



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA**

**Evolución correlacionada entre
matrotrofia, superfecundación y morfología
en peces vivíparos de la familia Poeciliidae**

T E S I S
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
D O C T O R A E N C I E N C I A S
BIOLOGÍA MARINA

PRESENTA:
M. en C. KARLA NATIVIDAD GARCIA CABELLO

TUTOR PRINCIPAL

Dr. José Jaime Zúñiga Vega
Facultad de Ciencias, UNAM

COMITÉ TUTOR:

Dr. Alejandro González Voyer
Instituto de Ecología, UNAM

Dra. Claudia Patricia Ornelas García
Instituto de Biología, UNAM

Dra. Morelia Camacho Cervantes
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM

Dr. Joaquín Arroyo Cabrales
Instituto Nacional de Antropología e Historia, INAH

Ciudad Universitaria, CD. MX., octubre, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**Evolución correlacionada entre
matrotroía, superfetación y morfología
en peces vivíparos de la familia Poeciliidae**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

D O C T O R A E N C I E N C I A S
BIOLOGÍA MARINA

PRESENTA:

M. en C. KARLA NATIVIDAD GARCIA CABELLO

TUTOR PRINCIPAL

Dr. José Jaime Zúñiga Vega
Facultad de Ciencias, UNAM

COMITÉ TUTOR:

Dr. Alejandro González Voyer
Instituto de Ecología, UNAM

Dra. Claudia Patricia Ornelas García
Instituto de Biología, UNAM

Dra. Morelia Camacho Cervantes
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM

Dr. Joaquín Arroyo Cabrales
Instituto Nacional de Antropología e Historia, INAH

Ciudad Universitaria, CD. MX., octubre, 2023

“Hablando en general, hay dos lados [...]. Uno es la parte externa, el margen, la superficie [...]. Ésa es la parte relacionada con la acción y la actuación, el lado áspero. La otra parte es la decisión y el juicio [...], más suave, más delicado y más complejo.”

Don Juan Matus
Relatos de poder

Agradecimientos y financiamiento

En primer lugar, agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por brindarme tanto. La UNAM ha sido mi hogar, donde he logrado una formación académica y científica de gran calidad. Siempre llevaré con orgullo el ser Puma.

Extiendo mi agradecimiento al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología (PCMyL) por su infinito apoyo y excelente formación que he recibido.

También quiero expresar mi profunda gratitud a la Dra. Janett Sosa, miembro del programa Espora Psicológica de la UNAM, por la ayuda psicoterapéutica brindada durante este proceso.

Asimismo, expreso mi gratitud a mi tutor, Dr. José Jaime Zúñiga Vega, por su dedicación y paciencia. Gracias por guiarme y los consejos que ahora llevo grabados para siempre en mi memoria y que serán aplicados en mi futuro como investigadora. Gracias por todo el aprendizaje.

A los miembros de mi comité tutor, Dr. Alejandro González Voyer, Dra. Patricia Ornelas García, Dra. Morelia Camacho Cervantes y Dr. Joaquín Arroyo Cabrales, por su importante participación para el desarrollo de esta tesis. Su apoyo y su interés en guiar de forma asertiva mis ideas durante la elaboración de este proyecto han sido de un aporte invaluable.

Durante mis estudios de doctorado recibí una beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT). Esta beca (547333) me permitió dedicarme de manera exclusiva al desarrollo de este proyecto.

La estancia de investigación en Brigham Young University, Provo, Utah, EUA. fue financiada por el Programa de Apoyo a Estudios de Posgrado (PAEP-UNAM).

Agradecimientos personales

Dedico un especial agradecimiento a mis padres. Ustedes han sido mi fuente inagotable de amor, apoyo y aliento a lo largo de toda mi vida. Gracias por impulsarme a perseguir esta meta que me fijé desde niña. Gracias por creer en mí. Mamá y papá, les agradezco de corazón todo lo que han hecho por mí. Este logro también les pertenece.

Quiero expresar un profundo agradecimiento a mis hermanos por estar tan cerca de mí, por comprenderme, escucharme y ayudarme a superar el miedo cuando éste me invadía. Gracias por creer en mí, por estar a mi lado y por ser mis pilares inquebrantables.

Miriam, agradezco en lo más profundo tu compañía en este pedregoso trayecto. Has estado a mi lado y me has brindado apoyo incondicional. Me demostraste compromiso y comprensión en cada paso del camino. Tu amor incondicional y fe en mí me dieron la fuerza para superar cada desafío. No puedo imaginar este logro sin ti a mi lado. Agradezco a nuestra familia, aunque no lo lean, por su compañía durante las noches en vela, su paciencia ante las horas tardías en los paseos y por estar siempre a mi lado, ya sea acurrucados a mis pies o junto a mí, haciéndome sentir que nunca estuve sola. Gracias a Eva, Tea y Nikko.

También agradezco a Margarita por las palabras de aliento y por confiar en mis habilidades. Tu creencia en mi potencial y apoyo constante me han dado una motivación adicional para alcanzar mis metas académicas.

Por supuesto, agradezco cada uno de mis amigos, por estar presentes en las distintas etapas de este camino. Andrea, Brenda, Fernanda, Giulia, Israel, Karla, Marco G., Vianey, les estoy profundamente agradecida.

Por último, reconozco la labor de las personas de la coordinación del PCMyL: Dra. Claudia Ponce, M. en C. Diana Juárez, Biól. Yázmin Valenzuela, Gabriela Almaráz, Guadalupe Godoy y Lic. Belém Martínez. Valoro enormemente su disposición para atender mis inquietudes y brindarme orientación. Su trabajo es fundamental para el buen funcionamiento del posgrado, y estoy sinceramente agradecida por todo.

*A mi esposa, Miriam,
grandes logros requieren un
gran equipo, yo tengo al mejor.*

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO 1	
Introducción general	3
CAPÍTULO 2	
El aumento de la superfetación precede a la evolución de grados avanzados de placentotrofia en peces vivíparos de la familia Poeciliidae	34
CAPÍTULO 3	
Lidiando con la carga de la viviparidad: la placentotrofia y la superfetación promueven una evolución morfológica convergente	66
CAPÍTULO 4	
Posible diversificación de las estructuras genitales masculinas en respuesta a la placentotrofia y la superfetación en una familia de peces vivíparos	111
CAPÍTULO 5	
Discusión general	144
Conclusiones	164
ARTÍCULOS	171

RESUMEN

La placentotrofía y la superfetación son estrategias reproductivas en los peces vivíparos de la familia Poeciliidae, dada la diversidad del linaje es posible explorar cómo han evolucionado estas dos estrategias en la historia del grupo. Nuestros resultados sorprendentes revelan una relación compleja entre estas estrategias reproductivas y sus efectos en la morfología y diversificación de los peces. Aquí exploramos con métodos comparativos filogenéticos cuál de estos dos rasgos reproductivos apareció primero impulsando mayores niveles del otro. Contrariamente a nuestras expectativas, encontramos que la superfetación precede a la evolución de la placentotrofía, lo que sugiere una coadaptación entre estas estrategias para optimizar la nutrición de los embriones. Posteriormente, analizamos cómo las estrategias reproductivas influyen en la morfología corporal. Descubrimos que la superfetación está asociada con cuerpos más delgados e hidrodinámicos en las hembras, independientemente de la presencia de placentotrofía. Después, examinamos la diversificación de las estructuras genitales masculinas, los gonopodios. Contrario a nuestras expectativas, descubrimos que las especies lecitotróficas sin superfetación exhiben tasas de diversificación más altas en algunas estructuras del gonopodio. Además, encontramos que la superfetación impulsa la evolución hacia un mayor número de sierras en los gonopodios, relacionado con la competencia por la paternidad. En conjunto, estos hallazgos destacan la importancia de la superfetación en la coevolución de las estrategias reproductivas y la morfología de peces de la familia Poeciliidae. La superfetación parece ser una fuerza evolutiva clave que influye en la forma y función de las estructuras genitales masculinas, así como en la morfología corporal de las hembras. Esta tesis ofrece una visión más completa de la evolución de las estrategias reproductivas y como estas han impulsado la diversificación en esta familia de peces vivíparos.

ABSTRACT

Placentotrophy and superfetation are reproductive strategies in viviparous fish of the family Poeciliidae, given the diversity within the group, it is possible to explore how these two strategies have evolved in the life-history of the family. Our astonishing results reveal a complex relationship between these reproductive strategies and their effects on fish morphology and genital diversification. Here, we investigate with phylogenetic comparative methods which of these two reproductive traits appeared first, driving the evolution higher levels of the other. Contrary to our expectations, we found that superfetation precedes the evolution of placentotrophy, suggesting a coadaptation between these strategies to optimize embryo nutrition. Subsequently, we analyze how these reproductive strategies influence body morphology. Using geometric morphometric we explore the morphological changes. We discover that superfetation is associated with slender and more hydrodynamic bodies in females, regardless of the presence of placentotrophy. Next, we examine the diversification of male genital structures, the gonopodia. Opposite to our predictions, we find that lecithotrophic species without superfetation exhibit higher diversification rates in some gonopodial structures. Furthermore, we find that superfetation drives the evolution of a greater number of serrae in gonopodia and larger gonopodia, related to competition for paternity. Overall, these findings highlight the importance of superfetation in the coevolution of reproductive strategies and the morphology of Poeciliidae fish. Superfetation appears to be a key evolutionary force that influences the shape and function of male genital structures, as well as female body morphology. This thesis provides a more comprehensive view of the evolution of reproductive strategies and how they have driven diversification in this family of viviparous fish.

