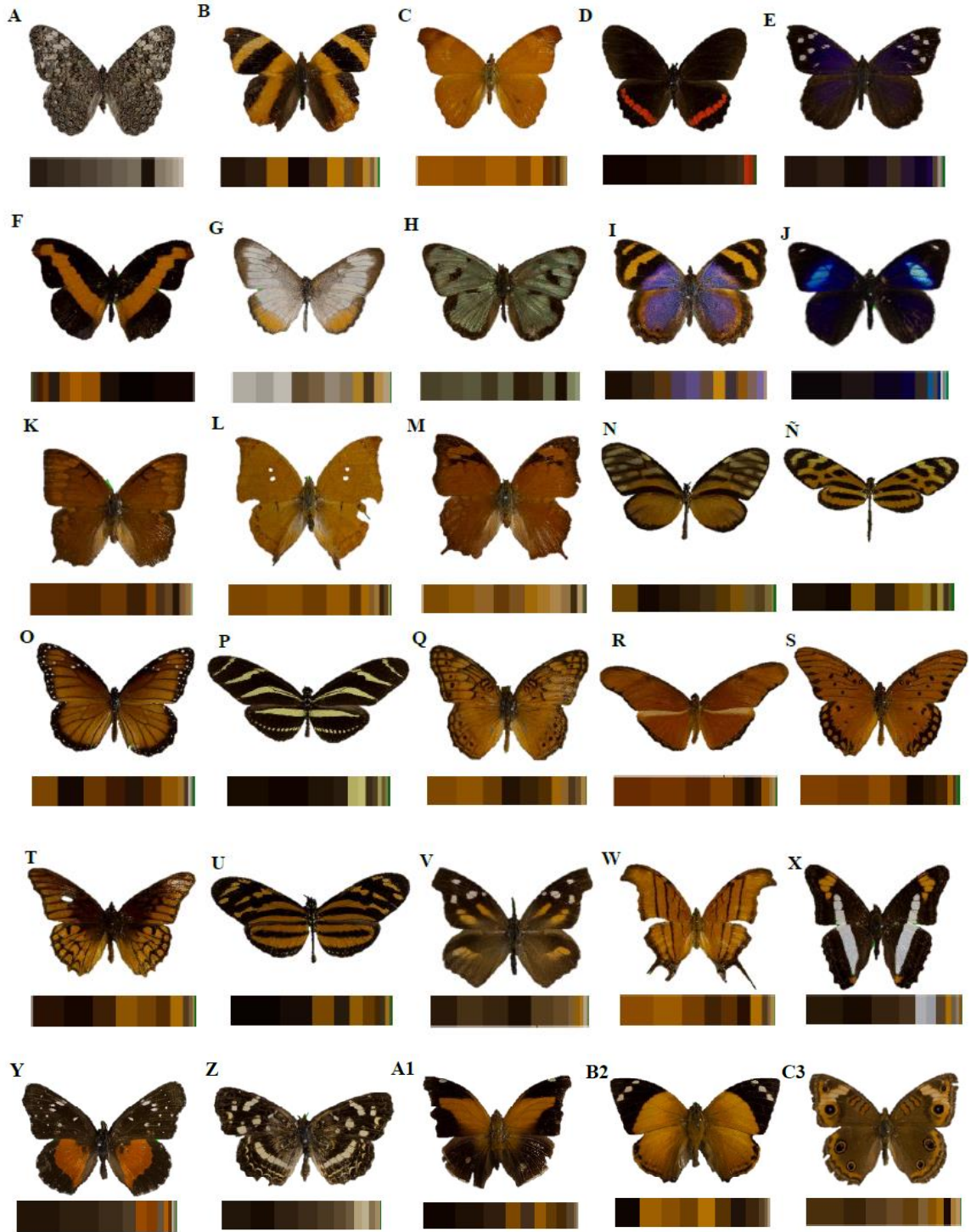


FIGURA 12. Especímenes fotografiados y sus perfiles de coloración de: (A) *Hemiargus ceraunus*, (B) *H. hanno*, (C) *Pyrisitia dina*, (D) *P. nise*, (E) *P. proterpia*, (F) *Urbanus dorantes*, (G) *U. esmeraldus*, (H) *U. viterboana*. La vista dorsal y ventral está presentada en la izquierda y derecha, respectivamente.



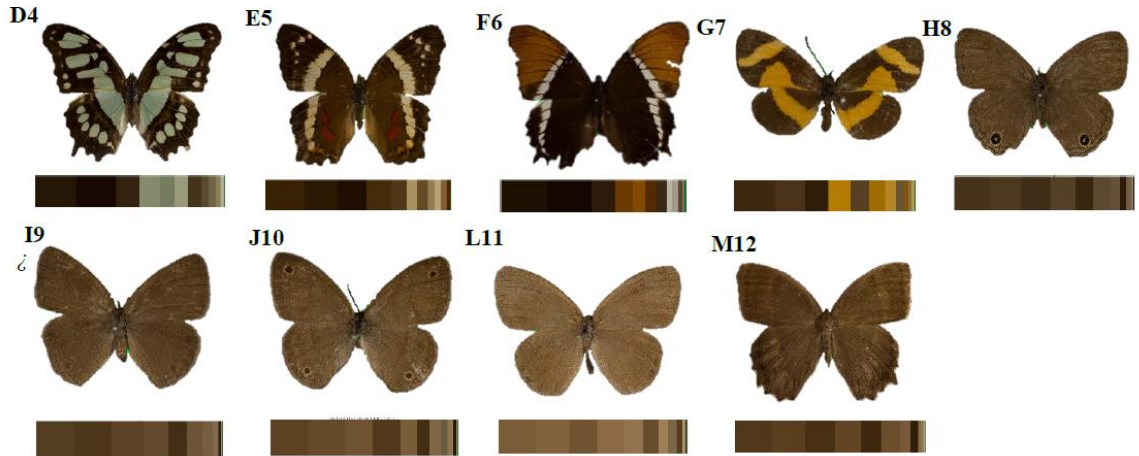


FIGURA 13. Especímenes fotografiados (vista dorsal) y perfiles de coloración de especies representativas de Nymphalidae: **Biblidinae**, A. *Hamadryas glauconome*, B. *Epiphile adrasta*, C. *Temenis laothoe*, D. *Biblis hyperia*, E. *Eunica tatila*, F. *Catonephele mexicana*, G. *Mestra amymone*, H. *Dynamine postverta*, I. *Bolboneura sylphis*, J. *Diaethria astala*. **Charaxinae**, K. *Anaea aidea*, L. *Zaretis ellops*, M. *Fountainea glycerium*. **Danainae**, N. *Dircenna klugii*, Ñ. *Mechanitis lysimnia*, O. *Danaus eresimus*. **Heliconiinae**, P. *Heliconius charithonia*, Q. *Euptoieta hegesia*, R. *Dryas iulia*, S. *Agraulis vanillae*, T. *Dione moneta*, U. *Eueides isabella*. **Libytheinae**, V. *Libytheana carineta*. **Cyrestinae**, W. *Marpesia petreus*. **Limenitidinae**, X. *Adelpha iphicleola*. **Nymphalinae**, Y. *Chlosyne lacinia*, Z. *Anthanassa tulcis*, A1. *Historis odius*, B2. *Smyrna blomfieldia*, C3. *Junonia evarete*, D4. *Siproeta stelenes*, E5. *Anartia fatima*, F6. *Siproeta epaphus*, G7. *Microtia elva*. **Satyrinae**, H8. *Cissia similis*, 19. *Cyllopsis pephredo*, J10. *Euptychia fetna*, L11. *Hermeuptychia hermes*, M12. *Taygetis thamyra*.

B. Análisis de conglomerados

1. Familia Nymphalidae

En el análisis de conglomerado para los 184 individuos de la familia Nymphalidae (vista dorsal), se obtuvo un total de nueve grupos o clusters ($k=9$) compuestos por cinco individuos en el grupo más pequeño, y 38 individuos en el grupo más grande (Fig. 14). Se determinó que la mayoría de individuos de la misma especie se agruparon en el mismo

cluster, a excepción de especies con dimorfismo sexual marcado. Tal es el caso de *Dynamine postverta*, en la cual los individuos machos (“D-postverta117 y 434”) que tienen coloraciones metálicas verde azuladas se agruparon en el Grupo 7, mientras que los individuos hembras (“D-postverta113 y 436”) con coloraciones negras y blancas quedaron dentro del Grupo 3. Lo mismo ocurre con *Catonophele mexicana*, donde los machos negros con naranja (“C-mexicana101 y 402”) se agruparon en el Grupo 5, y las hembras negro con amarillo en el Grupo 4 (“C-mexicana392”). Casos similares se observaron para *Dynamine dyonis* y *Zaretis ellops* también.

Se encontró que el grupo más diferenciado es el Grupo 9, que en el dendrograma aparece como un cluster separado del resto de nodos (Fig. 14). Este resultado se confirmó con el análisis NMDS (Fig. 15), en donde la elipse de color negro corresponde al Grupo 9 (coord: 0.35, 0.15), y se aprecia una clara diferenciación y distancia del resto de elipses de los otros grupos. Interesantemente, este es un grupo monoespecífico porque agrupa a todos los individuos de una única especie: *Diaethria astala*. Esta especie es la única que contiene tonos azules y celestes, y aunque los contenga en pocas proporciones en su perfil de coloración (Fig. 13), la diferencia es suficiente para ser separada del resto de ejemplares.

Cada cluster puede distinguirse por una combinación de colores característica de los individuos que conforman el grupo. De esta manera, se obtuvo la categorización de los individuos en diferentes niveles de color, según el grupo al que se asignaron en el dendrograma. Estos grupos fueron: 1) Marrones + naranjas, 2) Rojizos + cafés, 3) Negros + morados, 4) Negros + amarillos verdosos, 5) Negros + rojizos, 6) Grises, 7) Cafés, 8) Cafés + ocre, 9) Azules (Apéndice 6). Sin embargo, en general los ninfálidos fotografiados se encuentran dentro de paletas de color similares, es por esto que todos los individuos en el NMDS se agruparon en elipses sobrepuestas entre sí, a excepción del grupo mencionado anteriormente (Fig. 15). Asimismo, las diferentes especies dentro de las mismas subfamilias de Nymphalidae se agruparon en clusters diferentes, a diferencia de Satyrinae, cuyas especies se agruparon todas en el Grupo 6 (Fig. 15).

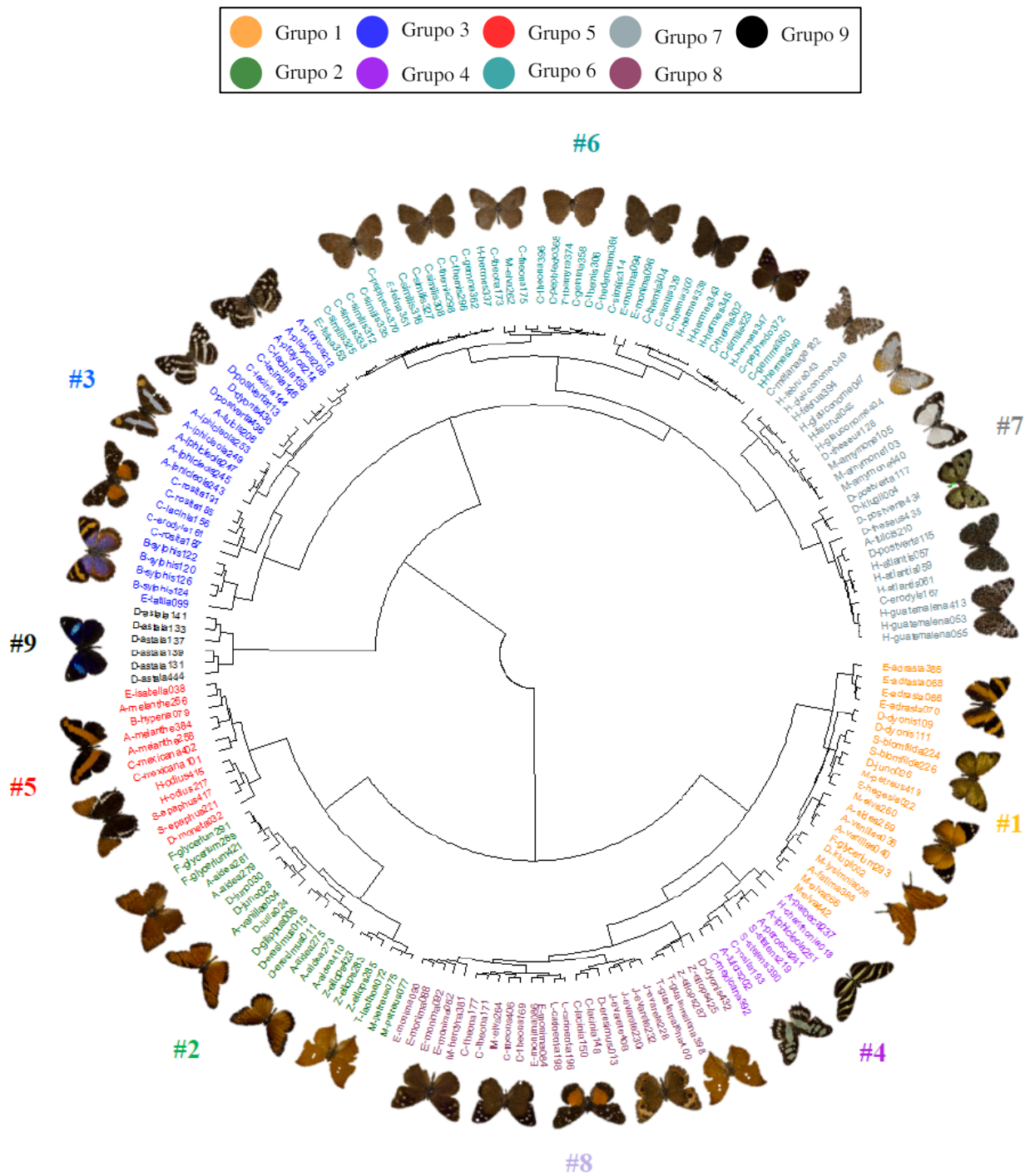


FIGURA 14. Dendrograma del análisis de conglomerados (método: ward.D2), en el que se presentan las similitudes en los perfiles de coloración dorsal de 59 especies de la familia Nymphalidae (k=9).

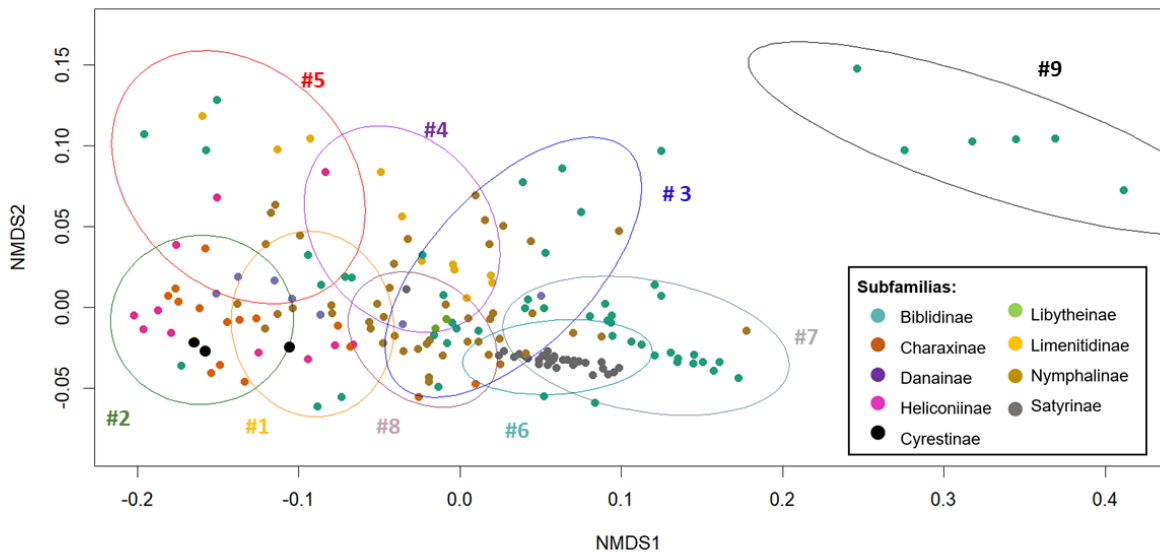


FIGURA 15. Diagrama de ordenación del escalamiento multidimensional no métrico (NMDS), en el que se presentan las similitudes en los perfiles de coloración (vista dorsal) de 59 especies de la familia Nymphalidae (valor de estrés= 0.0528757).

En el análisis de conglomerados para la vista ventral de los 184 individuos de la familia Nymphalidae se obtuvo un total de nueve grupos o clusters ($k=9$) en el dendrograma compuestos por diez individuos en el grupo más pequeño, y 49 individuos en el grupo más grande (Fig. 16). A diferencia de la vista dorsal, en el análisis de conglomerados de la vista ventral los diferentes individuos de la misma especie se agruparon en clusters diferentes. Por ejemplo, los diferentes individuos de *A. vanillae* se agruparon en los Grupos 2', 5' y 6', similar que con los ejemplares de *C. lacinia* que se agruparon en los Grupos 1', 4' y 7' (Apéndice 7). Lo mismo ocurrió con especies como *E. adrasta* y *Z. ellops*, cuyos individuos se agruparon en más de dos clusters diferentes, incluso siendo del mismo sexo.

De acuerdo con el NMDS (Fig.17), el grupo más diferenciado (aunque todos guardan relación entre sí) es el Grupo 2' (coord. 0.1, 0.04) y los objetos dentro de este grupo presentan mayor variedad entre sí, a diferencia de individuos como los del Grupo 1', que

a pesar de ser el cluster más grande, el NMDS muestra a sus ejemplares con posiciones relativas muy cercanas en el plano dimensional. Por otro lado, para $k=9$ no se observó ningún cluster monoespecífico, pero sí un subgrupo del Grupo 8' que agrupa a todos los individuos de *D. astala*.

Se observó que existe una mayor homogeneidad en los perfiles de coloración de la vista ventral en Nymphalidae, tal como se muestra en la Figura 16. A diferencia del análisis de conglomerados de la vista dorsal, en la vista ventral los grupos formados son muy similares entre sí, mostrando en su mayoría coloraciones ocres, naranjas y cafés, lo cual se refleja en la proximidad de los objetos de todos los grupos en el NMDS (Apéndice 6, Figs. 16 y 17). Sin embargo, pueden distinguirse dos súpergrupos en el dendrograma: el primero, conformado por los Grupos 1', 3', 5', 4' y 8'; y el segundo, conformado por los Grupos 2', 6', 7' y 9'.

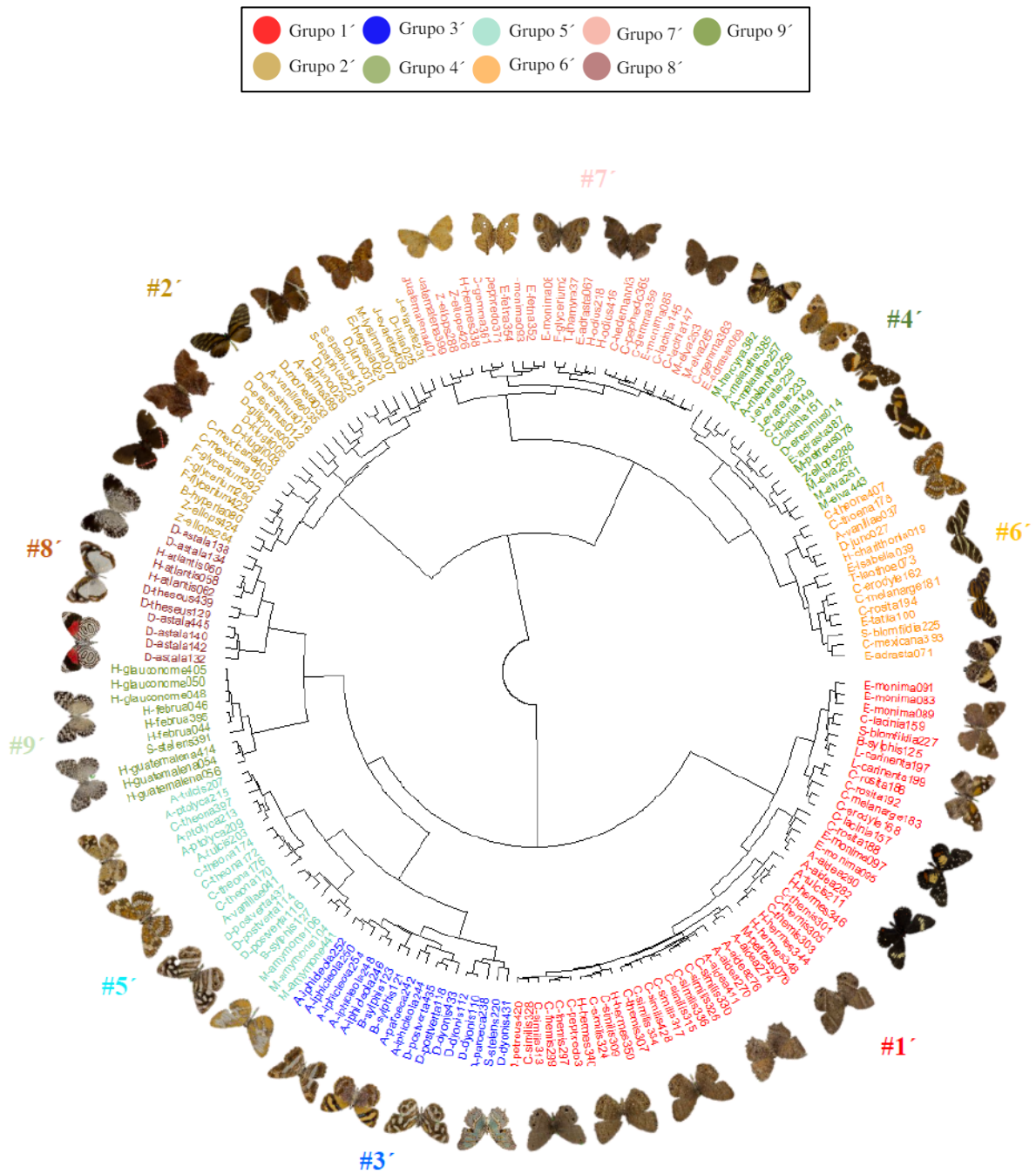


FIGURA 16. Dendrograma del análisis de conglomerados (método: ward.D2), en el que se presentan las similitudes en los perfiles de coloración (vista ventral) de 59 especies de la familia Nymphalidae (k=9).

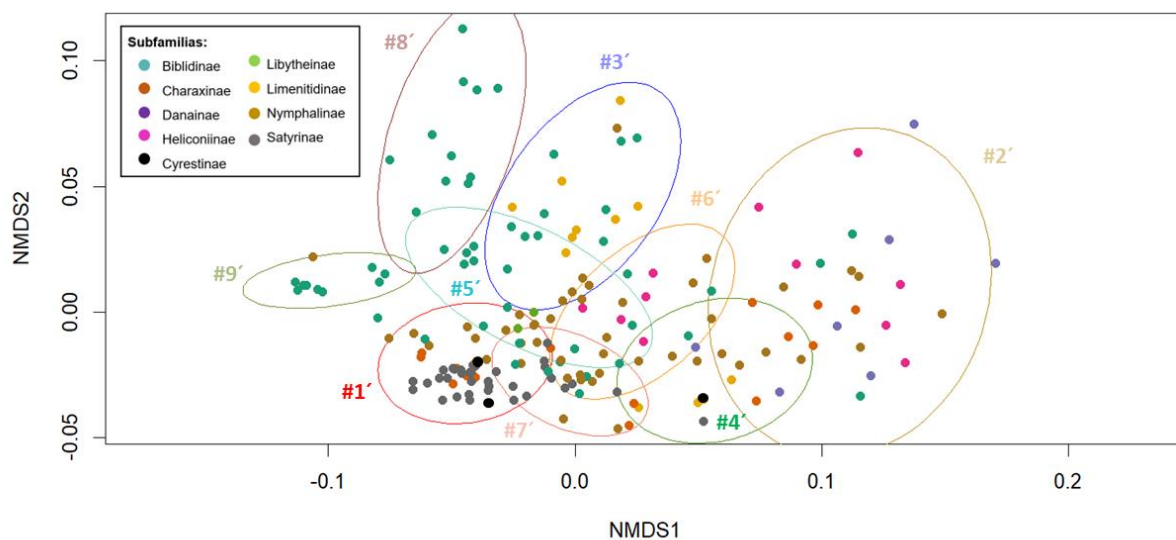


FIGURA 17. Diagrama de ordenación del escalamiento multidimensional no métrico (NMDS), en el que se presentan las similitudes en los perfiles de coloración (vista ventral) de 59 especies de la familia Nymphalidae. (valor de estrés= 0.07078216).

2. Géneros *Pyrisitia*, *Urbanus* y *Hemiargus*

Para el análisis de conglomerados de estos tres géneros, se estableció un $k=8$ tomando en cuenta que fueron ocho las especies fotografiadas (Fig. 18). La agrupación de los individuos fue muy marcada de acuerdo a las paletas de color, sin embargo, solo tres clusters fueron monoespecíficos (Grupos D, E y F; Fig.18). Interesantemente, el sexo fue un factor determinante en la agrupación de los individuos. Por ejemplo, las hembras de *Hemiargus hanno* se agruparon en el Grupo B, mientras que los machos en el Grupo A; las hembras de *Pyrisitia nise* conformaron el Grupo B, mientras que los machos quedaron dentro del Grupo E, y el mismo caso se observó para *Urbanus dorantes*, *P. dina* y *P. proterpia*, donde ambos sexos se agruparon en distintos clusters.

A partir del análisis NMDS se observa una marcada segmentación de los tres géneros (Fig. 19). Además, se determinó que el cluster más diferenciado fue el Grupo F, puesto que los machos de *P. proterpia* poseen coloraciones naranjas intensos, que no se asemejan a los perfiles de ninguna otra especie de este análisis (Apéndice 8). Por otro

lado, se puede observar que los clusters con individuos de coloraciones cafés (Grupos A, B y H), se posicionaron en el cuadrante izquierdo del plano dimensional, mientras que las coloraciones amarillas (Grupos C-G) en el cuadrante derecho (Fig. 19).

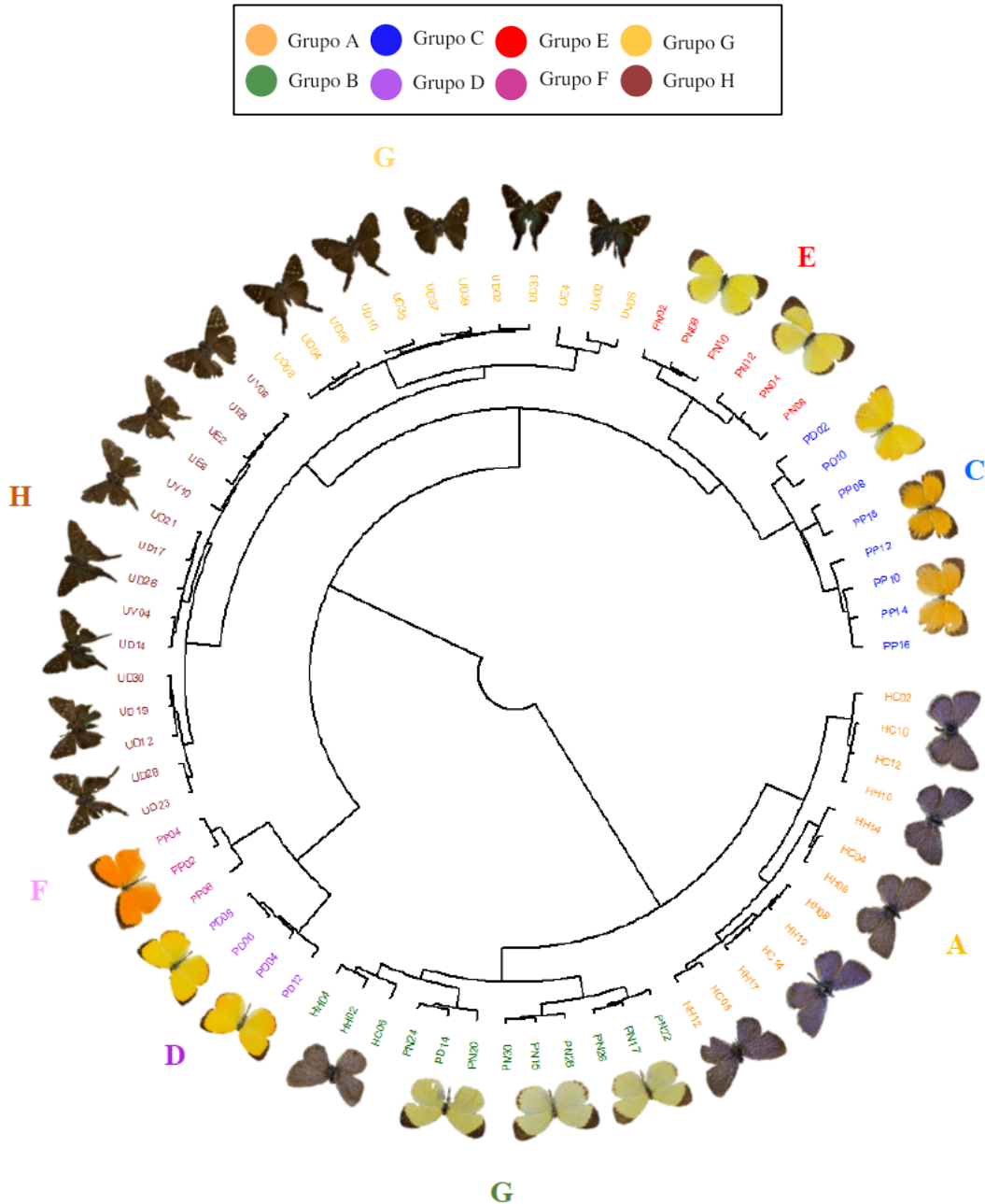


FIGURA 18. Dendrograma del análisis de conglomerados (método: ward.D2), en el que se presentan las similitudes en los perfiles de coloración dorsal de 8 especies de para los géneros *Pyrisitia* (PP, PD, PN), *Urbanus* (UA, UD, UV) y *Hemiargus* (HH, HC) (k=8).

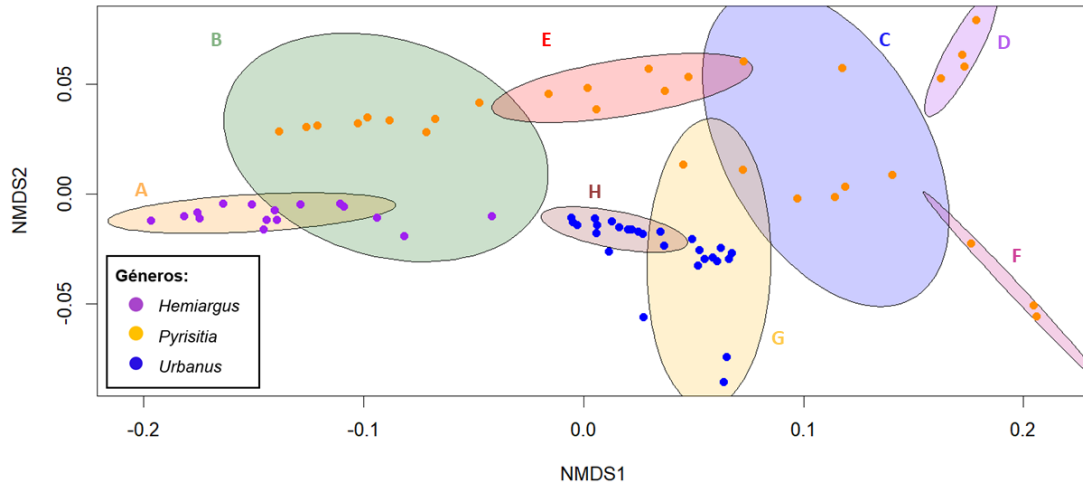


FIGURA 19. Diagrama de ordenación del escalamiento multidimensional no métrico (NMDS), en el que se presentan las similitudes en los perfiles de coloración (vista dorsal) de 8 especies de los géneros *Pyrisitia*, *Urbanus* y *Hemiargus*. (valor de estrés=0.02744691).

Para la vista ventral, se estableció $k=8$ y se observó la formación de grupos de acuerdo con la especie, y el sexo en el caso de algunos individuos. Al igual que en la vista dorsal, las hembras y machos de *P. nise*, *P. proterpia* y *P. dina* se agruparon en clusters distintos. Se identificaron solo dos clusters monoespecíficos: Grupos D' (*P. dina*) y F' (*P. proterpia*). Todos los individuos del género *Urbanus* se agruparon dentro de un supergrupo, al igual que todos los individuos del género *Hemiargus*, sin embargo, los individuos del género *Pyrisitia* quedaron dispersos en diferentes grupos.