CAPÍTULO 1

Introducción general

Viviparidad

La viviparidad es un modo reproductivo que ha trascendido límites taxonómicos, ecológicos y geográficos, y tiene importantes implicaciones fisiológicas, conductuales y morfológicas debido a su evolución convergente en varios grupos de vertebrados (Blackburn 2005; Ostrovsky et al. 2016). Ha aparecido repetidamente y de manera independiente en diversos grupos taxonómicos (Dunbrack y Ramsay 1989; Dulvy y Reynolds 1997). A pesar de que las aves son una excepción a esta condición vivípara, se puede encontrar en todos los demás grupos de vertebrados, incluyendo obviamente a los mamíferos, diversas especies de anfibios y peces cartilagosos, algunos clados de peces óseos y aproximadamente el 20% de las lagartijas y serpientes (Blackburn 1999).

Este modo reproductivo es un rasgo innovador que está involucrado en procesos evolutivos que conducen a un aumento en la tasa de diversificación de los grupos taxonómicos (Lydeard 1993; Helmstetter et al. 2016). En el caso de los peces, la viviparidad promueve además un incremento en las tasas de colonización y establecimiento en nuevas regiones geográficas, incluso con sólo una hembra grávida (Deacon y Magurran 2016). Aún en condiciones ambientales desfavorables, las tasas de supervivencia de las crías de especies vivíparas se mantienen altas debido a la protección que reciben al desarrollarse dentro de la madre (Zeh y Zeh 2000).

La reproducción vivípara implica que el desarrollo embrionario ocurre internamente en la hembra, lo que ha llevado a la evolución de

adaptaciones en el tracto reproductivo para mantener y proporcionar nutrientes a los embriones durante su desarrollo (Wourms 1981). Se resalta principalmente la relevancia del cuidado parental, la supervivencia y los niveles de fecundidad. Junto a esto, resulta fundamental tener en cuenta las ventajas ecológicas. Estas incluyen la expansión en el área de distribución y la capacidad destacada que presentan algunas especies vivíparas debido al desarrollo interno de las crías para establecerse como especies invasoras. "Esta protección también se extiende a la salvaguardia de los embriones en las estructuras maternas, lo que los resguarda de depredadores y deshidratación (Blackburn 1999; Goodwin et al. 2002). Asimismo, se destaca la relevancia del intercambio gaseoso y la transferencia directa de nutrientes hacia el embrión (Blackburn 2015).

Transferencia de nutrientes

En vertebrados vivíparos, las madres proveen a los embriones de los nutrientes que necesitan para su desarrollo dentro de su tracto reproductivo. La forma y el momento en que las madres transfieren estos nutrientes a los embriones varían ampliamente entre y dentro de grupos taxonómicos. Hay distintos mecanismos fisiológicos y anatómicos a través de los cuáles las madres proveen de estos nutrientes.

La entrega de nutrientes en la matrotrofia se ha clasificado en 6 modos o patrones según cómo el embrión absorbe o recibe tales nutrientes (Blackburn 2015): 1) oofagia, donde se alimentan del vitelo de embriones hermanos o de los restos de la reabsorción; 2) embriofagia, que se refiere al canibalismo entre hermanos; 3) histotrofia, que involucra la transferencia de nutrientes a través del

espacio entre los tejidos de la cavidad materna y el embrión; 4) histofagia, donde adquieren nutrientes en forma de líquidos; 5) matrofagia, que implica la ingesta de secreciones o tejidos maternos; y 6) placentotrofía, que se refiere a la presencia de una placenta, que es la aposición o fusión de las membranas fetales y maternas para el intercambio fisiológico (Mossman 1991). La placentotrofía es el patrón que mejor describe la transferencia de nutrientes dentro de la familia Poeciliidae, y esta se lleva a cabo gracias a la presencia de la placenta folicular (descrita más adelante).

Adicionalmente a la forma en que son transferidos los nutrientes a los embriones en desarrollo, también hay variación entre linajes e incluso entre especies cercanas en el momento del desarrollo en el que las madres transfieren nutrientes a sus embriones. De hecho, es posible observar un continuo dependiendo de cuándo los nutrientes son provistos por las madres (Blackburn 2015). En el punto más extremo de este continuo encontramos la lecitotrofía, que sucede en la mayoría de las especies de lagartijas y serpientes (Marsh-Matthews 2011). Aquí, la madre deposita prácticamente todos los nutrientes que el embrión necesitará durante su desarrollo en forma de vitelo directamente en el óvulo maduro o huevo antes de la fertilización. Por ejemplo, en embriones de la serpiente *Thamnophis ordinoides*, la fuente principal de nutrientes para su desarrollo es el vitelo, ya que la madre no transfiere nutrientes adicionales durante el desarrollo, y los embriones se alimentan exclusivamente de este vitelo (Stewart et al. 1990).

En el otro extremo del continuo, encontramos la matrotrofia extrema (Marsh-Matthews 2011; Pires et al. 2011). El ejemplo más evidente de este modo de provisionamiento materno lo representan todos los mamíferos placentarios, donde la madre transfiere activamente a sus embriones todos los nutrientes que necesitan durante su desarrollo. En este caso, el óvulo maduro carece totalmente de sustancias nutritivas antes de ser fertilizado.

La lecitotrofia y la matrotrofia representan los extremos de un continuo de estrategias de transferencia de nutrientes de la madre a los embriones en desarrollo (Pollux et al. 2009). Entre estos extremos, encontramos algunas especies intermedias que combinan la asignación de nutrientes antes y después de la fertilización. Específicamente, los óvulos maduros contienen un poco de vitelo al momento de ser fertilizados y, además, las madres transfieren activamente distintas cantidades de nutrientes a sus embriones a lo largo del desarrollo, lo que se conoce como matrotrofia incipiente (Trexler y DeAngelis 2003; Turcotte et al. 2008). En los peces vivíparos de la familia Poeciliidae, encontramos especies con matrotrofia extrema, algunas otras son estrictamente lecitotróficas y muchas otras presentan matrotrofia incipiente (Pollux et al. 2009; [Figura 1](#)).

Asimismo, la variación en el nivel de matrotrofia también se puede observar entre poblaciones de la misma especie (Schrader y Travis 2008; Zúñiga-Vega et al. 2011). Recientemente, Molina-Moctezuma y colaboradores (2020) demostraron que en poblaciones de *Poeciliopsis gracilis* y *Poeciliopsis infans*, las cantidades de nutrientes transferidas de la madre a los embriones antes y después de la

fertilización varían de forma importante entre poblaciones, estaciones del año e incluso entre individuos dentro de las poblaciones.

Para evaluar el lugar de una especie en este espectro de transferencia materna de nutrientes, se calcula el índice de matrotrofia (MI por sus siglas en Inglés), definido como el peso seco promedio de la descendencia al nacer dividido por el peso seco promedio de los óvulos en el momento de la fertilización (Reznick et al. 2002). Las especies con valores de $MI < 1$, que oscilan entre 0.5 y 0.75 se pueden clasificar como lecitotróficas. Estos valores indican que los embriones pierden entre un 25% y un 50% de su masa seca durante la gestación debido a los costos metabólicos asociados al desarrollo; ya que la mayor parte de la inversión materna se realiza antes de la fertilización (Wourms 1981). Esto implica que el peso al nacer es menor que el peso del ovocito maduro. Por otro lado, las especies con valores de $MI > 1$ se clasifican como matrotroficas, dado que los embriones aumentan su peso seco al recibir recursos directamente de la madre durante el desarrollo. En este caso, el valor de MI se mantiene cercano a 1, ya que el peso se mantiene constante a lo largo del desarrollo debido a que las madres transfieren nutrientes durante este proceso (Reznick et al. 2002). La variación del nivel de placentotrofia entre especies y poblaciones sugiere que la transferencia de nutrientes hacia los embriones durante el desarrollo evoluciona relativamente rápido y representa ventajas adaptativas bajo ciertas condiciones ambientales (Trexler y DeAngelis 2003; Pollux et al. 2009).

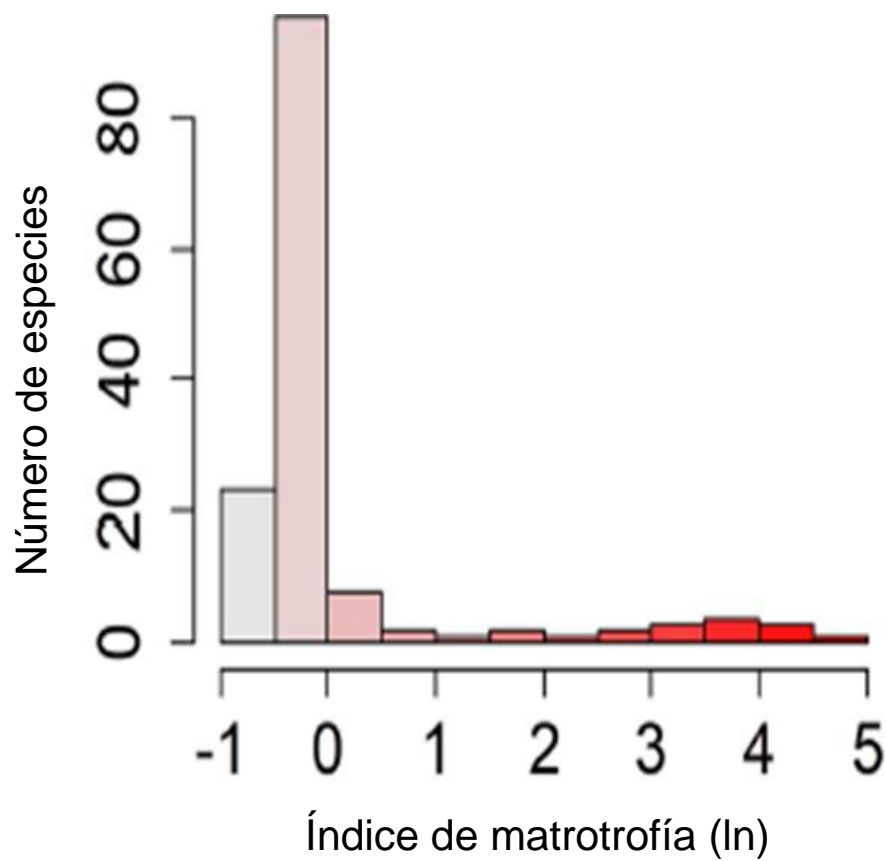


Figura 1. Histograma que muestra el número de especies de peces de la familia Poeciliidae con distintos valores del índice de matrotrofia (IM). Este histograma muestra una distribución continua que va desde lecitotrofia estricta (izquierda en el continuo) hasta matrotrofia extrema (extremo derecho el continuo). Modificada de Reznick et al. (2021).

Superfetación

Otra estrategia reproductiva muy interesante y presente en varios taxa es la superfetación, que se caracteriza por la presencia simultánea de dos o más grupos de embriones en distintos estadios de desarrollo (camadas) dentro del tracto reproductor de una misma hembra (Turner 1937; Scrimshaw 1944; Zúñiga-Vega et al. 2010). El origen latino de la palabra superfetación describe la superposición de la descendencia: *superfetāre* 'concebir de nuevo', de *super-* 'sobre-' y *fetus* 'cría'.

La superfetación se ha documentado, aparentemente, en varios mamíferos (Roellig et al. 2011), como el visón americano (*Mustela vison*) (Yamaguchi et al. 2004), el ualabí de tammar (*Macropus eugenii*) (Menzies et al. 2020) y la liebre europea (*Lepus europaeus*). Incluso se ha encontrado superfetación en los humanos como resultado de tratamientos de fertilidad (Lantieri et al. 2010). Sin embargo, es más común encontrarla en peces vivíparos, especialmente en la familia Poeciliidae (Scrimshaw 1944; Zúñiga-Vega et al. 2007), en la que varios de sus géneros, como *Poeciliopsis*, son superfetadores.

Dentro de la familia Poeciliidae, hay variación interespecífica, ya que algunas especies presentan superfetación (más de una camada), mientras que otras no (solamente una camada), y el número de camadas simultáneas difiere notablemente entre especies. Por ejemplo, *Poeciliopsis baenschii* puede llevar de forma simultánea dos o tres camadas (Zúñiga-

Vega et al. 2017), mientras que *Heterandria formosa* puede gestar hasta ocho camadas al mismo tiempo (Haynes 1995).

Además, la variación en el nivel de superfetación también puede ser intraespecífica, es decir, hay diferencias entre las poblaciones. Zúñiga-Vega y colaboradores (2007) demostraron que las poblaciones de *Poeciliopsis turrubarensis* que habitan en zonas del río donde el flujo de agua es más rápido tienen más camadas simultáneas que las poblaciones que habitan en zonas de flujo lento. También se ha observado variación estacional en el número de camadas que llevan *Poeciliopsis gracilis* y *Poeciliopsis infans* (Frías-Alvarez et al. 2014). La distribución filogenética y la variación intraespecífica del nivel de superfetación sugieren que este modo reproductor ha evolucionado de manera independiente múltiples veces y que puede tener ciertas ventajas adaptativas en circunstancias particulares (Zúñiga-Vega et al. 2010).

Se han propuesto diversas hipótesis sobre las ventajas adaptativas de la superfetación (Zúñiga-Vega et al. 2010). Una de estas hipótesis sugiere que podría reducir la carga física asociada con el desarrollo embrionario interno en entornos acuáticos o con alta presión de depredación (Fleuren et al. 2019). En ambientes donde la amenaza de depredadores es elevada, los peces deben ser ágiles para escapar, lo que favorece formas corporales delgadas y alargadas (Langerhans 2009). En organismos vivíparos, una inversión significativa en la producción de crías suele conducir a un incremento notable en el volumen corporal. Según Ghalambor y colaboradores (2004), en los poecílidos, el crecimiento de los embriones puede aumentar la masa y el volumen corporal de

las hembras de forma importante durante la gestación. En el caso de las especies superfetadoras, una menor asignación a la reproducción se traduce en una menor carga durante la natación. Por ende, la superfetación busca lograr una distribución más equitativa de la reproducción a lo largo del tiempo, mediante un esquema de redistribución, lo que reduce la inversión total de recursos que la madre realiza en momentos específicos, sin afectar la producción global de descendencia (Zúñiga-Vega et al. 2010). En otras palabras, la superfetación permite a la hembra llevar embriones de mayor tamaño en etapas avanzadas, así como embriones en etapas tempranas. Cuando finalmente nazcan los embriones a término, la hembra tendrá solo los embriones más pequeños en desarrollo. Esto les permite a las hembras mantener una alta producción reproductiva al mismo tiempo que reducen el espacio corporal necesario para llevar una camada grande (Thibault y Schultz 1978). Por ejemplo, una hembra sin superfetación tendría una mayor distensión abdominal al gestar una sola camada de 12 embriones, mientras que una hembra con superfetación podría llevar esos mismos 12 embriones divididos en tres camadas diferentes en distintos estados de desarrollo.

Por otro lado, la superfetación en peces se plantea como una estrategia que otorga ventajas en el control de la paternidad, relacionada con conflictos sexuales y asimetrías en la inversión reproductiva entre machos y hembras (Macías-García y González-Zuarth 2005). En especies con machos ornamentados, las hembras pueden seleccionar parejas de alta

calidad y asignar su descendencia a un macho específico. Por otro lado, en especies con machos que carecen de ornamentos, que tienen un gonopodio chico y realizan inseminaciones forzadas, las hembras podrían verse obligadas a gestar una camada de baja calidad (Rosen y Tucker 1961). Un aspecto interesante que respalda la idea de que las hembras superfetadoras influyen en el control de la paternidad es la presencia de estructuras conocidas como espermatecas, que actúan como reservorios de esperma (Olivera-Tlahuel et al. 2017). Estas estructuras sugieren la capacidad de las hembras para retener y seleccionar el esperma de diferentes machos, lo que refuerza aún más su influencia en la determinación de la paternidad. En conjunto, la superfetación en peces parece estar adaptada para abordar los desafíos de la asimetría sexual y los conflictos reproductivos, brindando a las hembras la oportunidad de mejorar la calidad de los machos con los que se aparean y evitando la monopolización de la paternidad por un solo macho.

La relación entre la placentotrofia y la superfetación y su posible valor adaptativo

Estudios recientes han demostrado que la placentotrofia y la superfetación han evolucionado de manera correlacionada (Meredith et al. 2011; Pollux et al. 2014; [Figura 2](#)). De hecho, la gran mayoría de las especies que presentan superfetación tienen al menos placentotrofia moderada. En contraste, muchas de las especies sin superfetación son lecitotróficas (Macías-García y González-Zuarth 2005; Pollux et al. 2009, 2014). A pesar de que la placentotrofia y la superfetación ocurren juntas la mayoría de las veces, existen pocas excepciones en las que no sucede

así. Por ejemplo, algunas especies de los géneros *Phalloceros* y *Pamphoricthys* son placentotróficos pero no tienen superfetación, mientras que *Priapichtys*, *Neoheterandria* y algunas especies de *Poeciliopsis* tienen superfetación pero son lecitotróficas (Furness et al. 2019).

El patrón de evolución correlacionada entre placentotrofia y superfetación, observado en la mayoría de las especies de la familia Poeciliidae (a pesar de algunas excepciones), ha dado lugar a la hipótesis de que la evolución de una de estas dos estrategias reproductivas facilita o promueve la evolución de la otra. Aunque existe evidencia clara de que la placentotrofia y la superfetación tienden a evolucionar de manera conjunta (Furness et al. 2021), todavía persiste la cuestión de si el desarrollo de niveles relativamente altos de placentotrofia preceden al surgimiento de niveles avanzados de superfetación (más camadas simultáneas), o si, por el contrario, el surgimiento de niveles avanzados de superfetación antecede a la evolución de mayores grados de placentotrofia. Es decir, no existe una exploración de la coevolución entre ambos modos reproductivos, pero tratándolas como estrategias reproductivas (variables) continuas en las que pueden coevolucionar niveles bajos o avanzados de ambas (i.e. placentas simples o complejas y pocas o muchas camadas simultáneas).

Este último cuestionamiento sobre la precedencia de una de las dos estrategias ante la otra recae en el hecho de que recientemente se ha prestado atención a las ventajas potenciales, en términos de adecuación, que puede tener la presencia conjunta de placentotrofia y superfetación.

Pollux y colaboradores (2009) revisan y proponen algunas hipótesis sobre el valor adaptativo de la presencia conjunta de estas dos estrategias reproductivas. Una de las hipótesis sugiere que la superfetación y la placentotrofia promueven morfologías delgadas e hidrodinámicas, lo que a su vez confiere ventajas en ambientes acuáticos al reducir la fricción durante la locomoción y permitir a los peces nadar más rápido y/o más ágilmente (Reznick y Miles 1989; Zúñiga-Vega et al. 2007; Fleuren et al. 2018, 2019).

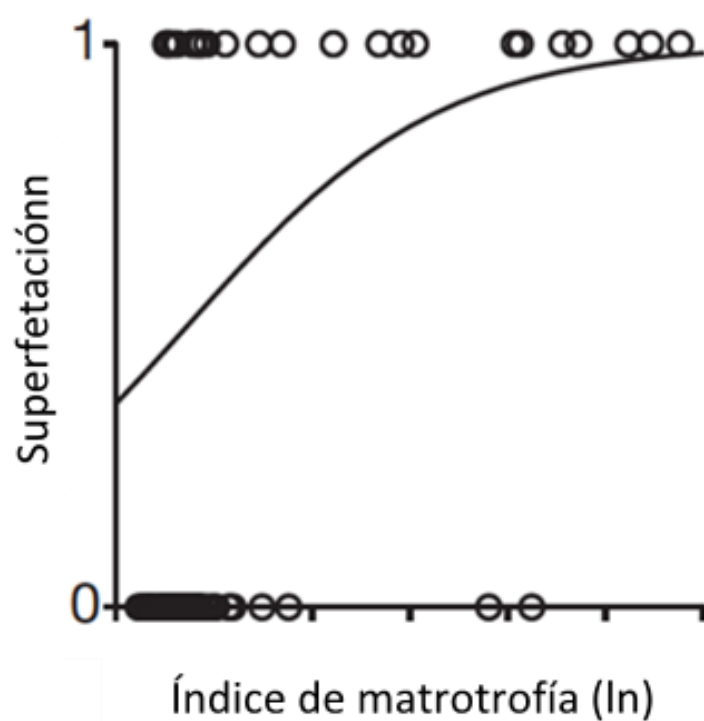


Figura 2. Regresión logística filogenética que muestra la relación del índice de matrotrofia en escala logarítmica (IM) con la presencia o ausencia de superfetación ($b_1 = 0.776$, $P < 0.001$). Modificada de Pollux et al. (2014).