A partir del análisis NMDS se determinó que el cluster más diferenciado fue el Grupo A', dado a que su elipse es la única que no se entrelaza con ninguna otra (Fig. 21). Dicho cluster agrupa a individuos de 4 especies diferentes: *H. ceraunus*, *H. hanno*, *P. dina* (hembras) y *P. nise* (hembras), los cuales se separan en 2 subgrupos según dos categorías de color: los grises claros y los amarillos muy pálidos. Por otro lado, se puede observar que los clusters con individuos de coloraciones amarillas y naranjas (Grupos B', C' y F') se posicionaron al centro del plano dimensional, mientras que las coloraciones café

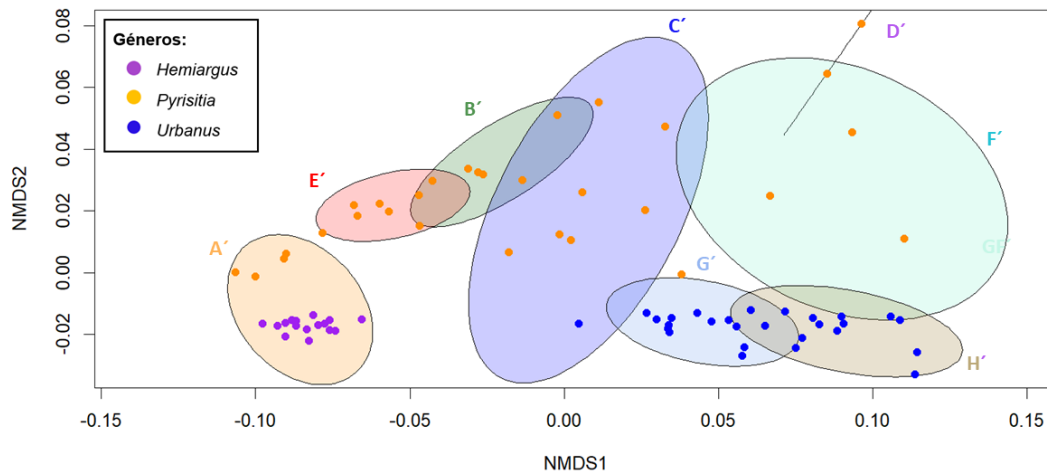


FIGURA 21. Diagrama de ordenación del escalamiento multidimensional no métrico (NMDS), en el que se presentan las similitudes en los perfiles de coloración (vista ventral) de 8 especies de los géneros *Pyrisitia*, *Urbanus* y *Hemiargus* (valor de estrés=0.02447217).

C. Pruebas de hipótesis

1. Análisis de Similitud (ANOSIM) y Adonis

La prueba de hipótesis estadística mediante el análisis de similitud (ANOSIM) para las diferentes variables ambientales de los ejemplares de Nymphalidae (vista dorsal y ventral), permitió obtener una diferencia significativa ($P < 0.05$) para el mes de colecta, la subfamilia y la especie. Mientras que la época, el año y el sitio de colecta demostraron no presentar diferencias significativas ($P > 0.05$) (Cuadro 4).

En el caso del género *Hemiargus*, se determinó a partir de ANOSIM que no hay ninguna variable ambiental que presente diferencias significativas para sus diferentes niveles respecto a las coloraciones de la superficie dorsal. Sin embargo, para la superficie ventral, se determinó que existe una diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los diferentes niveles de las siguientes variables: época, mes de colecta, sitio de colecta y especie (la última, marginalmente significativa). Sin embargo, se debe tomar bajo consideración que

la muestra es pequeña (n=16), por lo que estos resultados pueden no ser concluyentes (Cuadro 4).

Para el género *Pyrisitia*, tanto para la superficie dorsal como la ventral, se determinó que existen diferencias significativas entre las coloraciones de las tres especies analizadas y entre ambos sexos también. Por último, dentro del género *Urbanus* se demostró que existen diferencias significativas entre las coloraciones dorsales de las tres especies analizadas y entre los grupos para ambos sitios de muestreo. En la superficie ventral de *Urbanus* no se encontró ninguna diferencia significativa en las variables probadas (Cuadro 4).

CUADRO 4. Análisis de Similitud (ANOSIM) para evaluar las diferencias entre los diferentes niveles de las variables ambientales para Nymphalidae y los géneros *Hemiargus*, *Pyrisitia* y *Urbanus* (número de permutaciones=999).

Taxón	Superficie de alas	Variable ambiental	Estadístico R	Valor P
Familia Nymphalidae (n=184)	Dorsal	Época del año	-0.05925	0.950
		Mes de colecta	0.04449	*
		Año de colecta	0.0179	0.298
		Sitio de colecta	-0.01575	0.714
		Subfamilia	0.2724	**
		Especie	0.7646	**
	Ventral	Época del año	-0.01145	0.612
		Mes de colecta	0.07038	**
		Año de colecta	0.003421	0.426
		Sitio de colecta	0.02491	0.209
Género <i>Hemiargus</i> (n=16)	Dorsal	Época del año	0.05097	0.359
		Mes de colecta	-0.02516	0.552
		Sitio de colecta	-0.044	0.553
		Especie	0.06043	0.187
	Ventral	Época del año	0.3878	*
		Mes de colecta	0.3214	*
		Sitio de colecta	0.3789	*
		Especie	0.1635	0.055

Taxón	Superficie de alas	Variable ambiental	Estadístico R	Valor P
Género <i>Pyrisitia</i> (n=30)	Dorsal	Época del año	-0.02469	0.588
		Mes de colecta	0.03074	0.333
		Sitio de colecta	-0.2227	0.552
		Especie	0.6266	**
		Sexo	0.2235	**
	Ventral	Época del año	-0.04289	0.690
		Mes de colecta	0.06874	0.229
		Sitio de colecta	-0.06652	0.888
		Especie	0.5006	**
		Sexo	0.1308	*
Género <i>Urbanus</i> (n=27)	Dorsal	Época del año	-0.1152	0.747
		Mes de colecta	0.003639	0.441
		Sitio de colecta	0.2295	*
		Especie	0.3531	**
	Ventral	Época del año	-0.0956	0.709
		Mes de colecta	0.09085	0.163
		Sitio de colecta	0.1135	0.082
		Especie	0.08121	0.197

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2. Proporciones de grupos de color

A pesar de que la variable de ‘época’ no salió significativa para los patrones de coloración dorsal y ventral de Nymphalidae, la gráfica de proporciones permitió evidenciar cuáles eran las coloraciones prevalentes en cada una de las épocas (Fig. 22). Por ejemplo, para la superficie dorsal, es evidente que los colores de Grupo 6, 7 y 8 son prevalentes en la época seca, pues representan más del 50% de los colores que aparecen en esta época (Fig. 22A). Tales grupos de mariposas se caracterizan por tener perfiles de coloración mayoritariamente grises, cafés y ocres (Apéndice 6). Contrariamente, en la época lluviosa, la proporción de los grupos de color es homogénea y no destaca alguno sobre otro, indicando que en la época lluviosa se colectaron mariposas con mayor variedad de colores en su superficie dorsal (Fig. 22). Lo anterior se refleja en el índice de equidad de Pielou que demuestra la proporción de grupos de color en la época lluviosa es más equitativa que en la época seca ($J' = 0.9593$ y $J' = 0.9268$, respectivamente). Un

hallazgo interesante de esta gráfica es que el Grupo 9 (el único grupo monoespecífico con todos los individuos de *Diaethria astala* con coloraciones azul metálicas) se presentó únicamente en la época lluviosa.

La gráfica de proporciones de grupos de color en la superficie ventral de Nymphalidae sugiere que los grupos prevalentes en la época seca son Grupo 1' y Grupo 7', cuyos individuos se caracterizan por tener perfiles de coloración entre cafés, ocre y negros (Fig. 22B; Apéndice 7). Mientras que para la época lluviosa, el Grupo 1' (cafés y ocre) obtuvo una mayor proporción (25%), y para el resto de grupos se observó un patrón similar que en las coloraciones de la superficie dorsal, en el cual los diferentes grupos de color tienen proporciones homogéneas. Lo anterior se refleja en el índice de equidad de Pielou que demuestra que la proporción de grupos de color en la época lluviosa es más equitativa que en la época seca ($J'=0.9593$ y $J'=0.9268$, respectivamente), de manera similar a la superficie dorsal. En este caso, el Grupo 8', que agrupa a individuos de *Diaethria astala*, *Hamadryas atlantis*, *Dynamine theseus* y *Fountainea glycerium* se presentó únicamente en época lluviosa.

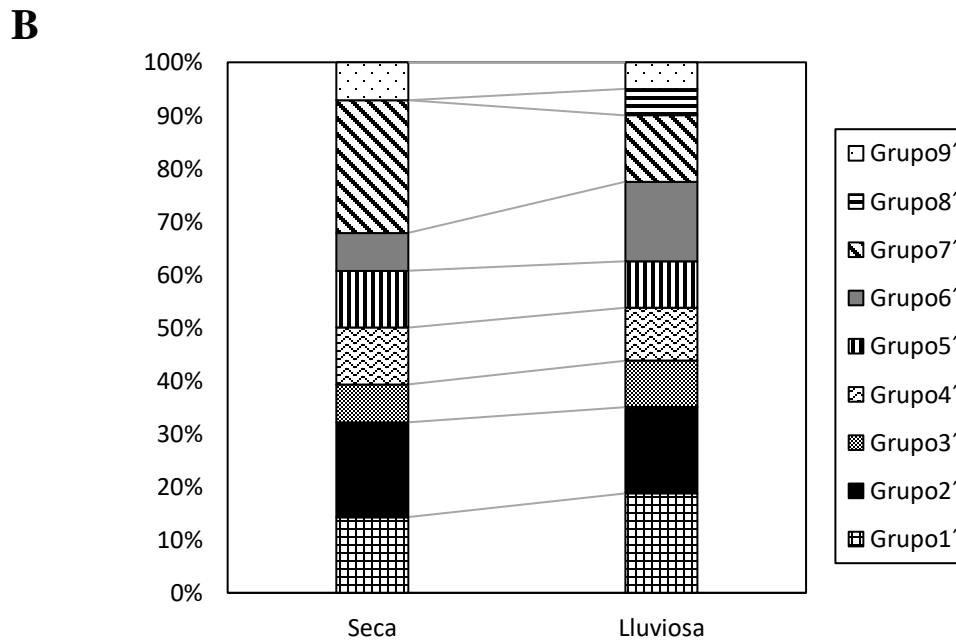
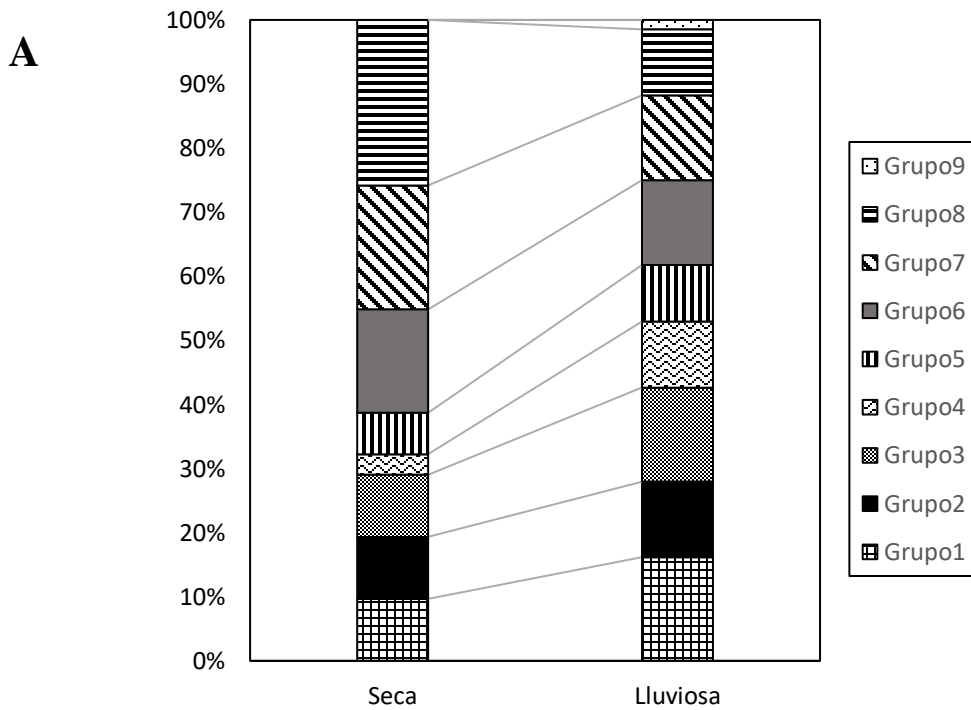


FIGURA 22. Gráfica de proporciones de los 9 grupos de coloración (según análisis de conglomerados) en época lluviosa y época seca para Nymphalidae, en vista dorsal (A) y vista ventral (B).

La gráfica de proporciones de grupos de color por mes muestra que en cada mes del año hay diferentes coloraciones prevalentes, por ejemplo, en enero se registraron únicamente individuos con coloraciones dorsales pertenecientes al Grupo 7 (grises y cafés), mientras que los meses entre junio y noviembre presentaron coloraciones variadas, pertenecientes a varios grupos (Fig. 23). Interesantemente, los meses que se consideran como época seca (diciembre a abril) obtuvieron representación de una menor cantidad de grupos de color a diferencia de los meses que se consideran como la época lluviosa (mayo a octubre). De acuerdo con los resultados de la comparación por pares con Adonis (Apéndice 10), los meses que presentan diferencias significativas entre las coloraciones dorsales de mariposas Nymphalidae fueron: noviembre y diciembre ($P=0.016$), noviembre y octubre ($P=0.028$), junio y diciembre ($P=0.035$), junio y octubre ($P=0.026$), agosto y diciembre ($P=0.01$), agosto y octubre ($P=0.013$), septiembre y diciembre ($P=0.017$) y septiembre y octubre ($P=0.009$).

La gráfica de proporciones de grupos de color de la superficie ventral de Nymphalidae por mes obtuvo resultados similares a la superficie dorsal, en donde los meses de la época lluviosa obtuvieron representación de más grupos de color, respecto a los meses de la época seca (Fig. 23). Los meses que presentan diferencias significativas de acuerdo con los resultados de Adonis fueron: noviembre y mayo ($P=0.015$), noviembre y diciembre ($P=0.008$), mayo y agosto ($P=0.01$), mayo y septiembre ($P=0.005$), agosto y diciembre ($P=0.018$), agosto y abril ($P=0.045$), septiembre y diciembre ($P=0.011$), septiembre y octubre ($P=0.03$), septiembre y abril ($P=0.045$) y diciembre y julio ($P=0.042$).

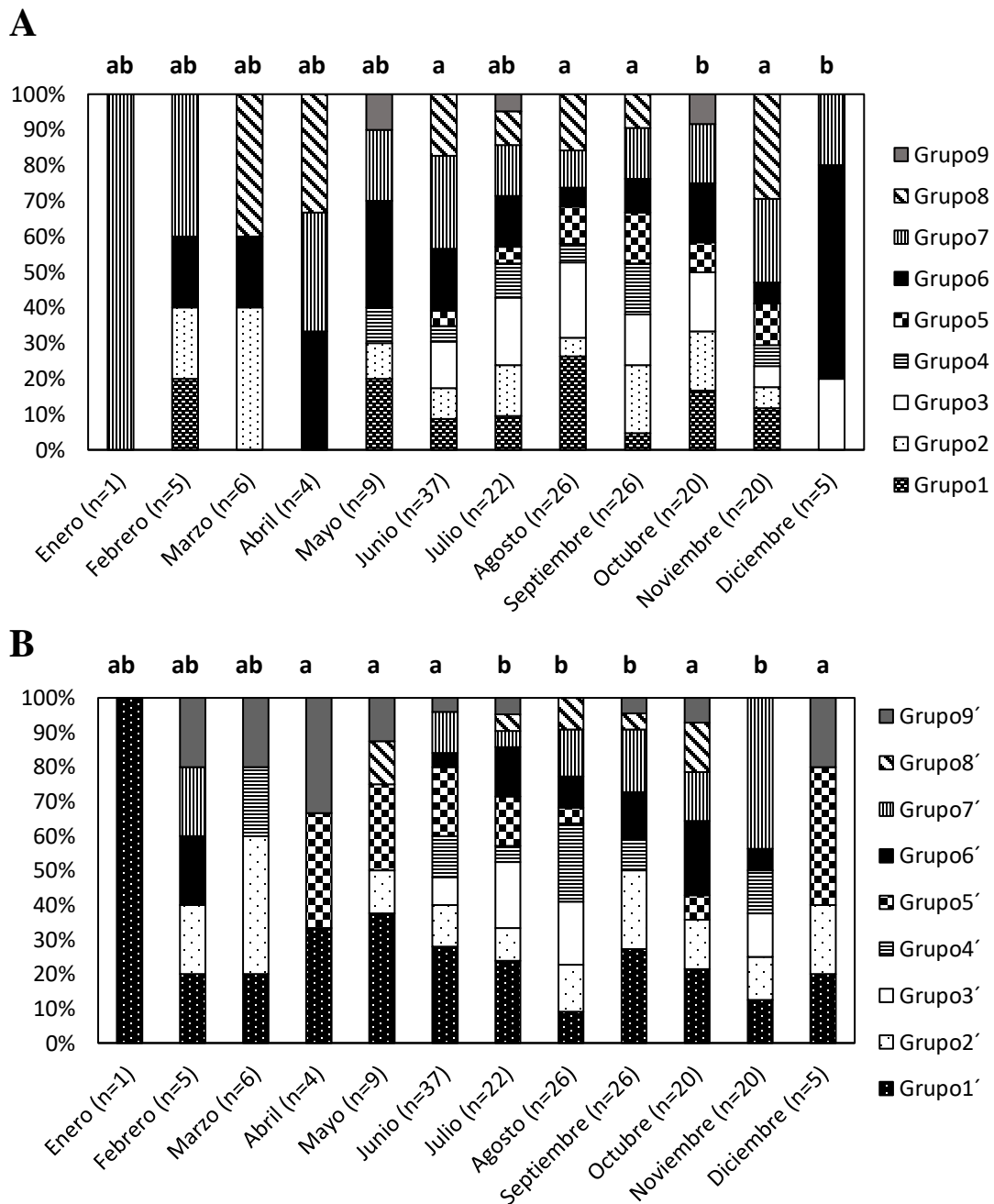


FIGURA 23. Gráfica de proporciones de los 9 grupos de coloración (según análisis de conglomerados) por cada mes del año para Nymphalidae, en vista dorsal (A) y vista ventral (B). *Nota: Las diferentes letras (a, b) simbolizan diferencias significativas entre los meses. La cantidad de individuos colectados por mes se muestra entre paréntesis.