La explicación del por qué la presencia conjunta de altos niveles de placentotrofia y superfetación promueve fenotipos delgados e hidrodinámicos se basa en el efecto de estos dos modos reproductivos sobre el volumen del cuerpo que las hembras destinan a la producción de crías. El volumen del cuerpo que una hembra lecitotrófica destina a la reproducción es bastante elevado a lo largo de todo el desarrollo, ya que produce ovocitos maduros grandes que, al momento de ser fertilizados e iniciar la gestación, ya cuentan con todos los nutrientes necesarios para el desarrollo embrionario ([Figura 3a](#)). Además, durante el proceso de desarrollo, los embriones experimentan un aumento en su peso húmedo. En contraste, la hembra placentotrófica genera ovocitos maduros de tamaño muy reducido, con escasa o nula cantidad de vitelo (microlécitos; Uribe y Grier 2011). Esto implica que, al menos en las etapas iniciales del desarrollo embrionario, destinan una proporción pequeña del volumen corporal a la producción de descendencia ([Figura 3a](#)). No obstante, a medida que el desarrollo avanza, los embriones experimentan un incremento en su tamaño debido al aumento en su peso húmedo.

La presencia de superfetación puede reducir aún más el volumen que las hembras destinan a la producción de embriones, especialmente en especies matrotóxicas ([Figura 3b](#)). La superfetación implica repartir el esfuerzo reproductivo en grupos más pequeños de embriones en distintos estadios de desarrollo, en lugar de producir muchos embriones en un mismo estadio de desarrollo (Zúñiga-Vega et al. 2010). Sin superfetación,

las especies placentotróficas ocupan un bajo volumen en la producción de embriones solo al inicio de la gestación ([Figura 3a](#)). Con superfetación, las especies placentotróficas destinan un bajo volumen corporal durante todo el desarrollo porque sólo unos pocos embriones (en estadios avanzados de desarrollo) son grandes y en ningún momento gestan a muchos embriones grandes como lo hacen las hembras sin superfetación ([Figura 3b](#)). Por el contrario, el volumen corporal que destinan a la reproducción las especies lecitotróficas es alto, tanto en presencia como en ausencia de superfetación, debido a que la lecitotrofia implica un tamaño inicial grande de los ovocitos maduros y, por lo tanto, una alta inversión reproductiva a lo largo de todo el desarrollo ([Figuras 3a y 3b](#)).

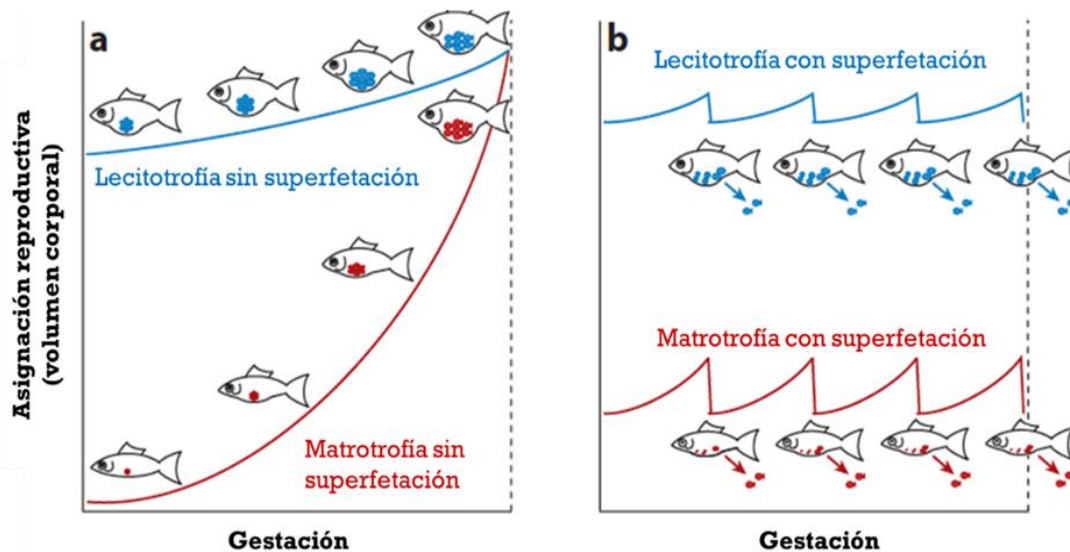


Figura 3. Representación gráfica de la hipótesis que sugiere que la presencia conjunta de matrotrofia y superfetación favorece una reducción en la inversión reproductiva por parte de las hembras y, en consecuencia, en el volumen del cuerpo que destinan a la producción de embriones. Modificada de Pollux et al. (2009).

La placenta folicular y sus estructuras

El desarrollo de los peces de la familia Poeciliidae es folicular; debido a la superposición de los tejidos embrionarios y maternos, se le conoce como placenta folicular (Mossman 1991; Greven 2011). La placenta folicular de las hembras de los poecílicos se divide en tres componentes: el saco pericárdico y el saco vitelino, que son tejidos embrionarios, y el folículo materno, que, como su nombre indica, está asociado con las células foliculares maternas (Turner 1940). Esta superposición de tejidos permite la transferencia de nutrientes y el intercambio de gases entre la madre y el embrión. La placenta folicular es la que presenta estructuras que facilitan dicho intercambio, tales como microvellosidades, vesículas y tejido conectivo vascularizado (Jollie y Jollie 1964).

Se ha comprobado que en los peces vivíparos de la familia Poeciliidae, la variación en el nivel de placentotrofia está asociada a la complejidad de la placenta (Turner 1940; Olivera-Tlahuel et al. 2019). A medida que aumenta el nivel de placentotrofia, se observa un mayor grosor del tejido folicular materno y una mayor vascularización (Kwan et al. 2015). Las características de una placenta más compleja incluyen un mayor número y tamaño de las vesículas, así como un mayor número de microvellosidades y más largas. Además, existe una relación positiva entre el área del folículo materno y el índice de matrotrofia (Olivera-Tlahuel et al. 2019). Por otro lado, el grado de superfecundación también está asociado a ciertas estructuras placentarias bajo el supuesto de que el desarrollo de diferentes grupos de embriones requiere estructuras complejas para regular

de forma diferencial la transferencia de nutrientes a los distintos estadios de desarrollo (Zúñiga-Vega et al. 2010). Así, un mayor número de microvellosidades y microvellosidades y un incremento en el área del folículo materno están positivamente correlacionados con la presencia de superfetación (Olivera-Tlahuel et al. 2019).

Las hembras de los peces vivíparos tienen la capacidad de almacenar esperma en estructuras llamadas espermatecas (Clark y Aronson 1951; Greven 2011) de forma similar a otros organismos vivíparos como los insectos y los anfibios. De forma particular, en poecílidos, se ha encontrado una correlación positiva entre la presencia de superfetación y el tamaño de las espermatecas (Olivera-Tlahuel et al. 2017). Generalmente, las espermatecas permiten la reproducción continua en ausencia de machos o en ciclos reproductivos asincrónicos, su prevalencia en especies de poecílidos superfetadoras sugiere que tienen una función en la reproducción de especies que no muestran selección sexual pre-copulatoria, tal como lo mencionan Pollux y colaboradores (2014). En este contexto, es relevante destacar que las hembras de poecílidos suelen copular con varios machos durante un solo episodio reproductivo, un fenómeno conocido como poliandria (Parker y Birkhead 2013). Esta táctica resulta en la continuación de la selección sexual después del apareamiento, lo que destaca la selección postcopulatoria. Dicha selección se manifiesta a través de la competencia espermática y la elección discreta de las hembras o selección sexual post-copulatoria (Parker 1970).

El órgano reproductor de los machos, el gonopodio

De forma similar a las hembras, que presentan estructuras complejas asociadas a su condición vivípara, los machos de los poecílidos también exhiben órganos genitales intromitentes especializados que varían ampliamente en función y forma tanto entre especies filogenéticamente cercanas como entre poblaciones (Langerhans 2011; Heinen-Kay y Langerhans 2013).

En particular, el órgano copulador se conoce como gonopodio, el cual es una modificación de la aleta anal (Rosen y Bailey 1963). Esta estructura muestra una diversidad considerable entre las especies de poecílidos, con una amplia gama de formas, incluyendo ganchos, espinas y sierras en la punta distal (Rosen y Gordon 1953, Eberhard 1996; Hosken y Stockley 2004,; Greven 2005; Langerhans 2011; [Figura 4](#)). Las estructuras presentes en la punta distal del gonopodio tienen funciones relacionadas con la transferencia espermática a través de procesos mecánicos en algunas especies, así como con la sujeción de la hembra durante la cópula (Gasparini et al. 2011; Kwan et al. 2013). Además, se ha sugerido que las espinas cumplen una función táctil (Rosen y Tucker 1961), mientras que los ganchos y las sierras permiten un contacto más prolongado durante la cópula (Clark et al. 1954).