Las subfamilias de Nymphalidae con mayor diversidad de coloraciones dorsales son Biblidinae y Nymphalinae, mientras que Satyrinae y Libytheinae son las subfamilias con menor diversidad de coloraciones dorsales (Fig. 24). Adicionalmente, los resultados de la comparación por pares para la variable 'subfamilia' sugieren que las subfamilias con individuos con coloraciones dorsales más distintas entre sí ($P \leq 0.001$) son: Charaxinae y Nymphalinae; Charaxinae y Biblidinae; Charaxinae y Satyrinae; Nymphalinae y Heliconiinae; Nymphalinae y Biblidinae; Nymphalinae y Satyrinae; Limenitidinae y Biblidinae; Limenitidinae y Satyrinae; Heliconiinae y Satyrinae; Heliconiinae y Biblidinae; Satyrinae y Danainae; y Satyrinae y Cyrestinae (ver Apéndice 10 para $P < 0.05$ y $P \leq 0.01$).

Las subfamilias de Nymphalidae con mayor diversidad de coloraciones ventrales son Biblidinae y Nymphalinae, mientras que Libytheinae y Danainae son las que presentan menor diversidad de coloraciones ventrales (Fig. 24). Por otro lado, los resultados de la comparación por pares para la variable 'subfamilia' sugieren que las subfamilias con individuos con coloraciones ventrales más distintas entre sí ($P \leq 0.001$) son: Charaxinae y Biblidinae; Charaxinae y Satyrinae; Nymphalinae y Biblidinae; Nymphalinae y Satyrinae; Nymphalidae y Danainae; Limenitidinae y Satyrinae; Limenitidinae y Danainae ; Heliconiinae y Biblidinae; Heliconiinae y Satyrinae; Biblidinae y Satyrinae; Biblidinae y Danainae; y Satyrinae y Danainae (ver Apéndice 10 para $P < 0.05$ y $P \leq 0.01$).

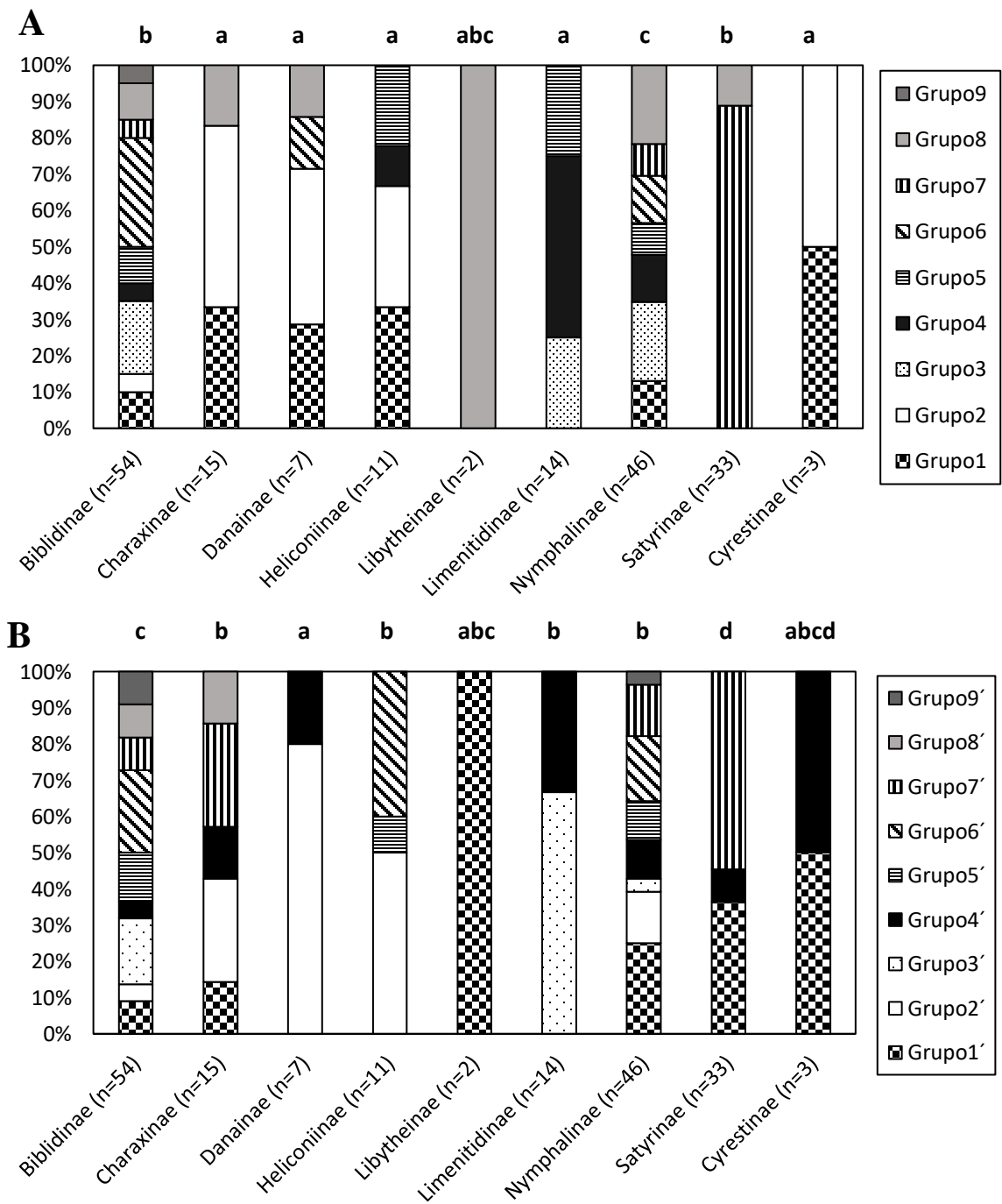


FIGURA 24. Gráfica de proporciones de los grupos de coloración (según análisis de conglomerados) por subfamilia de Nymphalidae, en dorsal (A) y ventral (B). *Nota: Las diferentes letras (a, b, c, d) simbolizan diferencias significativas entre los meses ($p > 0.001$). La cantidad de individuos colectados por subfamilia se muestra entre paréntesis.

IV. DISCUSIÓN

A. Cuantificación de color (Nymphalidae)

A partir de los análisis de conglomerados de Nymphalidae, se demostró que las especies de esta familia presentan mayor variación intraespecífica en sus perfiles de coloración de la superficie ventral, comparado a la superficie dorsal. En el dendrograma del análisis de la vista dorsal, los diferentes individuos de las mismas especies tendieron a agruparse dentro de los mismos clusters, exceptuando aquellas especies con dimorfismo sexual. Contrariamente, en el dendrograma del análisis de la vista ventral, los diferentes individuos de 21 especies (sin contar las especies con dimorfismo sexual) se agruparon en clusters distintos, sugiriendo una mayor diversidad intraespecífica en las coloraciones ventrales.

Dentro de las 89 especies de Nymphalidae, las que presentan coloraciones más llamativas y metálicas son *Bolboneura sylphis* y *Diaethria astala* (Figs. 14 y 16). El caso de *D. astala* es interesante, puesto que todos los individuos se agruparon en un cluster bien diferenciado al resto de especímenes de Nymphalidae. Esto se debe a que es la única especie estudiada aquí que presentó tonalidades azules en su vista dorsal. Sin embargo, es importante aclarar que existen otras especies de Nymphalidae con colores azules, como *Morpho* y *Memphis*, sin embargo, o no son abundantes en el bosque seco, o bien, no se cuenta con ejemplares en la colección.

A simple vista podría considerarse que las coloraciones llamativas (ej. *D. astala* y *B. sylphis*) son perjudiciales para el organismo de manera que los hace más conspicuos y presa fácil de depredadores. Sin embargo, evolutivamente hablando, muchas mariposas brillantes están protegidas químicamente, son miméticas o son demasiado difíciles de atrapar (Penz y Mohammadi, 2013). Aquellas mariposas con defensa química suelen tener alas más robustas y vuelo lento (Pinheiro y Freitas, 2014). Mientras que las mariposas sin defensa química ni coloraciones aposemáticas adquieren otros mecanismos como las estructuras focales en las alas, para desviar la atención del depredador del

cuerpo de la mariposa; alas frágiles, lo cual les permite librarse del ave perdiendo solo un trozo del ala; y/o vuelos ágiles para escapar con mayor rapidez (Pinheiro y Freitas, 2014; Bergen y Beldade, 2019). En el caso de *B. sylphis* y *D. astala*, no se encontró reportes que señalen mecanismos de toxicidad o mimetismo, por lo que se sugiere que ambas especies compensan sus colores conspicuos con otras tácticas como vuelo ágil y alas frágiles y llamativas para desviar la atención del cuerpo.

En los últimos años, la hipótesis del “mimetismo de escape” ha cobrado interés (*e.g.* Pinheiro y Freitas, 2014; Llaurens, *et al.*, 2021). Esta hipótesis sugiere que al igual que en la defensa química, la capacidad de escape en mariposas puede asociarse a su coloración por parte de los depredadores. En ese sentido, para una especie que no es hábil en el escape, imitar los colores de una especie simpátrica que sí lo es, le proporcionaría cierta protección contra los depredadores que han aprendido a evitar tales patrones, bajo el supuesto que son difíciles de capturar (Llaurens, *et al.*, 2021). Pinheiro y Freitas (2014) propusieron un caso de mimetismo de escape en donde las especies “apetecibles por depredadores”: *Dryas iulia* (Heliconiinae) y *Marpesia petreus* (Cyrestinae), y las “no apetecibles”: *Dione junonia*, *Dione moneta*, *Eueides lybia*, *Eueides aliphera* y *Dryadula phaetusa* (Heliconiinae), cohabitan en muchos sitios relativamente perturbados. Asimismo, se sugirió un caso de mimetismo batesiano, en donde *D. iulia* funciona como organismo modelo para *M. petreus* (imitador) (Pinheiro y Freitas, 2014). En el presente estudio, en el análisis de conglomerados de la superficie dorsal de Nymphalidae (Fig. 14; Apéndice 6) se observó dentro de dos mismos clusters (Grupo 1 y 2) la agrupación de individuos de *D. junonia*, *D. iulia* y *M. petreus*, sustentando la hipótesis reportada de algún tipo de mimetismo entre las especies mencionadas, dado a que las similitudes de los perfiles de coloración no se deben solo a la ascendencia común (subfamilias diferentes son agrupadas, *e.g.* Heliconiinae y Cyrestinae).

En el dendrograma del análisis de la vista dorsal de Nymphalidae, se observó la agrupación de todos los individuos de la subfamilia Satyrinae en un solo cluster (Grupo 6; Fig. 14; Apéndice 6). Este resultado es interesante, pues se considera a Satyrinae como la subfamilia de tasas de diversificación más altas dentro de Nymphalidae, lo que está ligado

a la radiación de Poaceae hace 36-23 Ma (Marín, *et al.*, 2011). Sin embargo, en el análisis de conglomerados de la vista ventral, las especies de Satyrinae se agruparon en dos clusters diferentes: *Cissia similis* y *C. themis* (y algunos ejemplares de *Hermeuptychia hermes* y *Cyllopsis pephredo*) en el Grupo 1', y el resto de especies de los géneros *Cyllopsis*, *Euptychia*, *Hermeuptychia* y *Taygetis* se agruparon dentro del Grupo 7' (Fig. 16).

Adicionalmente, todos los machos de la subfamilia Charaxinae (*Anaea aidea*, *Fountainea glycerium* y *Zaretis ellops*) se agruparon en un mismo cluster (Grupo 2) en el análisis de la vista dorsal (Fig. 14). Sin embargo, para la vista ventral, no se observó este patrón (Fig. 16). Las tres especies de Charaxinae del presente estudio presentan patrones y colores crípticos que mimetizan hojas muertas, una apariencia útil en reposo o cuando se alimentan de fruta podrida caída (Penz y Mohammadi, 2013).

Dentro de las especies estudiadas, hay varias que presentan coloraciones metálicas en la superficie dorsal, tales como: *Diaethria astala*, *Bolboneura sylphis*, *Dynamine dyonis* (macho), *Dynamine postverta* (macho), *Eunica monima*, *Hamadryas atlantis* y *Hamadryas guatemalena*. Algunas otras presentan coloraciones metálicas en la superficie ventral, como: *Agraulis vanillae*, *Dynamine dyonis*, *Dione junco*, *Dione moneta*, *Dynamine postverta* y *Dynamine theseus*. Las coloraciones metálicas están presentes en varias subfamilias y géneros de Nymphalidae, lo que sugiere que las morfologías subyacentes a ellas pueden ser relativamente "accesibles" en el sentido evolutivo (Ren, *et al.*, 2020).

B. Cuantificación de color (Géneros *Urbanus*, *Hemiargus* y *Pyrisitia*)

La cuantificación de perfiles de color de alas de mariposas con *Colordistance*, no permite la distinción de colores metálicos, únicamente de "colores planos", sin embargo, visualmente se detectaron diferentes coloraciones en los individuos metálicos, como los tonos morados en *Hemiargus hanno* y azules *Urbanus esmeraldus* y *U. viterboana* (Fig. 18; Apéndice 8). Para algunas especies de Lycaenidae, se ha demostrado que sus escamas

metálicas poseen pigmentación, probablemente de melanina para aumentar el índice de refracción de la quitina, sin embargo, en especies de Hesperidae, las escamas metálicas carecen de pigmento (Ren, *et al.*, 2020). Para confirmar si esto se cumple con las especies de *Hemiargus* y *Urbanus*, son necesarios más estudios.

Además, se determinó que *Hemiargus* presenta la mayor diferencia de perfil de coloración de alas de la superficie ventral respecto a la dorsal entre los tres géneros evaluados. Para ciertas especies de la subfamilia Polyommatae, la superficie ventral de las alas es utilizada como una señal morfológica especie-específica que permite que las hembras al posar con las alas cerradas, sean detectadas fácilmente por los machos que patrullan sus hábitats en búsqueda de pareja (Bálint *et al.*, 2012). Asimismo, las hembras deben detectar a los machos que se aproximan a ellas, por lo que los colores azules están bien ajustados para permitir el reconocimiento seguro de pareja/competidor dentro de la fauna local de mariposas, tal podría ser el caso de ambas especies de *Hemiargus* en el bosque seco de Guatemala.

Por otro lado, se puede destacar que las tonalidades metálicas de *U. viterboana* y *U. esmeraldus* se encuentran en el tórax y en la parte basal de la superficie dorsal de las alas. Se ha reportado cierta tendencia que los individuos iridiscentes exhiben una mayor absorción solar a los no iridiscentes (Bosi, *et al.*, 2018). En ese sentido, se hipotetiza que la posición del azul metálico en *Urbanus* se relaciona con la termorregulación. Los individuos de este género suelen posarse con las alas cerradas, pero cuando están tomando el sol (“sun-basking behavior”) suelen posarse con las alas abiertas o semiabiertas (J. Yoshimoto, observación personal), dejando al descubierto sus colores metálicos.

C. Relación con variables ambientales y otras variables descriptivas

1. Familia Nymphalidae

Varios casos de estudio en sitios con estaciones climáticas marcadas han encontrado que los individuos de la estación seca presentan coloraciones menos llamativas y patrones de alas crípticos contra el follaje seco de su estación, mientras que los individuos de la

época lluviosa presentan patrones y adornos contrastantes, con coloraciones más llamativas (Lyytinen, *et al.* 2004; Brakefield y Frankino 2009; Bergen y Beldade, 2019). Por ejemplo, la mariposa *Bicyclis anynana* ha sido un modelo de estudio de este fenómeno, porque se ha registrado que los individuos de la estación seca presentan pequeños elementos en el patrón de las alas que se camuflan contra el fondo marrón de las hojas secas, mientras que los individuos de la estación húmeda tienen grandes manchas oculares marginales que desvían la atención de los depredadores del cuerpo más vulnerable (Bergen, *et al.*, 2019). Además, los estudios en múltiples especies de mariposas sugieren que los cambios inducidos por el medio ambiente en la hormona ecdisona son un determinante clave de la plasticidad del patrón de color (Burg, *et al.*, 2021).

La hipótesis original de este estudio no se comprobó, ya que a partir del ANOSIM se determinó que no existe diferencia entre las coloraciones dorsales ni ventrales de las mariposas Nymphalidae de la época seca respecto a las de la época lluviosa (Cuadro 4). No obstante, al analizar las proporciones, se detectó que hay algunos grupos de color que prevalecen en la época seca. En el caso de la superficie dorsal de Nymphalidae, los Grupos 6, 7 y 8 (colores grises, cafés y ocre) demostraron ser prevalentes en la época seca (proporción >60%) sobre otros grupos de color (naranjas, rojizos, negros, morados y verdosos). En la superficie ventral, el Grupo prevalente en la época seca fue el Grupo 2' y 7' (cafés y ocre).

Los resultados anteriores coinciden con el patrón observado en Bergen, *et al.* (2019), donde los individuos de la época seca presentaron colores menos conspicuos (“más cafés”) que los individuos de época lluviosa. En Bergen, *et al.* (2019), también se reportó un cambio en el comportamiento, en donde los individuos de la época seca tienden a tener una mayor preferencia a perchar sobre superficies de color café. Algo similar podría estar ocurriendo con las mariposas Nymphalidae del presente estudio, pues su hábitat, el bosque estacionalmente seco, se caracteriza por cambiar radicalmente su apariencia a nivel de paisaje en términos de vegetación, presentando una cobertura más café en la época seca (Yoshimoto, *et al.*, 2018; Fig. 5 y 6). Adicionalmente, la prevalencia de

colores cafés en la época seca complementa un hallazgo de Yoshimoto *et al.*, (2019) donde se encontró que *Cissia* (Nymphalidae: Satyrinae) presentó mayor abundancia en la época seca; las coloraciones dorsales y ventrales de este género se asignaron al Grupo 6 y 1', respectivamente, en el presente estudio (Figs. 14 y 16).

Interesantemente, se demostró que los individuos de Nymphalidae colectados en los diferentes meses del año poseen coloraciones dorsales y ventrales que son significativamente diferentes entre sí (Figs. 23 y 24). En la vista dorsal, se observó un patrón claro en donde los meses de diciembre a abril presentaron una menor diversidad de grupos de coloración (<4 Grupos presentes), mientras que de junio a noviembre existe una mayor diversidad de grupos de coloración (>7 Grupos presentes; Fig. 23). El mes de mayo presentó una diversidad de coloraciones intermedia, lo cual se puede asociar a los resultados reportados anteriormente sobre la fenología y composición de especies durante ese mes.

Yoshimoto *et al.* (2019) reportaron una disminución en la riqueza de especies de mariposas en la Reserva Heloderma durante la época seca, la cual podría ser debido a la escasez de recursos alimenticios tanto para los estadios larvales como para los adultos. Asimismo, la riqueza de especies sigue siendo baja en mayo (Yoshimoto, *et al.* 2019), que es un periodo de transición entre ambas épocas, dado a que las condiciones y fenología vegetal en este mes es similar a la de finales de la estación seca. Estos patrones estacionales de mariposas podrían estar asociados a la proporción de los grupos de coloración encontrados en el presente estudio. Además, en términos generales, los patrones de precipitación reportados para ambos sitios (Fig. 1 en Yoshimoto *et al.* 2018 y Fig. 3 en Yoshimoto *et al.* 2019), coinciden con los picos de diversidad de colores observados en cada mes del año. Sin embargo, se requieren más estudios para relacionar ambas variables.

Se hipotetizaba que el sitio de colecta podría ser un factor que afectara los patrones de coloración de alas de mariposas dado que Los Cerritos está ubicado en el Valle de Chixoy y su flora difiere en parte de la de la Reserva Heloderma, ubicada en el Valle de Motagua

(Yoshimoto, *et al.*, 2018, 2019). Sin embargo, entre estos sitios no se encontraron diferencias significativas en los colores dorsales ni ventrales de Nymphalidae (Cuadro 4).

2. Géneros *Hemiargus*, *Pyrisitia* y *Urbanus*

En términos del género *Hemiargus*, se detectaron diferencias significativas entre las coloraciones ventrales de mariposas de diferentes niveles para todas las variables ambientales: época, sitio, año de colecta y especie (Cuadro 4). Sin embargo, cabe aclarar que el tamaño de la muestra fue pequeño (n=16) y por lo tanto, los resultados de ANOSIM podrían no ser concluyentes. Además, el análisis de conglomerados de la superficie ventral de las alas situó a todos los individuos de *Hemiargus* en el mismo cluster (Grupo A'), lo cual sugiere que no hay diferencias relevantes en los perfiles de coloración ventral de este género. En la superficie dorsal, no se reportaron diferencias significativas entre los diferentes niveles de ninguna variable, no obstante, se conoce que en las especies de la subfamilia Polyommatinae, los machos presentan coloraciones azul/moradas metálicas y las hembras tienden a ser cafés (Kertész, *et al.*, 2017). Por esta razón, es recomendable llevar a cabo la clasificación sexual de los organismos para poder incluir el sexo como una variable en la parte de análisis.

El género *Pyrisitia* fue el único con la clasificación de sexo disponible para todos los individuos fotografiados, por lo tanto, esta variable se incluyó en el análisis de similitud. Se determinó que existe una diferencia significativa entre machos y hembras de *Pyrisitia*, tanto para las coloraciones dorsales como ventrales. El dicromatismo sexual más marcado se encontró en la especie *P. proterpia*, en donde los machos presentan coloraciones anaranjadas fuertes, y las hembras presentan anaranjados más tenues (Apéndice 8). Además de la variación sexual, se encontró que existe una alta variación intraespecífica en los individuos de *P. proterpia* (Apéndice 11), por lo que sería importante continuar la investigación con este grupo.

No se detectaron diferencias significativas de coloración dorsal entre las diferentes especies del género *Urbanus*. Los adultos de Hesperiiidae tienden a presentar colores discretos y crípticos entre marrones y grises, y se ha hipotetizado que es una adaptación a

los pastizales y gramíneas en donde dichas especies suelen habitar (Sahoo, *et al.*, 2017). Asimismo, la selección sexual no es un factor importante que ejerza efecto sobre la coloración dorsal de la mayoría de Hesperiiidae (Medina, *et al.*, 2020). Sin embargo, en el presente estudio no se contaba con la clasificación sexual de los individuos de *Urbanus*, por lo que no se puede comprobar el efecto de esta variable.

D. Métodos de análisis de coloración

Tradicionalmente, los estudios de variación de coloración en alas de lepidópteros tienden a coleccionar individuos durante solo una temporada (o estación) de campo, y suelen utilizar métodos de cuantificación de color muy invasivos, que terminan destruyendo al ejemplar (como la espectrofotometría) y por lo tanto, se reduce el tamaño de la muestra (Cuthill, *et al.*, 2017). Las colecciones biológicas en combinación con métodos de cuantificación de color no invasivos (*e.g.* *Colordistance* de R) representan una solución a varios de estos problemas en tres sentidos: 1) las colecciones biológicas resguardan datos de al menos décadas de muestreo, permitiendo tener individuos colectados en diferentes estaciones a lo largo de un plazo extendido de años; 2) los nuevos métodos como *Colordistance* permiten cuantificar el color de las alas a partir de imágenes, de modo que ningún ejemplar es destruido en el proceso y; 3) el tamaño de la muestra no es limitante, pues se puede acceder a bases de datos de colecciones biológicas internacionales y de múltiples años (Echeverría y Hulshof, 2019; Weller y Westneat, 2019).

Recientemente, han surgido varios protocolos de digitalización en portales de biodiversidad (*e.g.* Portal de Biodiversidad de Guatemala: <https://biodiversidad.gt/portal/>) que permiten la estandarización de imágenes en dichas colecciones. Es de suma relevancia que todas las colecciones digitales se sumen a estos estándares de digitalización, que incluyen una tarjeta de color para la corrección del balance de blancos y una barra de escala para la calibración del tamaño de la muestra, de manera que los datos sean de acceso libre y estandarizados para su uso en análisis macroecológicos (Echeverría y Hulshof, 2019). La Colección de Artrópodos de la Universidad del Valle de Guatemala (UVGC) ha tenido varios avances en este tema, en tan solo 3 años de trabajo,

se han logrado digitalizar más de 2,000 registros en el portal GBIF (Universidad del Valle de Guatemala, 2022). Esto resalta la relevancia de estudios como este que visibilizan la importancia de las colecciones biológicas.

Durante la toma de fotografías de este estudio, se procuró mantener las condiciones más homogéneas posibles para evitar sesgos. Tanto las condiciones de iluminación, como los parámetros del ISO y de la velocidad de disparo, son factores que de no ser tratados, pueden ocasionar ruido en las imágenes y ser una fuente de error para los análisis (Tronscianko y Stevens, 2015). Por esta razón, para todas las fotografías se utilizó la misma caja de luz posicionada en el mismo sitio, con las lámparas colocadas en la misma dirección y con la misma intensidad de luz. Además, se calibró el ISO con una cartilla del color del fondo y se establecieron los mismos parámetros para todas las fotografías (a excepción de la velocidad). Otro paso importante para mantener la información de color lo más fiel posible fue la calibración mediante el ColorChecker Classic (Apéndice 1). Esta herramienta es un objetivo de color estándar útil para reproducir los colores de una imagen de forma realista, reduciendo el sesgo de la iluminación y la gestión de color en distintas marcas de cámara (Kordecki y Palus, 2014).

La exclusión del color de fondo fue otro procedimiento clave en la reducción de factores de error. Para asegurar que el programa no leyera píxeles que pertenecían al fondo, se seleccionó un color contrastante que no está presente en ninguna de las mariposas estudiadas aquí (verde brillante). En general, el paquete de *Colordistance* fue muy efectivo para excluir del análisis los píxeles que pertenecían al fondo. Sin embargo, para algunas especies, la cuantificación de color y la lectura de píxeles arrojó un contenedor de color verde. Se realizaron diferentes pruebas para eliminar estos píxeles en el análisis, pero se determinó que era un artefacto de la técnica que no afectaría en los análisis posteriores, debido a que la representación de este color era menor al 1% en todos los casos. Por otro lado, el alfiler entomológico con el que se posicionaban las mariposas sobre el fondo, no se enmascaró con el color verde uniforme, por lo que fue incluido como parte del objeto en todos los casos. Dado a que todos los organismos poseían un alfiler del mismo color y tamaño, se determinó que no afectaría en el análisis, sin

embargo, se recomienda enmascararlo para análisis más robustos, o de ser posible, tomar las fotografías retirando el alfiler del organismo.

V. CONCLUSIONES

No se evidenció una diferencia significativa entre la época seca y la lluviosa en el perfil de coloración de alas de lepidópteros diurnos (Nymphalidae) colectados en dos bosques secos de Guatemala. Sin embargo, sí se detectaron diferencias significativas entre varios meses de colecta y, entre ellos, muchos casos en donde los meses pertenecen a ambas estaciones del año.

Se detectó una prevalencia de perfiles de coloración de Nymphalidae con abundantes tonos cafés y grises durante la época seca, mientras que, en la época lluviosa, tienden a presentarse una mayor variedad de perfiles de coloración. Se sugiere que este patrón observado se debe al cambio drástico en la cobertura vegetal que atraviesan ambos sitios de colecta durante la época seca, que favorece a los organismos con colores menos conspicuos.

A partir de la cuantificación de coloración de los 3 géneros evaluados, se concluyó que *Hemiargus* y *Urbanus* presentan poca variación interespecífica, mientras que las especies estudiadas de *Pyrisitia* difieren entre sí. Asimismo, *P. proterpia* presenta una alta variación cromática intraespecífica, y aunque se determinó que el sexo es una variable efectora de dicha diferencia, se sugiere que existen otras variables no evaluadas aquí que podrían estar causando las diferencias observadas.

VI. RECOMENDACIONES Y FUTUROS PASOS

El presente estudio solo consideró los perfiles de coloración para los diferentes análisis ejecutados. Lo que quiere decir que dos organismos con los mismos colores, pero patrones o distribuciones espaciales completamente distintas, pueden tener una puntuación de similitud muy alta. En el caso de lepidópteros, el patrón de coloración de alas es importante a considerar, pues las adaptaciones morfológicas y rasgos como marcas focales, venas, transparencias y forma de las alas son clave para su biología y evolución. Por esta razón, se recomienda continuar el análisis con herramientas complementarias como *patternize*. Este es un paquete de R que cuantifica la variación en los patrones de color obtenidos a partir de datos de imagen, primero define la homología entre las posiciones de los patrones en las muestras, y categoriza la distribución de colores usando un umbral RGB, agrupamiento de k-medias o transformación de cuencas hidrográficas (Van Belleghem, *et al.*, 2018).

Asimismo, se determinó que las coloraciones metálicas son rasgos no detectados por los canales de color RGB disponibles en *Colordistance*, y al reducir la información de los colores de estos organismos metálicos a un color plano sin reflectancia, se podría ocasionar la pérdida de información importante para el análisis. Por esta razón, coincidimos con los autores del paquete, en que es importante la inclusión de canales UV para poder analizar estas coloraciones metálicas. Asimismo, se recomienda incluir en el análisis otros espacios de color como CIE Lab, que aunque es una metodología computacionalmente más costosa (respecto a RGB, que no requiere de un paso de conversión de espacio de color), permite resultados más precisos al reflejar distancias de color intuitivas sin los problemas de no linealidad (Weller y Westneat, 2019).

Es importante mencionar que existen muchas variables del ambiente que no fueron evaluadas en este estudio, que pueden ejercer un efecto sobre los patrones de coloración de mariposas y su evolución. Dado que se sabe que el color puede estar involucrado en la termorregulación, la crípsis, el aposematismo y la selección sexual, sería importante

estudiar el efecto de variables como la presión de los depredadores, las fluctuaciones en la precipitación a través del año, los niveles de toxicidad de las mariposas y las coloraciones de fondos (troncos de árboles, flores, etc.) sobre los que se posan las mariposas, sobre el color de alas de los organismos (Medina, *et al.*, 2020).

De acuerdo con los resultados obtenidos, el género *Pyrisitia* posee una alta variación cromática tanto intraespecífica como interespecífica. Se hipotetiza que existen más variables, adicionales al sexo y la especie misma, que podrían estar causando esta variación en los perfiles de coloración. Por esto, se recomienda continuar con un estudio más exhaustivo con un mayor esfuerzo de colecta para este género.

La replicabilidad y continuación en proyectos de investigación son pilares fundamentales en la ciencia. Al emplear muestras de la UVGC, esta investigación abre la oportunidad a que se lleve un monitoreo de las fluctuaciones o cambios de coloración en alas de mariposas a largo plazo. De esta manera, se podrían sentar las bases para comprender el efecto del cambio climático sobre la coloración de las alas de mariposas a través de los años, y así modelar posibles efectos con base en los diferentes escenarios de clima a futuro. Dicha aplicación es de vital importancia, pues se ha reportado que la temperatura alterada y cambios en otros regímenes ambientales tendrá efectos en la fenología y morfología de las mariposas (Davies, 2019).

Por otro lado, para continuar el estudio, se sugiere incluir el análisis de los perfiles de coloración de mariposas diurnas colectadas en otro sitio con un ecosistema distinto, como un bosque nuboso. Esta comparación sería interesante para evaluar si la prevalencia reportada de los colores cafés en la época seca se debe a la marcada estacionalidad exclusiva del bosque seco, o bien, si este u otro patrón está presente en las mariposas de otra región de Guatemala.