La amplia variación en la longitud relativa del gonopodio entre las especies de esta familia es notoria. Aunque se establece una relación entre el tamaño corporal del macho y la longitud del gonopodio, la diversidad en este rasgo es significativa. Algunas especies muestran gonopodios cortos,

que constituyen menos del 25% de la longitud estándar, mientras que otras presentan gonopodios largos, que exceden el 30% de la longitud estándar (Rosen (Rosen y Tucker 1961). La longitud del gonopodio se ha vinculado con las tácticas de apareamiento y el tipo de selección, ya sea antes o después del apareamiento. Las especies con gonopodios más cortos exhiben comportamientos de cortejo (selección sexual antes del apareamiento), mientras que aquellas con gonopodios más largos no muestran comportamientos de cortejo y se aproximan a las hembras de manera sigilosa (Langerhans 2011). En estas últimas especies, aparentemente operan mecanismos de selección sexual después del apareamiento (Pollux et al. 2014; Reznick et al. 2021).

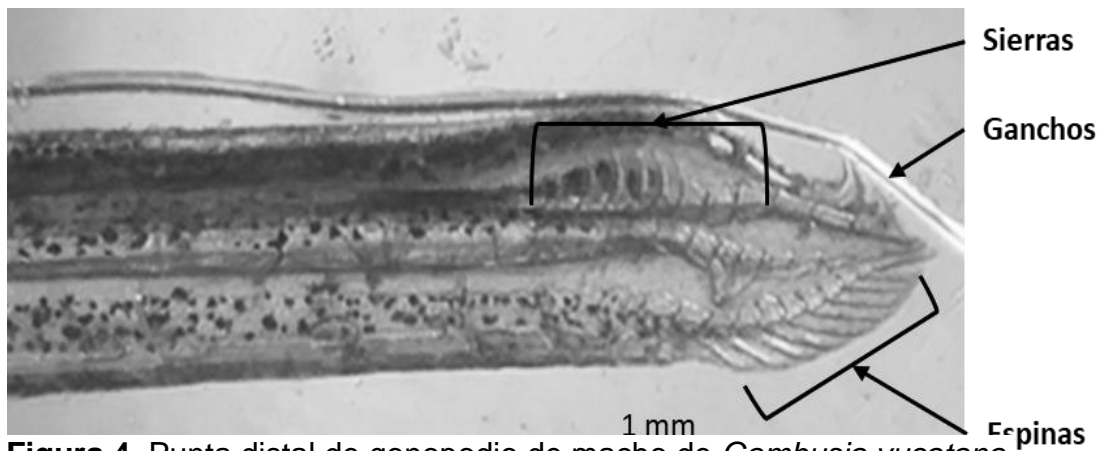


Figura 4. Punta distal de gonopodio de macho de *Gambusia yucatanana*.

La gran diversidad de los gonopodios se explica a través de hipótesis de selección sexual (Eberhard 1985, 2010) las cuales buscan entender los mecanismos detrás de esta evolución divergente. Se ha propuesto que la presión de selección sexual puede influir en la forma y longitud de los genitales, y este proceso puede ocurrir en el contexto de una competencia evolutiva entre los sexos, donde los genitales se adaptan en respuesta a la competencia y las interacciones entre machos y hembras (Córdoba-Aguilar 1999; Eberhard 2010).

Específicamente, el tamaño de los gonopodios se relaciona con diversos comportamientos. Por ejemplo, en los guppies, los machos con gonopodios más largos tienden a intentar un mayor número de cópulas forzadas, mientras que aquellos con gonopodios más cortos muestran un comportamiento de cortejo más pronunciado en varias especies de peces poecílidos (Reynolds et al. 1993). Este comportamiento puede explicarse mediante el conflicto sexual, ya que los gonopodios más largos permiten a los machos alcanzar a las hembras y evitar la elección de apareamiento de estas, lo que resulta en una mayor adecuación (Gasparini et al. 2011; Marsh-Matthews 2011).

En particular, los machos de poecílidos emplean diversas estrategias de apareamiento que coevolucionan con sus estructuras genitales. Estas estrategias abarcan desde participar en comportamientos de cortejo hacia las hembras hasta usar coerción para iniciar intentos de apareamiento (Langerhans 2011; Martin et al. 2013; Wang et al. 2015). Los conflictos

entre machos y hembras, y sus consecuencias evolutivas, ejemplifican claramente la coevolución antagónica (Arnqvist y Rowe 2002; Simmons y Garcia-Gonzalez 2011).

Estrategias de apareamiento

En la familia Poeciliidae, los machos emplean dos tácticas distintas para el apareamiento, y estas estrategias varían entre especies debido a diferencias morfológicas y conductuales (Langerhans 2011). Por un lado, los machos que poseen ornamentos y coloraciones brillantes, así como tallas similares a las hembras, adoptan comportamientos de cortejo que resultan atractivos para ellas (Furness et al. 2019; Reznick et al. 2021). La elección femenina desempeña un papel crucial en la evolución de los ornamentos, las estructuras morfológicas y las conductas asociadas a la selección sexual de los machos (Arnqvist y Rowe 2005). Esto implica que, debido a que los machos de distintas especies exhiben conductas de cortejo y presentan características visuales llamativas, las hembras seleccionan a sus posibles parejas y participan activamente en el proceso reproductivo.

Por otro lado, los machos de las especies sin ornamentos, con una coloración menos conspicua y de menor tamaño que las hembras, generalmente no son favorecidos por la elección femenina antes de la cópula (Furness et al. 2019; Reznick et al. 2021). La falta de evaluación femenina resulta en cópulas forzadas por parte de estos machos como una estrategia para resolver el conflicto entre hembras y machos. En este sentido, las hembras resisten los intentos coercitivos de inseminación por parte de los machos, quienes empujan su

gonopodio hacia los genitales de la hembra (Rosen y Tucker 1961; Parker y Clutton-Brock 1995).

Las conductas coercitivas de los machos representan costos para las hembras en términos de adecuación, incluyen una reducción en la eficiencia de forrajeo debido a la constante evasión de la intensa conducta coercitiva y una mayor exposición a depredadores (Magurran y Seghers 1994a,b; Pilastro et al. 2003). Por lo tanto, las conductas de los machos suelen generar cambios en el comportamiento de las hembras (Rowe et al. 1994). La evasión de las hembras y el intento de cópulas constante por parte de los machos son el resultado de un conflicto intersexual inherente a la inversión diferencial en la descendencia (Trivers 1972; Parker 1979).

Objetivos y esquema de la tesis

El propósito principal de esta tesis es elucidar interrogantes relacionadas con la evolución de dos estrategias reproductivas de gran relevancia que tienen un impacto significativo en la historia de vida de los peces vivíparos. Además, buscamos analizar los procesos evolutivos que impulsan dichas estrategias y las consecuencias adaptativas que se derivan de su presencia.

Los objetivos específicos en este trabajo fueron los siguientes: (1) Investigar si la evolución hacia niveles avanzados en una estrategia anticipa el desarrollo de niveles avanzados en la otra, explorando así la coevolución y posible relación causal entre ambas. (2) Explorar los cambios en la morfología corporal de las hembras derivados de la evolución de ambas estrategias. (3) Investigar cómo la presencia de estas estrategias puede impulsar la diversificación morfológica en la estructura genital de los machos debido al conflicto sexual. Con los resultados obtenidos logramos una comprensión más detallada de la historia evolutiva de los peces vivíparos de la familia Poeciliidae. Para alcanzar el objetivo general, planteamos tres preguntas que corresponden a los objetivos específicos y que dieron como resultado tres artículos científicos.

La primera pregunta que planteamos fue ¿la placentotrofia facilita la evolución de la superfetación o viceversa? para ello en el [capítulo 2](#) formulamos la hipótesis de que la evolución de una de estas estrategias reproductivas (placentotrofia y superfetación) ha facilitado la evolución de la otra. En otras palabras, no solamente esperamos una evolución correlacionada entre estos dos modos reproductivos (Furness et al. 2021), sino que esperamos encontrar que la

evolución de altos niveles de placentotrofía comúnmente precede al surgimiento de altos niveles de superfetación o viceversa.

Para explorar esta hipótesis, recopilamos información sobre el nivel de placentotrofía y superfetación de 36 especies de la familia Poeciliidae en la literatura publicada. Utilizando la filogenia más reciente y robusta de la familia Poeciliidae (Pollux et al. 2014; Reznick et al. 2017), implementamos un innovador método filogenético comparativo para probar la evolución correlacionada entre estas dos estrategias reproductivas mediante la estimación de las tasas adaptativas (Hansen et al. 2008; Bartoszek et al. 2012).

En el [capítulo 3](#) desarrollamos la segunda pregunta que planteamos: ¿La placentotrofía y la superfetación promueven la evolución de morfologías hidrodinámicas en las hembras? Para responder a esta pregunta, partimos de la hipótesis de que a lo largo de la historia de la familia Poeciliidae, la evolución simultánea de la placentotrofía y la superfetación ha favorecido el desarrollo de especies con morfologías más delgadas e hidrodinámicas. Esto implica que, por el contrario, las especies lecitotróficas y sin superfetación exhiben morfologías más robustas. En consecuencia, una de nuestras predicciones sugiere que la presencia conjunta de placentotrofía y superfetación reduce el volumen corporal destinado a la producción de embriones.

Para poner a prueba nuestra hipótesis, examinamos a través de métodos filogenéticos comparados (Hansen et al. 2008) la relación de la evolución conjunta de placentotrofia y superfetación y la morfología delgada de las hembras. Utilizando fotografías digitales de hembras de 48 especies que forman parte del acervo de tres colecciones de museo, aplicamos herramientas de morfometría geométrica y métodos filogenéticos comparados para identificar si la placentotrofia y la superfetación constituyen regímenes adaptativos que conducen a óptimos morfológicos más hidrodinámicos.

En lo que respecta al tercer objetivo específico, en el [capítulo 4](#) planteamos la siguiente pregunta: ¿La placentotrofia y la superfetación promueven la diversificación en la morfología del gonopodio de los machos? Para responderla planteamos la hipótesis de que debido a que la placentotrofia y la superfetación parecen ser mecanismos que favorecen la selección sexual post-copulatoria y, por lo tanto, promueven un conflicto entre sexos, los machos de especies que presentan estas dos estrategias, deben evolucionar mayor diversidad de adaptaciones morfológicas para asegurar la paternidad. Por lo tanto, los machos de especies con placentotrofia y superfetación habrán evolucionado una mayor diversificación en las estructuras de los gonopodios en comparación con machos de especies lecitotróficas y sin superfetación.