A su vez, es recomendable realizar diferentes pruebas con otros métodos no evaluados aquí, para llegar a un protocolo más estandarizado. Se considera importante recomendar:

- 1) para la toma de fotografías, emplear un lente macro para la toma de fotografías de los

ejemplares pequeños (como *Hemiargus*), 2) para las matrices de distancia, probar otras métricas como X^2 además de EMD, 3) para la agrupación de colores, considerar otro método adicional a k-medias, y 4) para la cuantificación de color, probar el uso de otros espacios de color como CIE Lab.

VII. REFERENCIAS

Alonso, A (2022). Análisis de comunidades: ANOSIM y NMDS. Rpubs, accessed 15 agosto 2022. Disponible en: <https://rpubs.com/aafernandez1976/ANOSIMyNMDS>

Ariano-Sánchez, D. y Salazar, G. (2015). Spatial ecology of the endangered Guatemalan Beaded Lizard *Heloderma charlesbogerti* (Sauria: Helodermatidae), in a tropical dry forest of the Motagua Valley, Guatemala. *Mesoamerican Herpetology*, 2 (1): 64-74.

Argibay, J. (2009). Muestra en investigación cuantitativa. *Subjetividad y procesos cognitivos*, 13(1), 13-29.

Austin, G. T., Haddad, N. M., Méndez, C., Sisk, T. D., Murphy, D. D., Launer, A. E., y Ehrlich, P. R. (1996). Annotated checklist of the butterflies of the Tikal National Park area of Guatemala. *Tropical Lepidoptera* 7(1): 21–37.

Austin, G. T., Méndez, C., y Launer, A. E. (1998). A preliminary checklist of Guatemala butterflies: HesperIIDae (Lepidoptera: Hesperioidea). *Tropical Lepidoptera* 9 (Supplement 2): 8-19.

Bálint, Z., Kertész, K., Piszter, G., Vértesy, Z., y Biró, L. (2012). The well-tuned blues: the role of structural colours as optical signals in the species recognition of a local butterfly fauna (Lepidoptera: Lycaenidae: Polyommatainae). *Journal of the Royal Society Interface*, 9(73), 1745-1756.

Barrios, M. V., Méndez, C. A., y Austin, G. T. (2006). Las HesperIIDae (Lepidoptera: Hesperioidea) de Guatemala. Pp. 431–439. En: Cano, E. B. (ed.) *Biodiversidad de Guatemala*. Vol. I. Universidad del Valle de Guatemala.

Beck, J., y Fiedler, K. (2009). Adult life spans of butterflies (Lepidoptera: Papilionoidea+ Hesperioidea): broadscale contingencies with adult and larval traits in multi-species comparisons. *Biological journal of the Linnean Society*, 96(1), 166-184.

Bergen, E., y Beldade, P. (2019). Seasonal plasticity in anti-predatory strategies: Matching of color and color preference for effective crypsis. *Evolution Letters*, 3(3), 313-320.

Bonoan, R., Crone, E., Edwards, C., y Schultz, C. (2021). Changes in phenology and abundance of an at-risk butterfly. *Journal of Insect Conservation*, 25(3), 499-510.

Bosi, S., Hayes, J., Large, M. y Poladian, L. (2008). Color, iridescence, and thermoregulation in Lepidoptera. *Applied Optics*, 47(29), 5235-5241.

Brakefield, P. y Larsen, T. (1984). The evolutionary significance of dry and wet season forms in some tropical butterflies. *Biological journal of the Linnean society*, 22(1), 1-12.

Brakefield, P. y Frankino, W. (2009). *Polyphenisms in Lepidoptera: Multidisciplinary approaches to studies of evolution and development. In Phenotypic plasticity of insects: mechanisms and consequences*. Science Publishers, Inc., Enfield, CT, 337–368.

Brunetti, C., Selegue, J., Monteiro, A., French, V., Brakefield, P., y Carroll, S. (2001). The generation and diversification of butterfly eyespot color patterns. *Current Biology*, 11(20), 1578-1585.

Burg, K. y Reed, R. (2021). Seasonal plasticity: how do butterfly wing pattern traits evolve environmental responsiveness? *Current Opinion in Genetics & Development*, 69, 82-87.

Caro, T., Stoddard, M., y Stuart-Fox, D. (2017). Animal coloration research: why it matters. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1724), 1-8

Clarke, K. y Green, R. (1988) Statistical design analysis for a “biological effects” study. *Marine Ecology Progress Series* 46: 213–26.

CONAP-ZOOTROPIC-CECON-TNC. (2011). Plan de conservación de las regiones secas de Guatemala. Ariano, D. y E. Secaira (eds.), Technical document No.99:01-2011, Guatemala.

Crossley, M., Smith, O., Berry, L., Phillips-Cosio, R., Glassberg, J., Holman, K., y Snyder, W. (2021). Recent climate change is creating hotspots of butterfly increase and decline across North America. *Global Change Biology*, 27(12): 2702-2714

Davies, W. (2019). Multiple temperature effects on phenology and body size in wild butterflies predict a complex response to climate change. *Ecology*, 100(4), e02612.

Devries, P., y Walla, T. (2001). Species diversity and community structure in neotropical fruit-feeding butterflies. *Biological Journal of the Linnean Society*, 74(1), 1-15.

Dirzo, R., Young, H.S., Mooney, H. A., y Ceballos, G. (2011). *Seasonally Dry Tropical Forests: Ecology and Conservation*. Island Press, Washington D. C.

Echevarría, R. y Hulshof, C. (2019). Using digitized museum collections to understand the effects of habitat on wing coloration in the Puerto Rican monarch. *Biotropica*, 51(4), 477-483.

Freitas, A. V. L., y Brown Jr, K. S. (2004). Phylogeny of the Nymphalidae (Lepidoptera). *Systematic Biology*, 53(3), 363-383.

Grabowski, M., y Porto, A. (2017). How many more? Sample size determination in studies of morphological integration and evolvability. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(5), 592-603.

Heppner J. B. (2004). *Atlas of Neotropical Lepidoptera*. Vol. 5A. Gainesville, Association for Tropical Lepidoptera; Scientific Publishers.

Hiyama, A., Taira, W., y Otaki, J. M. (2012). Color-pattern evolution in response to environmental stress in butterflies. *Frontiers in Genetics*, 3, 15.

Kertész, K., Piszter, G., Horváth, Z. E., Bálint, Z., y Biró, L. P. (2017). Changes in structural and pigmentary colours in response to cold stress in *Polyommatus icarus* butterflies. *Scientific Reports*, 7(1), 1-12.

Klockmann, M., Kleinschmidt, F., y Fischer, K. (2017). Carried over: Heat stress in the egg stage reduces subsequent performance in a butterfly. *PLoS One*, 12(7), e0180968.

Kordecki, A., y Palus, H. (2014). Automatic detection of colour charts in images. *Prz. Elektrotech*, 90, 197-202.

Krenn, H., Wiemers, M., Huber, W., Albert, R., Weissenhofer, A., Maurer, L. y Pemmer, V. (2010). *Butterflies of the Golfo Dulce Region Costa Rica*. Tropical Research Station La Gamba, Costa Rica.

Krishna, A., Nie, X., Briscoe, A. D., y Lee, J. (2021). Air temperature drives the evolution of mid-infrared optical properties of butterfly wings. *Scientific Reports*, 11(1), 1-10.

Kristensen, N. (1998). Lepidoptera: Moths and Butterflies 1. Evolution, Systematics and Biogeography. *Handbook of Zoology*. Walter de Gruyter, Berlin & New York.

Kristensen, N., Scoble, M., y Karsholt, O. (2007). Lepidoptera phylogeny and systematics: the state of inventorying moth and butterfly diversity. *Zootaxa*, 1668(1), 699-747.

Kunte, K. (2009). The diversity and evolution of Batesian mimicry in Papilio swallowtail butterflies. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 63(10), 2707-2716.

Kwon, T., Lee, C., Kim, E., Won, M., Kim, S, y Park, Y. (2021). Habitat change has greater effects than climate change on butterfly occurrence in South Korea. *Global Ecology and Conservation*, 26: e01464.

Legal, L., Valet, M., Dorado, O., Jesus-Almonte, J., López, K., y Céréghino, R. (2020). Lepidoptera are relevant bioindicators of passive regeneration in tropical dry forests. *Diversity*, 12(6), 231.

Li, W., Cong, Q., Shen, J., Zhang, J., Hallwachs, W., Janzen, D. H., & Grishin, N. V. (2019). Genomes of skipper butterflies reveal extensive convergence of wing patterns. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(13), 6232-6237.

Llaurens, V., Le Poul, Y., Puissant, A., Blandin, P. y Debat, V. (2021). Convergence in sympatry: Evolution of blue-banded wing pattern in Morpho butterflies. *Journal of Evolutionary Biology*, 34(2), 284-295.

Lyytinen, A., P. M. Brakefield, L. Lindstrom, & J. Mappes. (2004). Does predation maintain eyespot plasticity in *Bicyclus anynana*? *Proceeding of the Royal Society B: Biological Science*, 271, 279–283.

MacLean, H., Nielsen, M., Kingsolver, J., y Buckley, L. (2019). Using museum specimens to track morphological shifts through climate change. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 374(1763), 20170404.

Madliger, C. (2016). Success stories and emerging themes in conservation physiology. *Conservation Physiology*, 4(1): 1-17

Marín, M., Peña, C., Freitas, A., Wahlberg, N., y Uribe, S. (2011). From the phylogeny of the Satyrinae butterflies to the systematics of Euptychiina (Lepidoptera: Nymphalidae): history, progress and prospects. *Neotropical Entomology*, 40, 1-13.

Medina, I., Vega-Trejo, R., Wallenius, T., Symonds, M., y Stuart-Fox, D. (2020). From cryptic to colorful: Evolutionary decoupling of larval and adult color in butterflies. *Evolution Letters*, 4(1), 34-43.

Monteiro, A. (2017). Physiology and evolution of wing pattern plasticity in *Bicyclus* butterflies: a critical review of the literature. Pp. 91-105. En: T. Sekimura, y H. Nijhout (eds.) *Diversity and Evolution of Butterfly Wing Patterns*, Springer Nature Singapore.

Monzón, J. y Haxaire, J. (2006). La familia Sphingidae (Lepidoptera) en Guatemala. Pp. 423-429. En: Cano, E. B. (ed.) *Biodiversidad de Guatemala. Biodiversidad de Guatemala* Vol. I. Universidad del Valle de Guatemala.

Murillo-Hiller, L. (2008). Clave dicotómica para la identificación de las familias de mariposas (Rhopalocera) pertenecientes a las superfamilias Papilionoidea y Hesperioidea. *Métodos en Ecología y Sistemática*, 3(2), 6-11.

Murtagh, F. Y Legendre, P. (2014). Ward's hierarchical agglomerative clustering method: which algorithms implement Ward's criterion? *Journal of Classification*, 31, 274–295.

Nijhout, H. (1984). Colour pattern modification by coldshock in Lepidoptera. *Journal of Embryology and Experimental Morphology* 81: 287–305.

Nijhout, H. (2003). Development and evolution of adaptive polyphenisms. *Evolution & development*, 5(1), 9-18.

Nijhout, H. (2017). The common developmental origin of eyespots and parafocal elements and a new model mechanism for color pattern formation. Pp. 3-19. En: T. Sekimura, y H. Nijhout (eds.) *Diversity and Evolution of Butterfly Wing Patterns*). Springer Nature, Singapore.

Nieukerken, E., Kaila, L., Kitching, I., Kristensen, N., Lees, D., et al. (2011). Order Lepidoptera Linnaeus, 1758. En: Zhang, Z. Q. (Ed.), *Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness*. *Zootaxa* 3148: 212–221.

Otaki, J. (2007). Reversed type of color-pattern modifications of butterfly wings: a physiological mechanism of wing-wide color-pattern determination. *Journal of Insect Physiology*, 53(6), 526-537.

Otaki, J. (2008). Physiologically induced color-pattern changes in butterfly wings: mechanistic and evolutionary implications. *Journal of Insect Physiology*, 54(7), 1099-1112.

Otaki, J. (2009). Color-pattern analysis of parafocal elements in butterfly wings. *Entomological Science*, 12(1), 74-83.

Otaki, J. (2012). Color pattern analysis of nymphalid butterfly wings: revision of the nymphalid groundplan. *Zoological Science*, 29(9), 568-576.

Otaki, J. y Yamamoto, H. (2004). Species-specific color-pattern modifications of butterfly wings. *Development, Growth & Differentiation*, 46(1), 1-14.

Penz, C. (2017). Exploring color pattern diversification in early lineages of Satyrinae (Nymphalidae). Pp. 21-37. En: T. Sekimura, y H. Nijhout (eds.) *Diversity and Evolution of Butterfly Wing Patterns*. Springer Nature, Singapore.

Penz, C. y Mohammadi, N. (2013). Wing pattern diversity in Brassolini butterflies (Nymphalidae, Satyrinae). *Biota Neotropica*, 13, 154-180.

Perveen, F. (2017). *Lepidoptera*. BoD—Books on Demand.

Pinheiro, C. y Freitas, A. (2014). Some possible cases of escape mimicry in Neotropical butterflies. *Neotropical Entomology*, 43(5), 393-398.

Portal de Biodiversidad de Guatemala. Disponible en: <https://biodiversidad.gt/portal/index.php>

Ren, A., Day, C., Hanly, J., Counterman, B., Morehouse, N. y Martin, A. (2020). Convergent evolution of broadband reflectors underlies metallic coloration in butterflies. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8: 206.

Rodrigues, Y., y Beldade, P. (2020). Thermal plasticity in insects' response to climate change and to multifactorial environments. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8: 271.

Sahoo, R., Warren, A., Collins, S., y Kodandaramaiah, U. (2017). Hostplant change and paleoclimatic events explain diversification shifts in skipper butterflies (Family: HesperIIDae). *BMC Evolutionary Biology*, 17(1), 1-9.

Salinas-Gutiérrez, J. L. (2013). Registros nuevos y aclaratorios de ninfálidos (Papilionoidea: Nymphalidae) para Guatemala. *Acta Zoológica Mexicana*, 29: 431–436.

Salinas-Gutiérrez, J. L. (2010). Biogeografía de las mariposas (Rhopalocera: Papilionoidea) de la selva maya de México, Guatemala y Belice. Tesis de Doctorado en Ciencias en Ecología y Desarrollo Sustentable, El Colegio de la Frontera Sur, México.

Salinas-Gutiérrez, J. L., Llorente-Bousquets, J., Méndez, C., Barrios, M., y Pozo, C. (2012). Introducción a los Papilionoidea (Papilionidae, Pieridae, Lycaenidae, Riodinidae y Nymphalidae) de Guatemala, pp. 155–173. En: E. B. Cano y J. C. Schuster (Eds.) *Biodiversidad de Guatemala*. Vol. II. Universidad del Valle de Guatemala.

Salinas-Gutiérrez, J. L., Méndez, C., Barrios, M., Pozo, C., y Llorente-Bousquets, J. (2009). Hacia una síntesis de los Papilionoidea (Insecta: Lepidoptera) de Guatemala con una breve reseña histórica. *Caldasia* 31: 407–440.

Sekimura, T., y Nijhout, H. (2017). *Diversity and Evolution of Butterfly Wing Patterns: An Integrative Approach*. Springer Nature, Singapore.

Silva, X. (2012). *Ecología de mariposas del Ecuador: información ecológica y biogeográfica de las principales especies de mariposas del Ecuador y de algunas mariposas nocturnas o polillas*. Quito, Ecuador.

Simpson, S., Sword, G., y Lo, N. (2011). Polyphenism in insects. *Current Biology*, 21(18), R738-R749.

Suzuki, T. (2017). Camouflage variations on a theme of the nymphalid ground plan. In *Diversity and Evolution of Butterfly Wing Patterns* (pp. 39-58). Springer, Singapore.

Troschianko, J., y Stevens, M. (2015). Image calibration and analysis toolbox—a free software suite for objectively measuring reflectance, colour and pattern. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(11), 1320-1331.

Universidad del Valle de Guatemala (2022). Universidad del Valle de Guatemala - Colección de Artrópodos (UVGC). Occurrence dataset <https://doi.org/10.15468/fg7cjsx> accessed via GBIF.org on 2022-08-01

Van Belleghem, S., Papa, R., Ortiz-Zuazaga, H., Hendrickx, F., Jiggins, C., McMillan, W., y Counterman, B. (2018). patternize: An R package for quantifying colour pattern variation. *Methods in Ecology and Evolution*, 9(2), 390-398.