Pusimos a prueba nuestra hipótesis a partir de estimar y comparar la tasa de diversificación evolutiva de las estructuras del gonopodio entre especies con placentotrofia y superfetación y especies con lecitotrofia y sin superfetación. Medimos diferentes estructuras del gonopodio en 39 especies de machos

obtenidas de colecciones de museo. Estimamos las tasas de diversificación evolutiva de cada una de las características del gonopodio (largo relativo, profundidad de la punta distal del gonopodio, número de sierras, largo máximo de sierras, largo promedio de sierras) a través de métodos filogenéticos comparativos basados en modelos de evolución adaptativa (Beaulieu et al. 2012; Beaulieu y O'Meara 2016) para evaluar el impacto de la presencia conjunta de la placentotrofia y la superfecundación sobre la tasa de diversificación de las estructuras del gonopodio.

En el [capítulo 5](#) de esta tesis, se discuten de manera integral los resultados obtenidos en los capítulos anteriores. Se realiza una interpretación de los hallazgos y se contrastan con las hipótesis iniciales, centrándonos en el contexto de la historia de vida de los peces de la familia Poeciliidae. También se comparan los resultados obtenidos con investigaciones previas relacionadas con la placentotrofia y la superfecundación (Fleuren et al. 2018; Furness et al. 2019; Reznick et al. 2021). Además, se plantean propuestas para futuras investigaciones sobre la evolución de estas estrategias reproductivas. Esta tesis representa una contribución significativa al conocimiento de la evolución de la placentotrofia y la superfecundación, así como al valor adaptativo que tienen en relación con la morfología de las hembras y con los órganos genitales de los machos. En general, los resultados de esta investigación descubren nuevos aspectos sobre la evolución de historias de vida de los peces vivíparos de la familia Poeciliidae.

Referencias

- Arnqvist, G., and L. Rowe. 2002. Antagonistic coevolution between the sexes. *Nature* **415**:787–789.
- Arnqvist G, Rowe L. 2005. Sexual conflict in nature In: *Sexual Conflict*. Princeton: Princeton University Press, 1–11.
- Bartoszek K, Pienaar J, Mostad P, Andersson S, Hansen TF. 2012 A phylogenetic comparative method for studying multivariate adaptation. *J. Theor. Biol.* **314**, 204–215.
- Beaulieu JM, Jhwueng DC, Boettiger C, O'Meara BC. 2012. Modeling stabilizing selection: Expanding the Ornstein-Uhlenbeck model of adaptive evolution. *Evolution* **66**: 2369–2383.
- Beaulieu JM, O'Meara BC. 2016. OUwie: analysis of evolutionary rates in an OU framework. R Package.
- Clark, E., L. Aronson, and M. Gordon. 1954. Mating behavior patterns in two sympatric species of xiphophorin fishes : their inheritance and significance in sexual isolation. *Bull. AMNH* **103**:139–225.
- Clark, E., and L. R. Aronson. 1951. Sexual behavior in the guppy, *Lebistes reticulatus* (Peters). *Zoologica* **36**:49--66.
- Córdoba-Aguilar, A. 1999. Male copulatory sensory stimulation induces female ejection of rival sperm in a damselfly. *Proc. R. Soc. London - Biol. Sci.* **266**:779–784.
- Eberhard, W. G. 2010. Evolution of genitalia : theories, evidence, and new directions. *Genetica* **138**:5–18.
- Eberhard, W. G. 1985. Sexual Selection and Animal Genitalia. Harvard University Press.
- Fleuren, M., E. M. Quicazan-Rubio, J. L. van Leeuwen, and B. J. A. Pollux. 2018. Why do placentas evolve? Evidence for a morphological advantage during pregnancy in live-bearing fish. *PLoS One* **13**:1–15.
- Fleuren, M., J. L. Van Leeuwen, and B. J. A. Pollux. 2019. Superfetation reduces the negative effects of pregnancy on the fast-start escape performance in live-bearing fish. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **286**.20192245
- Frías-Alvarez, P., C. Macías García, L. F. Vázquez-Vega, Zúñiga-Vega, J.J. 2014. Spatial and temporal variation in superfetation and related life history traits of two viviparous fishes: *Poeciliopsis gracilis* and *P. infans*. *Naturwissenschaften* **101**:1085–1098.

- Furness, A. I., J. C. Avise, B. J. A. Pollux, Y. Reynoso, Reznick, D. N. 2021. The evolution of the placenta in poeciliid fishes. *Curr. Biol.* **31**:2004-2011.e5.
- Furness, A. I., B. J. A. Pollux, R. W. Meredith, M. S. Springer, Reznick D. N. 2019. How conflict shapes evolution in poeciliid fishes. *Nat. Commun.* **10**:1–12.
- Gasparini, C., A. Pilastro, Evans J. P. 2011. Male genital morphology and its influence on female mating preferences and paternity success in guppies. *PLoS One* **6**:1–5.
- Ghalambor, C. K., D. N. Reznick, Walker, J. A. 2004. Constraints on adaptive evolution: The functional trade-off between reproduction and fast-start swimming performance in the Trinidadian guppy (*Poecilia reticulata*). *Am. Nat.* **164**:38–50.
- Greven, H. 2011. Gonads, genitals, and reproductive biology. Pp. 3–17 in J. P. Evans, A. Pilastro, and I. Schlupp, eds. *Ecology and Evolution of Poeciliid Fishes*. The University of Chicago Press.
- Greven, H. 2005. Structural and behavioural traits associated with sperm transfer in Poeciliinae. Pp. 147–165 in M. C. Uribe and H. J. Grier, eds. *Viviparous fishes*. New Life Publications, Homestead, FL.
- Hansen, T. F., J. Pienaar, and S. H. Orzack. 2008. A comparative method for studying adaptation to a randomly evolving environment. *Evolution* **62**:1965–1977.
- Heinen-Kay, J. L., and R. B. Langerhans. 2013. Predation-associated divergence of male genital morphology in a livebearing fish. *J. Evol. Biol.* **26**:2135–2146.
- Jollie, W. P., and L. G. Jollie. 1964. The Fine Structure of the Ovarian Follicle of the Ovoviviparous Poeciliid Fish, *Lebistes reticulatus*. I. Maturation of follicular epithelium. *J. Morphol.* **114**:479–501.
- Kwan, L., Y. Y. Cheng, F. H. Rodd, and L. Rowe. 2013. Sexual conflict and the function of genitalic claws in guppies (*Poecilia reticulata*). *Biol. Lett.* **9**:20130267.
- Kwan, L., M. Fris, F. H. Rodd, L. Rowe, L. Tuhela, and T. M. Panhuis. 2015. An examination of the variation in maternal placentae across the genus *Poeciliopsis* (Poeciliidae). *J. Morphol.* **276**:707–720.
- Langerhans, R. B. 2011. Genital evolution in Poeciliid fish. *Ecol. Evol. Poeciliid Fish* **1**:228–240.

- Langerhans, R. B. 2009. Trade-off between steady and unsteady swimming underlies predator-driven divergence in *Gambusia affinis*. *J. Evol. Biol.* **22**:1057–1075.
- Macías-García, C., and C. A. González-Zuarth. 2005. Reproductive behavior of viviparous fish and intersexual conflict. Pp. 289–302 in M. Uribe and H. J. Grier, eds. *Viviparous fishes*. Homestead: New Life Publications.
- Magurran, A. E., and B. H. Seghers. 1994a. A cost of sexual harassment in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **258**:89–92.
- Magurran, A. E., and B. H. Seghers. 1994b. Sexual conflict as a consequence of ecology: evidence from guppy, *Poecilia reticulata*, populations in Trinidad. *Proc. R. Soc. B - Biol. Sci.* **255**:31–36.
- Marsh-Matthews, E. 2011. Matrotrophy. Pp. 18–27 in J. P. Evans, A. Pilastro, and I. Schlupp, eds. *Ecology and Evolution of Poeciliid Fishes*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Martin, R. A., J. L. Heinen-kay, and R. B. Langerhans. 2013. Post-pleistocene radiation of Bahamas mosquitofish (*Gambusia hubbsi*). *Evolution* **68**:397–411.
- Meredith, R. W., M. N. Pires, D. N. Reznick, and M. S. Springer. 2011. Molecular phylogenetic relationships and the coevolution of placentotrophy and superfetation in *Poecilia* (Poeciliidae: Cyprinodontiformes). *Mol. Phylogenet. Evol.* **59**:148–157.
- Mossman, H. W. 1991. Comparative morphogenesis of the fetal membranes and accessory uterine structures. *Placenta* **12**:1–5.
- Olivera-Tlahuel, C., N. A. Moreno-Mendoza, M. Villagrán-Santa Cruz, and J. J. Zúñiga-Vega. 2019. Placental structures and their association with matrotrophy and superfetation in poeciliid fishes. *Acta Zool.* **100**:167–181.
- Olivera-Tlahuel, C., M. Villagrán-Santa Cruz, N. A. Moreno-Mendoza, and J. J. Zúñiga-Vega. 2017. Morphological structures for potential sperm storage in poeciliid fishes. Does superfetation matter? *J. Morphol.* **278**:907–918.
- Parker, G. A. 1979. Sexual Selection and Sexual Conflict. Pp. 123–166 in M. S. Blum and Nancy A. Blum, eds. *Sexual Selection and Reproductive Competition in Insects*. Academic Press, Inc.
- Parker, G. A. 1970. Sperm competition and its evolutionary effect on copula duration in the fly *Scatophaga stercoraria*. *J. Insect Physiol.* **16**:1301–1328.