Vane-Wright, R. (1980). On the definition of mimicry. *Biological Journal of the Linnean Society*, 13(1), 1-6.

Wahlberg, N., Rota, J., Braby, M. F., Pierce, N. E., y Wheat, C. W. (2014). Revised systematics and higher classification of pierid butterflies (Lepidoptera: Pieridae) based on molecular data. *Zoologica Scripta*, 43(6), 641-650.

Warren, A. D., Davis, K. J., Stangeland, E. M., Pelham, J. P., Willmott, K. R., Grishin, N. V. (2017). Interactive Listing of American Butterflies (North and South America). [21–XI–2017] Disponible en: <http://www.butterfliesofamerica.com/>

Watt, W. B. (1969). Adaptive significance of pigment polymorphisms in *Colias* butterflies, II. Thermoregulation and photoperiodically controlled melanin variation in *Colias eurytheme*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 63(3), 767-774.

Weller, H. y Westneat, M. (2019). Quantitative color profiling of digital images with earth mover's distance using the R package colordistance. *PeerJ*, 7, e6398

Westerman, E., VanKuren, N., Massardo, D., Tenger-Trolander, A., Zhang, W., Hill, R. y Kronforst, M. (2018). Aristaless controls butterfly wing color variation used in mimicry and mate choice. *Current Biology*, 28(21), 3469-3474.

Yeager, J. y Barnett, J. (2021). The influence of ultraviolet reflectance differs between conspicuous aposematic signals in neotropical butterflies and poison frogs. *Ecology and Evolution*, 11:13633–13640.

Yoshimoto, J. y Ariano, D. (2017). *El Bosque Estacionalmente Seco de Guatemala: Flora, Fauna y Cultura*. Guatemala.

Yoshimoto, J., Barrios, M., Salinas-Gutiérrez, J. L. y Warren, A. D. (2021). Fauna y fenología de mariposas diurnas (Lepidoptera: Papilionoidea) de un bosque secundario en el área urbana de Guatemala. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 92, 923469.

Yoshimoto, J., Cano, E. B. y Orellana, S. (2015). *Insectos de Guatemala. Guía de identificación* [Segunda Edición]. Guatemala.

Yoshimoto, J., Salinas-Gutiérrez, J. L., y Barrios, M. (2019). Butterfly fauna and phenology in a dry forest of the Motagua Valley, Guatemala. *The Journal of the Lepidopterists' Society*, 73(3), 191-202.

Yoshimoto, J., Salinas-Gutiérrez, J. y Barrios, M. (2018). Annotated list of butterflies (Lepidoptera: Papilionoidea) of a Guatemalan dry forest, with two first records for Guatemala. *Tropical Lepidoptera Research*, 28(1): 1-8.

Yoshimoto, J., Salinas-Gutiérrez, J. L., Barrios, M., y Warren, A. D. (2022) An updated list of butterflies (Lepidoptera, Papilionoidea) of two Guatemalan seasonally dry forests. *ZooKeys*. 1118, 21-38.

Zografou, K., Swartz, M., Adamidis, G., Tilden, V., McKinney, E., y Sewall, B. (2021). Species traits affect phenological responses to climate change in a butterfly community. *Scientific Reports*, 11(1), 1-14.

Zuur, A. F., e Ieno, E. N. (2016). A protocol for conducting and presenting results of regression-type analyses. *Methods in Ecology and Evolution*, 7(6), 636-645.

VIII. APÉNDICES



APÉNDICE 1. Cartilla de color estándar utilizada para calibración de color de las fotografías modelo: ColorChecker Classic de X-Rite ®



APÉNDICE 2. Ejemplo de mariposa *Manataria maculata* con más del 30% de daño estructural en las alas.

APÉNDICE 3. Resumen de información de especies fotografiadas (de la familia Nymphalidae).

Subfamilia	ID de los especímenes Especie	Época de colecta			Sitio de colecta		Años de colecta
		Ind.	Sec.	Llu.	L.C	R.H	
Biblidinae	<i>Biblis hyperia</i>	1	0	1	1	0	2011
Biblidinae	<i>Bolboneura sylphis</i>	4	0	4	4	0	2011, 2012
Biblidinae	<i>Catonephele mexicana</i>	3	1	2	3	0	2011
Biblidinae	<i>Diaethria astala</i>	6	0	6	5	1	2011, 2012, 2017
Biblidinae	<i>Dynamine dyonis</i>	4	1	3	4	0	2011
Biblidinae	<i>Dynamine postverta</i>	5	2	3	5	0	2011, 2014
Biblidinae	<i>Dynamine theseus</i>	2	0	2	2	0	2011, 2021
Biblidinae	<i>Epiphile adrasta</i>	4	0	4	4	0	2011
Biblidinae	<i>Eunica monima</i>	8	2	6	3	5	2011, 2012, 2015, 2016, 2018, 2022
Biblidinae	<i>Eunica tatila</i>	1	0	1	1	0	2011
Biblidinae	<i>Hamadryas atlantis</i>	3	0	3	2	1	2011, 2016
Biblidinae	<i>Hamadryas februa</i>	3	2	1	2	1	2011, 2012, 2016
Biblidinae	<i>Hamadryas glauconome</i>	3	2	1	2	1	2011, 2022
Biblidinae	<i>Hamadryas guatemalena</i>	3	0	3	3	0	2011, 2012
Biblidinae	<i>Mestra anymone</i>	3	0	3	3	0	2011, 2012
Biblidinae	<i>Temenis laothoe</i>	1	0	1	0	1	2016
Charaxinae	<i>Anaea aidea</i>	6	2	4	2	4	2011, 2012, 2016, 2018
Charaxinae	<i>Fountainea glycerium</i>	4	0	4	4	0	2011, 2012
Charaxinae	<i>Zaretis ellops</i>	5	1	4	5	0	2011, 2012
Danainae	<i>Dircenna klugii</i>	2	1	1	2	0	2011
Danainae	<i>Mechanitis lysimnia</i>	1	0	1	0	1	2016
Danainae	<i>Danaus gilippus</i>	1	1	0	0	1	2016
Danainae	<i>Danaus eresimus</i>	3	0	3	1	2	2011, 2016, 2021
Heliconiinae	<i>Heliconius charithonia</i>	1	0	1	1	0	2011
Heliconiinae	<i>Euptoieta hegesia</i>	1	0	1	0	1	2011
Heliconiinae	<i>Dryas iulia</i>	1	0	1	0	1	2016
Heliconiinae	<i>Dione junonia</i>	3	3	0	3	0	2011, 2012
Heliconiinae	<i>Dione moneta</i>	1	0	1	1	0	2012
Heliconiinae	<i>Agraulis vanillae</i>	3	0	3	3	0	2011, 2012
Heliconiinae	<i>Eueides isabella</i>	1	1	0	1	0	2011
Libytheinae	<i>Libytheana carineta</i>	2	0	2	1	1	2011, 2016
Limenitidinae	<i>Adelpha paroeca</i>	2	1	1	2	0	2011
Limenitidinae	<i>Adelpha iphicleola</i>	6	0	6	1	5	2012, 2016
Limenitidinae	<i>Adelpha melanthe</i>	3	0	3	3	0	2011

ID de los especímenes		Época de colecta			Sitio de colecta		Años de colecta
Subfamilia	Especie	Ind.	Sec.	Llu.	L.C	R.H	
Cyrestinae	<i>Marpesia petreus</i>	3	0	3	3	0	2011
Nymphalinae	<i>Anartia fatima</i>	1	0	1	1	0	2011
Nymphalinae	<i>Anthanassa ptolyca</i>	3	1	2	2	1	2011, 2019
Nymphalinae	<i>Anthanassa tulcis</i>	3	1	2	1	2	2011, 2021
Nymphalinae	<i>Chlosyne erodyle</i>	2	0	2	2	0	2011, 2019
Nymphalinae	<i>Chlosyne lacinia</i>	6	2	4	5	1	2011, 2016, 2020, 2021
Nymphalinae	<i>Chlosyne melanarge</i>	2	0	2	0	2	2016, 2021
Nymphalinae	<i>Chlosyne rosita</i>	4	0	4	1	3	2011, 2019, 2021
Nymphalinae	<i>Chlosyne theona</i>	7	1	6	4	3	2011, 2012, 2016
Nymphalinae	<i>Historis odius</i>	2	0	2	2	0	2011, 2012
Nymphalinae	<i>Junonia evarete</i>	4	0	4	4	0	2011, 2012, 2019
Nymphalinae	<i>Microtia elva</i>	5	2	3	5	0	2011, 2012, 2015
Nymphalinae	<i>Siproeta epaphus</i>	2	0	2	2	0	2011
Nymphalinae	<i>Siproeta stelenes</i>	2	0	2	2	0	2011
Nymphalinae	<i>Smyrna blomfieldia</i>	2	0	2	1	1	2011
Nymphalinae	<i>Tegosa guatemalena</i>	2	2	0	2	0	2012
Satyrinae	<i>Cissia themis</i>	6	0	6	2	4	2011, 2016, 2019
Satyrinae	<i>Cissia similis</i>	11	5	6	2	9	2011, 2012, 2016
Satyrinae	<i>Hermeuptychia hermes</i>	6	2	4	1	5	2012, 2016, 2021
Satyrinae	<i>Euptychia fetna</i>	2	0	2	2	0	2011, 2012
Satyrinae	<i>Cyllopsis gemma</i>	3	2	1	3	0	2011
Satyrinae	<i>Cyllopsis hedemanni</i>	1	1	0	1	0	2012
Satyrinae	<i>Cyllopsis pephredo</i>	3	2	1	3	0	2011, 2017
Satyrinae	<i>Taygetis thamyra</i>	1	0	1	0	1	2011
TOTAL	59 especies	184	41	143	125	59	2011 al 2022

APÉNDICE 4. Resumen de información de especies fotografiadas de las familias Lycaenidae, Pieridae y Hesperidae.

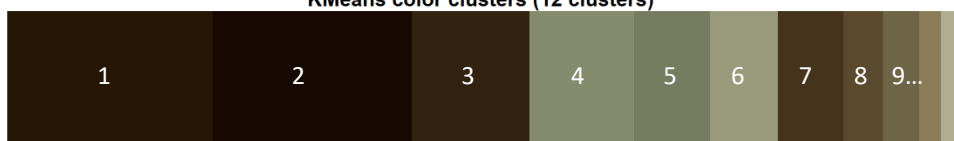
ID de los especímenes		Época de colecta			Sitio de colecta		Años de colecta
Familia	Especie	Ind.	Sec.	Llu.	L.C	R.H	
Lycaenidae	<i>Hemiargus ceraunus</i>	7	3	4	3	4	2011, 2015, 2016
Lycaenidae	<i>Hemiargus hanno</i>	9	0	9	0	9	2016, 2018
Pieridae	<i>Pyrisitia dina</i>	7	4	3	0	7	2016, 2017
Pieridae	<i>Pyrisitia nise</i>	14	6	8	7	8	2016 al 2021
Pieridae	<i>Pyrisitia proterpia</i>	9	1	8	4	5	2011, 2015, 2016
Hesperiidae	<i>Urbanus dorantes</i>	18	3	15	3	15	2011, 2016, 2018
Hesperiidae	<i>Urbanus esmeraldus</i>	4	0	4	3	1	2011, 2018
Hesperiidae	<i>Urbanus viterboana</i>	5	1	4	3	2	2011, 2012, 2016
TOTAL	8 especies	73	18	55	23	51	2011 al 2021

APÉNDICE 5. Ejemplo de base de datos de valores RGB y porcentaje para histograma de perfil de coloración de *Siproeta stelenes* (Nymphalidae).

Contenedor	R	G	B	Porcentaje (%)
1	0.60892121	0.3316398	0.05943903	19.38
2	0.75905618	0.233245	0.0076988	14.995
3	0.53500697	0.3382016	0.1267914	14.665
4	0.35196658	0.3649583	0.28307511	10.76
5	0.35227634	0.3675536	0.28017008	8.915
6	0.49005168	0.3380334	0.1719149	8.205
7	0.35340911	0.3603937	0.28619721	7.315
8	0.45748293	0.3450625	0.19745457	5.31
9	0.42718263	0.3487379	0.22407952	3.825
10	0.39056732	0.3572832	0.25214944	3.65
11	0.35480462	0.352445	0.29275042	2.675
12	0.06961588	0.7117606	0.21862348	0.305



KMeans color clusters (12 clusters)














APÉNDICE 6. Conformación de grupos del análisis de conglomerado para ninfálidos, vista dorsal (k=9).

K	Especies	Perfiles de coloración especies	Categoría de color
GRUPO 1	1. <i>Agraulis vanillae</i>		Marrones con naranjas
	2. <i>Anaea aidea</i>		
	3. <i>Anartia fatima</i>		
	4. <i>Dione juno</i>		
	5. <i>Dircenna klugii</i>		
	6. <i>Dynamine dyonis</i> (macho)		
	7. <i>Epiphile adrasta</i>		
	8. <i>Euptoieta hegesia</i>		
	9. <i>Fountainea glycerium</i>		
	10. <i>Marpesia petreus</i>		
	11. <i>Mechanitis lysimnia</i>		
	12. <i>Microtia elva</i>		
	13. <i>Smyrna blomfieldia</i>		
GRUPO 2	1. <i>Agraulis vanillae</i>		Rojizos con cafés
	2. <i>Anaea aidea</i>		
	3. <i>Danaus eresimus</i>		
	4. <i>Danaus gilippus</i>		
	5. <i>Dione juno</i>		
	6. <i>Dryas iulia</i>		
	7. <i>Fountainea glycerium</i>		
	8. <i>Marpesia petreus</i>		
	9. <i>Temenis laothoe</i>		
	10. <i>Zaretis ellops</i> (macho)		

K	Especies	Perfiles de coloración especies	Categoría de color
GRUPO 3	1. <i>Adelpha iphicleola</i>		Negros y morados
	2. <i>Anthanassa tulcis</i>		
	3. <i>Bolboneura sylphis</i>		
	4. <i>Catonephele mexicana</i> (hembra)		
	5. <i>Chlosyne erodyle</i>		
	6. <i>Chlosyne lacinia</i>		
	7. <i>Chlosyne rosita</i>		
	8. <i>Dynamine postverta</i> (hembra)		
	9. <i>Eunica tatila</i>		
GRUPO 4	1. <i>Adelpha iphicleola</i>		Negros y amarillos verdosos
	2. <i>Adelpha paroeca</i>		
	3. <i>Anthanassa tulcis</i>		
	4. <i>Catonephele mexicana</i>		
	5. <i>Chlosyne rosita</i>		
	6. <i>Heliconius charithonia</i>		
	7. <i>Siproeta stelenes</i>		
GRUPO 5	1. <i>Adelpha melanthe</i>		Negros con rojizos
	2. <i>Biblis hyperia</i>		
	3. <i>Catonephele mexicana</i>		
	4. <i>Dione moneta</i>		
	5. <i>Eueides isabella</i>		
	6. <i>Historis odius</i>		
	7. <i>Siproeta epaphus</i>		

K	Especies	Perfiles de coloración especies	Categoría de color
GRUPO 6	1. <i>Cissia similis</i>		Cafés
	2. <i>Cissia themis</i>		
	3. <i>Cyllopsis gemma</i>		
	4. <i>Cyllopsis hedemanni</i>		
	5. <i>Cyllopsis pephredo</i>		
	6. <i>Euptychia fetna</i>		
	7. <i>Hermeuptychia hermes</i>		
	8. <i>Taygetis thamyra</i>		
	9. <i>Eunica monima</i>		

GRUPO 7	1. <i>Anthanassa tulcis</i>		Cafés y grises
	2. <i>Chlosyne erodyle</i>		
	3. <i>Chlosyne melanarge</i>		
	4. <i>Dircenna klugii</i>		
	5. <i>Dynamine postverta</i> (macho)		
	6. <i>Dynamine theseus</i>		
	7. <i>Hamadryas atlantis</i>		
	8. <i>Hamadryas februa</i>		
	9. <i>Hamadryas glauconome</i>		
	10. <i>Hamadryas guatemalena</i>		
	11. <i>Mestra anymone</i>		

K	Especies	Perfiles de coloración especies	Categoría de color
+ GRUPO 8	1. <i>Chlosyne lacinia</i>		Cafés y ocre
	2. <i>Chlosyne theona</i>		
	3. <i>Dynamine dyonis</i>		
	4. <i>Danaus eresimus</i>		
	5. <i>Eunica monima</i>		
	6. <i>Junonia evarete</i>		
	7. <i>Libytheana carinenta</i>		
	8. <i>Microtia elva</i>		
	9. <i>Tegosa guatemalena</i>		
	10. <i>Zaretis ellops</i>		
G9	1. <i>Diaethria astala</i>		Negro con azul











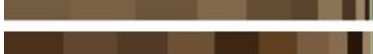



APÉNDICE 7. Conformación de grupos del análisis de conglomerado para ninfálidos, vista ventral (k=9).

K	Especies	Perfiles de coloración de especies	Categoría de color
GRUPO 1'	1. <i>Anaea aidea</i>		Cafés y ocre
	2. <i>Anihanassa tulcis</i>		
	3. <i>Bolboneura sylphis</i>		
	4. <i>Chlosyne erodyle</i>		
	5. <i>Chlosyne lacinia</i>		
	6. <i>Chlosyne melanarge</i>		
	7. <i>Chlosyne rosita</i>		
	8. <i>Cissia similis</i>		
	9. <i>Cissia themis</i>		
	10. <i>Cyllopsis pephredo</i>		
	11. <i>Eunica monima</i>		
	12. <i>Hermeuptychia hermes</i>		
	13. <i>Libytheana carinenta</i>		
	14. <i>Marpesia petreus</i>		
	15. <i>Smyrna blomfildia</i>		
GRUPO 2'	1. <i>Agraulis vanillae</i>		Naranjas y ocre
	2. <i>Anartia fatima</i>		
	4. <i>Catonephele mexicana</i> (macho)		
	5. <i>Danaus eresimus</i>		
	6. <i>Danaus gilippus</i>		
	7. <i>Dione junio</i>		
	8. <i>Dione moneta</i>		
	9. <i>Dircenna klugii</i>		
	10. <i>Dryas iulia</i>		
	11. <i>Euptoieta hegesia</i>		
	12. <i>Fountainea glycerium</i>		
	13. <i>Junonia evarete</i>		
	14. <i>Siproeta epaphus</i>		
	15. <i>Zaretis ellops</i> (macho)		

K	Especies	Perfiles de coloración de especies	Categoría de color
GRUPO 3'	1. <i>Adelpha iphicleola</i>		Beiges y grises
	2. <i>Adelpha paroeca</i>		
	3. <i>Biblis hyperia</i>		
	4. <i>Bolboneura sylphis</i>		
	5. <i>Dynamine dyonis</i>		
	6. <i>Dynamine postverta</i>		
	7. <i>Siproeta stelenes</i>		
GRUPO 4'	1. <i>Adelpha melanthe</i>		Ocres y cafés
	2. <i>Chlosyne lacinia</i>		
	3. <i>Danaus eresimus</i>		
	4. <i>Epiphile adrasta</i>		
	5. <i>Junonia evarete</i>		
	6. <i>Marpesia petreus</i>		
	7. <i>Microtia elva</i>		
	8. <i>Zaretis ellops</i> (macho)		
GRUPO 5'	1. <i>Agraulis vanillae</i>		Ocres, grises y cafés
	2. <i>Anthanassa ptolyca</i>		
	3. <i>Anthanassa tulcis</i>		
	4. <i>Bolboneura sylphis</i>		
	5. <i>Chlosyne theona</i>		
	6. <i>Dynamine postverta</i> (hembra)		
	7. <i>Mestra amymone</i>		

K	Especies	Perfiles de coloración de especies	Categoría de color
---	----------	------------------------------------	--------------------











GRUPO 6'	1. <i>Agraulis vanillae</i>		Negros y cafés
	2. <i>Catonephele mexicana</i> (hembra)		
	3. <i>Chlosyne erodyle</i>		
	4. <i>Chlosyne melanarge</i>		
	5. <i>Chlosyne rosita</i>		
	6. <i>Dione juno</i>		
	7. <i>Epiphile adrasta</i>		
	8. <i>Eueides isabella</i>		
	9. <i>Eunica tatila</i>		
	10. <i>Hamadryas atlantis</i>		
	11. <i>Smyrna blomfieldia</i>		
	12. <i>Temenis laothoe</i>		

GRUPO 7'	1. <i>Chlosyne lacinia</i>		Cafés y negros
	2. <i>Cyllopsis gemma</i>		
	3. <i>Cyllopsis hedemanni</i>		
	4. <i>Cyllopsis pephredo</i>		
	5. <i>Epiphile adrasta</i>		
	6. <i>Eunica monima</i>		
	7. <i>Euptychia fetna</i>		
	8. <i>Fountainea glycerium</i>		
	9. <i>Hermeuptychia hermes</i>		
	10. <i>Historis odius</i>		
	11. <i>Microtia elva</i>		
	12. <i>Taygetis thamyra</i>		
	13. <i>Tegosa guatemalena</i>		
	14. <i>Zaretis ellops</i> (hembra)		





K	Especies	Perfiles de coloración de especies	Categoría de color
GRUPO 8'	1. <i>Diaethria astala</i>		Gris/negros y rojizos
	2. <i>Dynamine theseus</i>		
	3. <i>Fountainea glycerium</i>		
	4. <i>Hamadryas atlantis</i>		
GRUPO 9'	1. <i>Hamadryas februa</i>		Negros y grises
	2. <i>Hamadryas glauconome</i>		
	3. <i>Hamadryas guatemalena</i>		
	4. <i>Heliconius charithonia</i>		
	5. <i>Siproeta stelenes</i>		














APÉNDICE 8. Conformación de grupos del análisis de conglomerado para individuos de los géneros *Pyrisitia*, *Urbanus* y *Hemiargus*, vista dorsal (k=8).

K	Especies	Perfiles de coloración de especies	Categoría de color
GRUPO A	1. <i>Hemiargus ceraunus</i>		Gris y café
	2. <i>Hemiargus hanno</i> (macho)		
GRUPO B	1. <i>Hemiargus ceraunus</i>		Amarillos y cafés
	2. <i>Hemiargus hanno</i> (hembra)		
	3. <i>Pyrisitia dina</i> (hembra)		
	4. <i>Pyrisitia nise</i> (hembra)		
GRUPO C	1. <i>Pyrisitia dina</i> (macho)		Amarillos anaranjados
	2. <i>Pyrisitia proterpia</i> (hembra)		

K	Especies	Perfiles de coloración de especies	Categoría de color
GRUPO D	1. <i>Pyrisitia dina</i> (macho)		Amarillos fuerte
GRUPO E	1. <i>Pyrisitia nise</i> (macho)		Amarillos pálidos
GRUPO F	1. <i>Pyrisitia proterpia</i> (macho)		Anaranjado fuerte
GRUPO G	1. <i>Pyrisitia proterpia</i> (hembra)		Cafés y azules
	2. <i>Urbanus dorantes</i> (macho)		
	3. <i>Urbanus esmeraldus</i> (macho)		
	4. <i>Urbanus viterboana</i> (macho)		
GRUPO H	<i>Urbanus dorantes</i> (hembra)		Negros y azules
	<i>Urbanus esmeraldus</i> (macho)		
	<i>Urbanus viterboana</i> (macho)		

APÉNDICE 9. Conformación de grupos del análisis de conglomerado para los individuos de los géneros *Pyrisitia*, *Urbanus* y *Hemiargus*, vista ventral (k=8).

K	Especies	Perfiles de coloración especies	Categoría de color
GRUPO A'	1. <i>Hemiargus ceraunus</i>		Grisés claros
	2. <i>Hemiargus hanno</i> (macho)		
	3. <i>Pyrisitia dina</i> (hembra)		
	4. <i>Pyrisitia nise</i> (hembra)		

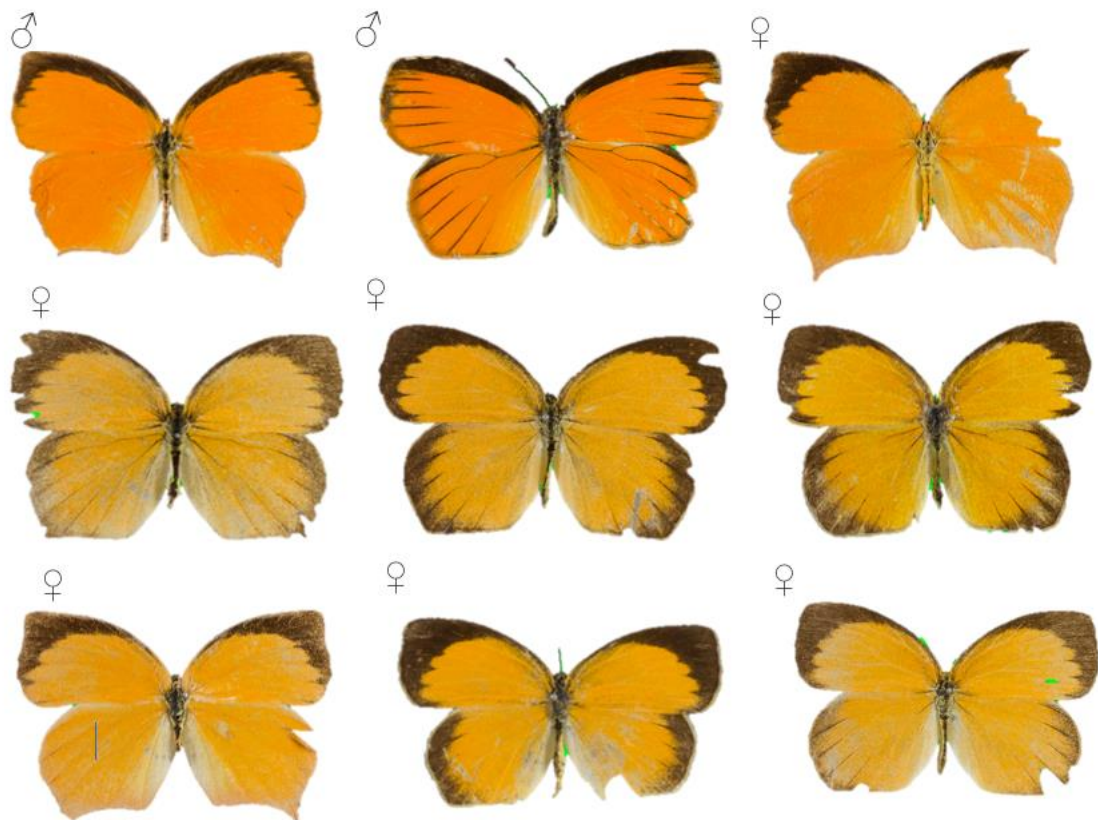
K	Especies	Perfiles de coloración de especies	Categoría de color
GRUPO B'	1. <i>Pyrisitia dina</i> (macho)		Amarillos pálidos
	2. <i>Pyrisitia nise</i> (macho)		
GRUPO C'	1. <i>Pyrisitia dina</i> (macho)		Amarillos y cafés
	2. <i>Pyrisitia proterpia</i> (hembra)		
	3. <i>Urbanus dorantes</i>		
GRUPO D'	1. <i>Pyrisitia dina</i> (macho)		Amarillos fuertes
GRUPO E'	1. <i>Pyrisitia dina</i> (macho)		Amarillos verdosos pálidos
	2. <i>Pyrisitia nise</i> (hembra)		
GRUPO F'	1. <i>Pyrisitia proterpia</i> (macho)		Anaranjados fuertes
GRUPOS G'	1. <i>Pyrisitia proterpia</i> (hembra)		Cafés y anaranjados
	2. <i>Urbanus dorantes</i> (macho y hembra)		
	3. <i>Urbanus esmeraldus</i> (macho)		
	4. <i>Urbanus viterboana</i>		

K	Especies	Perfiles de coloración de especies	Categoría de color
GRUPOS H	1. <i>Urbanus dorantes</i> (macho)		Negros y cafés
	2. <i>Urbanus esmeraldus</i>		
	3. <i>Urbanus viterboana</i> (macho)		

APÉNDICE 10. Resultados de prueba de hipótesis estadística por pares con Adonis de *vegan*.

Grupo evaluado	Variable ambiental	Comparación de niveles	R ²	F	Pr(>F)
Nymphalidae (superficie dorsal)	Mes	Nov. vs. Dic.	0.20394	5.8922	0.016*
		Nov. vs. Oct.	0.10433	4.4262	0.028*
		Jun. vs. Dic.	0.08987	3.9495	0.035*
		Jun. vs. Oct.	0.07213	4.2755	0.026*
		Ago. vs. Dic.	0.17218	6.0317	0.01**
		Ago. vs. Oct.	0.10741	5.2946	0.013*
		Sept. vs. Dic.	0.16064	5.5502	0.017*
		Sept. vs. Oct.	0.11982	5.99	0.009**
	Subfamilia	Charaxinae vs. Nymphalinae	0.25667	20.373	0.0001***
		Charaxinae vs. Limenitidinae	0.18877	6.2828	0.003**
		Charaxinae vs. Biblidinae	0.27448	25.348	0.001***
		Charaxinae vs. Satyrinae	0.78077	163.83	0.001***
		Charaxinae vs. Libytheinae	0.22704	4.4059	0.044*
		Nymphalinae vs. Heliconiinae	0.27538	20.902	0.001***
		Nymphalinae vs. Biblidinae	0.13762	15.639	0.001***
		Nymphalidae vs. Cyrestinae	0.13991	7.6457	0.003**
		Nymphalinae vs. Satyrinae	0.34071	39.791	0.001***
		Nymphalinae vs. Danainae	0.07316	4.0256	0.025*
		Limenitidinae vs. Cyrestinae	0.33605	6.0735	0.006**
		Limenitidinae vs. Heliconiinae	0.20757	6.0248	0.003**
		Limenitidinae vs. Biblidinae	0.14046	10.785	0.001***
		Limenitidinae vs. Satyrinae	0.58639	63.797	0.001***
		Heliconiinae vs. Biblidinae	0.25991	22.124	0.001***
		Heliconiinae vs. Satyrinae	0.81216	181.59	0.001***
		Biblidinae vs. Satyrinae	0.04529	4.0321	0.024*
		Biblidinae vs. Danainae	0.11447	7.6266	0.002**
		Biblidinae vs. Cyrestinae	0.10902	6.7296	0.007**
Satyrinae vs. Danainae	0.6765	79.467	0.001***		
Satyrinae vs. Cyrestinae	0.79867	134.88	0.001***		
Satyrinae vs. Libytheinae	0.31112	14.904	0.006**		
Nymphalidae (superficie ventral)	Mes	Nov. vs. Mayo	0.12849	4.2757	0.015*
		Nov. vs. Dic.	0.18313	5.3805	0.008**
		May. vs. Ago.	0.13179	5.3128	0.01**
		May. vs. Sept.	0.15098	6.046	0.005**
		Ago. vs. Dic.	0.1516	5.3608	0.018*
		Ago. vs. Abr.	0.10689	3.4709	0.045*
		Sept. vs. Dic.	0.16599	5.7718	0.011*
		Sept. vs. Oct.	0.07764	3.7038	0.03*
		Sept. vs. Abr.	0.11401	3.6031	0.045*
		Dic. vs. Jul.	0.11681	3.3064	0.042*

	Comparación de niveles	R ²	F	Pr(>F)
Subfamilia	Charaxinae vs. Heliconiinae	0.20447	6.1685	0.018*
	Charaxinae vs. Biblidinae	0.12933	9.952	0.001***
	Charaxinae vs. Satyrinae	0.22433	13.592	0.001***
	Charaxinae vs. Danainae	0.34394	10.485	0.004**
	Nymphalinae vs. Heliconiinae	0.12759	8.1898	0.003**
	Nymphalinae vs. Biblidinae	0.14874	17.298	0.001***
	Nymphalinae vs. Satyrinae	0.2249	22.922	0.001***
	Nymphalinae vs. Danainae	0.2341	15.894	0.001***
	Limenitidinae vs. Heliconiinae	0.22163	6.549	0.006**
	Limenitidinae vs. Biblidinae	0.05602	3.9164	0.02*
	Limenitidinae vs. Satyrinae	0.35606	25.436	0.001***
	Limenitidinae vs. Danainae	0.42813	14.224	0.001***
	Limenitidinae vs. Cyrestinae	0.22211	3.4263	0.036*
	Heliconiinae vs. Biblidinae	0.24828	20.808	0.001***
	Heliconiinae vs. Cyrestinae	0.30254	5.2053	0.034*
	Heliconiinae vs. Satyrinae	0.61148	67.675	0.001***
	Heliconiinae vs. Libytheinae	0.27149	4.0994	0.01**
	Biblidinae vs. Satyrinae	0.17827	18.658	0.001***
	Biblidinae vs. Danainae	0.31673	27.35	0.001***
	Satyrinae vs. Danainae	0.71542	98.042	0.001***
	Danainae vs. Libytheinae	0.53961	8.2044	0.03*
	Danainae vs. Cyrestinae	0.53373	9.1575	0.008**



APÉNDICE 11. Vista dorsal de los individuos fotografiados de *Pyrisitia proterpia* (Pieridae) demostrando alta variación sexual (entre macho y hembra) e intraespecífica.