- Parker, G. A., and T. R. Birkhead. 2013. Polyandry: the history of a revolution. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **368**. 20120335.
- Parker, G. A., and T. H. Clutton-Brock. 1995. Sexual coercion in animal societies. *Anim. Behav.* **49**:1345–1365.
- Pilastro, A., S. Benetton, and A. Bisazza. 2003. Female aggregation and male competition reduce costs of sexual harassment in the mosquitofish *Gambusia holbrooki*. *Anim. Behav.* **65**:1161–1167.
- Pollux, B., R. Meredith, M. Springer, T. Garland, Reznick, D. 2014. The evolution of the placenta drives a shift in sexual selection in livebearing fish. *Nature* **513**:233–236.
- Pollux, B., M. Pires, A. Banet, Reznick, D. 2009. Evolution of placentas in the fish family Poeciliidae: An empirical study of macroevolution. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **40**:271–289.
- Reynolds, J. D., M. R. Gross, and M. J. Coombs. 1993. Environmental conditions and male morphology determine alternative mating behaviour in Trinidadian guppies. *Anim. Behav.* **45**:145–152.
- Reznick, D., and D. Miles. 1989. A review of life history patterns in Poeciliid fishes. Pp. 125–148 in G. Meffe and F. F. Snelson, eds. *Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae)*. Englewood Cliffs, NJ Prentice Hall.
- Reznick, D. N., A. I. Furness, R. W. Meredith, Springer, M. S. 2017. The origin and biogeographic diversification of fishes in the family Poeciliidae. *PLoS One* **12**:e0172546.
- Reznick, D. N., J. Travis, B. J. A. Pollux, Furness, A. I. 2021. Reproductive mode and conflict shape the evolution of male attributes and rate of speciation in the fish family Poeciliidae. *Front. Ecol. Evol.* **9**:1–20.
- Rosen, D. E., and R. M. Bailey. 1963. The Poeciliid Fishes (Cyprinodontiformes), their structure, zoogeography, and systematics. *Bull. Am. Museum Nat. Hist.* **126**:1–179.
- Rosen, D. E., and A. Tucker. 1961. Evolution of Secondary Sexual Characters and Sexual Behavior Patterns in a Family of Viviparous Fishes (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Copeia* **1961**:201–212.
- Rosen, E., and M. Gordon. 1953. Functional anatomy and evolution of male genitalia in Poeciliid fishes. *Zoologica* **38**:1–47.

- Rowe, L., G. Arnqvist, A. Sih, Krupa J. J. 1994. Sexual conflict and the evolutionary ecology of mating patterns: water striders as a model system. *Trends Ecol. Evol.* **9**:289–293.
- Simmons, L. W., and F. Garcia-Gonzalez. 2011. Experimental coevolution of male and female genital morphology. *Nat. Commun.* **2**:374–376. Nature Publishing Group.
- Thibault, R. E., and R. J. Schultz. 1978. Reproductive adaptations among viviparous fishes (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Evolution* **32**:320–333.
- Trivers, R. L. 1972. Parental investment and sexual selection. Pp. 52–95 in B. Campbell, ed. *Sexual Selection and the Descent of Man*. Chicago: Aldine.
- Turner, C. L. 1940. Pseudoamnion, pseudochorion, and follicular pseudoplacenta in poeciliid fishes. *J. Morphol.* **67**:59– 89.
- Uribe, M. C., and H. J. Grier. 2011. Oogenesis of microlecithal oocytes in the viviparous teleost *Heterandria formosa*. *J. Morphol.* **272**:241–257.
- Wang, S., M. Cummings, and M. Kirkpatrick. 2015. Coevolution of male courtship and sexual conflict characters in mosquitofish. *Behav. Ecol.* **26**:1013–1020.
- Zúñiga-Vega, J. J., C. Macías-García, and J. B. Johnson. 2010. Hypotheses to explain the evolution of superfetation in viviparous fishes. Pp. 13–30 in M. C. Uribe and H. J. Grier, eds. *Viviparous fishes II*. New Life Publications, Homestead, Florida.
- Zúñiga-Vega, J. J., C. Olivera-Tlahuel, and A. Molina-Moctezuma. 2017. Superfetation increases total fecundity in a viviparous fish regardless of the ecological context. *Acta Oecologica* **84**:48–56.
- Zúñiga-Vega, J., D. N. Reznick, Johnson, J. B. 2007. Habitat predicts reproductive superfetation and body shape in the livebearing fish *Poeciliopsis turrubarensis*. *Oikos* **116**:995–1005.

CAPÍTULO 2

El aumento de la superfetación precede a la evolución de grados avanzados de placentotrofía en peces vivíparos de la familia Poeciliidae

Karla N. García-Cabello, Jesualdo A. Fuentes-González, Nabila Saleh-Subaie,
Jason Pienaar y J. Jaime Zúñiga-Vega

Publicado en: *Biology Letters*, *Biol. Vol. 18* (2022)

Resumen

Las causas y consecuencias de la evolución de la placentotrofia (nutrición posterior a la fecundación de embriones en desarrollo de organismos vivíparos por medio de una placenta materna) en vertebrados no mamíferos aún no se conocen por completo. En particular, en la familia de peces Poeciliidae existe un vínculo evolutivo entre la placentotrofia y la superfetación (capacidad de las hembras para tener embriones simultáneamente en distintas etapas de desarrollo), sin evidencia concluyente sobre cuál de estos dos rasgos facilita la evolución de grados más avanzados del otro. Usando un método comparativo filogenético robusto basado en modelos de evolución adaptativa de Ornstein-Uhlenbeck y datos de 36 especies de poecílidos, detectamos un patrón de causalidad claro. La evolución de la placentotrofia extensa ha sido facilitada por la evolución precedente de crías más simultáneas. Por lo tanto, las placentas se volvieron cada vez más complejas como respuesta adaptativa a los aumentos evolutivos en el grado de superfetación. Este hallazgo representa una contribución sustancial a nuestro conocimiento de los factores que han dado forma a la evolución placentaria en los peces poecílidos.

1. Introducción

Las placentas de no mamíferos han recibido una atención considerable durante las últimas dos décadas porque su diversidad natural y múltiples orígenes independientes han generado preguntas sobre los factores que dan forma a la evolución de estas asombrosas estructuras reproductivas (Blackburn 2015). Una placenta es un órgano formado a través de la aposición íntima de tejidos fetales y

maternos para el intercambio fisiológico (Mossman 1937). En algunos grupos de peces y reptiles vivíparos, la estructura anatómica de sus placentas varía sustancialmente entre especies estrechamente relacionadas (Blackburn y Flemming 2009; Kwan et al. 2015). Los estudios que comparan algunas de estas especies han demostrado que la cantidad de nutrientes que las hembras transfieren activamente a sus embriones en desarrollo después de la fertilización por medio de sus placentas (conocida como placentotrofia (Blackburn 2015)) se correlaciona positivamente con el grado de complejidad de sus tejidos placentarios (Thompson et al. 2000; Kwan et al. 2015; Olivera-Tlahuel et al. 2019). Por lo tanto, los grados avanzados de placentotrofia son posibles por medio de células placentarias engrosadas con numerosas vesículas agrandadas, abundantes microvellosidades y ricamente provistos de capilares (en particular de la porción materna de la placenta; (Kwan et al. 2015; Olivera-Tlahuel et al. 2019)). Por el contrario, la lecitotrofia es un patrón de desarrollo en el que el vitelo del óvulo (provisto por la hembra antes de la fertilización) representa la principal fuente de nutrición embrionaria (Marsh-Matthews 2011; Blackburn 2015). En varias especies vivíparas, la lecitotrofia se asocia con placentas más simples que proporcionan principalmente la función básica de intercambio de gases (Blackburn 2015; Kwan et al. 2015; Olivera-Tlahuel et al. 2019). La amplia variación interespecífica que ocurre en algunos vertebrados vivíparos no mamíferos tanto en la complejidad de la placenta como en las cantidades relativas de fuentes de nutrientes previas a la fertilización (lecitotrofia) y posteriores a la fertilización (placentotrofia) para los embriones en desarrollo ha planteado interrogantes sobre las causas y consecuencias de la evolución repetida de placentas complejas y placentotrofia

extensa (Pollux et al. 2009; Fleuren et al. 2018; Buddle et al. 2019; Furness et al. 2021).

Superfetación, la capacidad de las hembras para simultáneamente gestar dos o más grupos de embriones en diferentes etapas de desarrollo (Zúñiga-Vega et al. 2010), es otra estrategia reproductiva que ocurre en algunas familias de peces (Clinidae, Poeciliidae y Zenarchopteridae (Gunn y Thresher 1991; Reznick et al. 2007) y que tiene un vínculo evolutivo con la placentotrofia (Pollux et al. 2014; Furness et al. 2021). En los peces vivíparos de la familia Poeciliidae, ambos modos reproductivos están asociados de tal manera que muchas especies que exhiben superfetación también son placentótrofas (aunque existen algunas excepciones, con algunas especies que exhiben un rasgo pero no el otro; e.g. (Pires y Reznick 2018)). Además, los grados avanzados de superfetación (es decir, más crías simultáneas) tienden a ocurrir en especies con extensa placentotrofia (Pires et al. 2010; Furness et al. 2021). Los análisis comparativos filogenéticos previos han demostrado esta asociación evolutiva (Pollux et al. 2014; Furness et al. 2019, 2021), pero no han abordado si la evolución de placentas cada vez más complejas y el aumento concomitante de la placentotrofia ha precedido a la capacidad de tener un mayor número de crías simultáneas o, alternativamente, si la evolución de grados avanzados de superfetación ha provocado aumentos evolutivos en la complejidad placentaria. Aquí, proponemos y probamos la hipótesis de que se requieren placentas relativamente más complejas para regular diferencialmente la cantidad de recursos que se transfieren activamente a los embriones en distintas etapas de desarrollo y, por lo tanto,

primero debe surgir un mayor nivel de placentotrofía para facilitar la evolución de más crías simultáneas. Nuestro razonamiento detrás de esta hipótesis es que los requisitos nutricionales específicos, así como la velocidad a la que los nutrientes deben transferirse de la madre a los embriones, presumiblemente difieren entre los embriones en etapa temprana y tardía (Shimizu et al. 1991; Macfarlane y Bowers 1995). Es probable que se necesiten tejidos placentarios elaborados (ricamente vascularizados con abundantes vesículas y microvellosidades) para que este aprovisionamiento y regulación diferenciales funcionen correctamente (Thompson et al. 2000; Kwan et al. 2015; Olivera-Tlahuel et al. 2019). Además, en los peces poecílicos, más crías simultáneas resultan en fecundidades totales más altas (Zúñiga-Vega et al. 2017), lo que impone una mayor demanda de nutrientes y oxígeno a las madres (Boehlert et al. 1991). El aumento de la placentotrofía por medio de placentas complejas debería permitir que las hembras proporcionen mayores cantidades de nutrientes y oxígeno, satisfaciendo así los requisitos de todos los embriones en todas las etapas de desarrollo. Por lo tanto, la evolución precedente de placentotrofía avanzada debe haber sido necesaria para facilitar la evolución posterior de superfetación. Para abordar esta hipótesis, nos enfocamos en los peces vivíparos de la familia Poeciliidae porque los grados de placentotrofía y superfetación varían sustancialmente entre especies, con amplia evidencia de evolución dependiente entre estos dos modos reproductivos (Pollux et al. 2009, 2014; Furness et al. 2019, 2021). Hasta la fecha, sin embargo, todavía no sabemos si primero deben surgir

grados mayores de uno de estos dos rasgos para facilitar la evolución de grados avanzados del otro.

2. Material y métodos

A partir de la literatura, compilamos un conjunto de datos de 36 especies de poecílicos. Nos enfocamos en valores específicos de especies específicas de especies de dos variables: grado de superfetación, cuantificado como el número promedio de crías simultáneas, y el índice de matrotrofia (MI). Este último se calcula dividiendo la masa seca de la descendencia al nacer por la masa seca del óvulo recientemente fertilizado y, por lo tanto, proporciona una estimación de la cantidad de nutrientes que las hembras transfieren a sus embriones en desarrollo después de la fertilización (Reznick et al. 2002). El MI es una forma tradicional de cuantificar el grado de placentotrofia (Marsh-Matthews 2011). En lugar de clasificar cualitativamente a las especies como placentotróficas o lecitotróficas y como superfetadoras o no superfetadoras, como se hace típicamente en los análisis de estos rasgos (Pollux et al. 2014; Furness et al. 2019, 2021), analizamos aquí la amplia variación continua en ambos rasgos observada entre especies. En nuestro conjunto de datos, el grado de superfetación varía entre 1.03 y 7 crías simultáneas en promedio. A su vez, el MI varía entre 0.5 (que indica lecitotrofia estricta) y 117 (que indica placentotrofia extensa) (material complementario electrónico, Tabla S1). Transformamos logarítmicamente ambas variables antes del análisis.

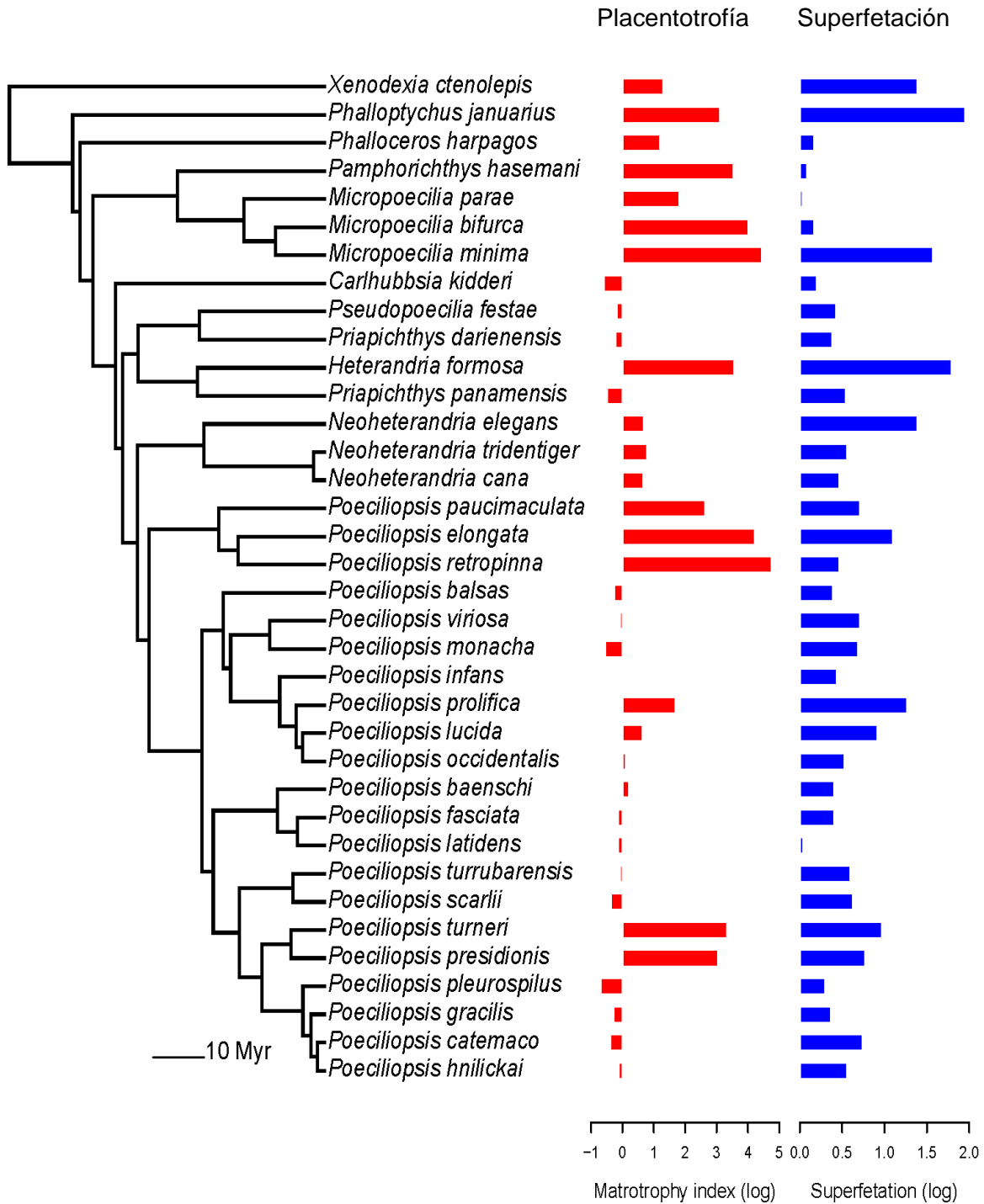


Figura 1. Filogenia calibrada en el tiempo de 36 especies de peces de la familia Poeciliidae, modificada de (Reznick et al. 2017). Las barras representan los valores medios de placentotrofia (cuantificada por el índice de matrotrofia) y superfetación para cada especie.

Utilizamos un poderoso método comparativo filogenético (Bartoszek et al. 2012) que es una extensión multivariada del modelo de adaptación-inercia de Hansen et al. (2008) y se basa en los modelos de evolución adaptativa de Ornstein-Uhlenbeck (OU). Este método, implementado en el paquete R mvSLOUCH (Bartoszek et al. 2012; R Core Team 2020), nos permitió probar la coadaptación entre placentotrofia y superfetación, así como examinar si uno de estos dos rasgos evolucionó en respuesta al otro. Usamos una filogenia molecular fechada de la familia Poeciliidae (Reznick et al. 2017), que podemos para incluir solo nuestras 36 especies ([Figura 1](#)) porque la cuantificación del grado de ambos rasgos está actualmente disponible solo para estas 36 especies. Se pueden encontrar detalles adicionales sobre la filogenia en el material complementario electrónico, apéndice S1a asociado al artículo publicado. Ajustamos tres tipos de modelos que difieren en sus supuestos sobre la coevolución de los rasgos: primero, un modelo de movimiento browniano (BM) multivariado que no asume una selección estabilizadora (es decir, no hay evolución hacia un estado óptimo) y, por lo tanto, tanto la placentotrofia como la superfetación se acumulan. variación en el tiempo alrededor del valor de la raíz, de tal manera que la coevolución entre los dos rasgos se debe a oscilaciones aleatorias correlacionadas; en segundo lugar, un modelo conjunto de movimiento Ornstein-Uhlenbeck-Brownian (OUBM) en el que uno de los dos rasgos se modela como una evolución OU proceso alternativo, adaptándose a un óptimo que está influenciado por el otro rasgo, que a su vez se modela siguiendo aleatoriamente un proceso BM; tercero, un modelo Ornstein-Uhlenbeck-Ornstein-Uhlenbeck (OUOU) en el que ambos rasgos experimentan una evolución adaptativa hacia valores óptimos y que nos permite

identificar si el óptimo de uno de los dos rasgos es tirado por los cambios adaptativos que ocurren en el otro rasgo. Consideramos el error de (variación intraespecífica calculada según (Ives et al. 2007; Labra et al. 2009; Grabowski et al. 2016)) tanto en la placentotrofía como en la superfetación durante la implementación del modelo (material complementario electrónico asociado al artículo publicado, apéndice S1b).

Los parámetros de estos modelos se estiman mediante rutinas de máxima verosimilitud, y su interpretación (que resumimos a continuación) proporciona información convincente sobre la posible coadaptación entre placentotrofía y superfetación y, lo que es más importante, sobre cuál de los dos rasgos ha influido en la óptimo primario del otro (tal como lo presenta (Bartoszek et al. 2012)). Nos enfocamos en la matriz A (deriva) que incluye las tasas de adaptación hacia los óptimos específicos de rasgos (valores diagonales) y la coadaptación entre rasgos (valores fuera de la diagonal), así como en la matriz Σ_{yy} (difusión) que incluye el azar (no adaptativo) varianzas específicas de rasgos (valores diagonales) y covarianzas entre rasgos (valores fuera de la diagonal). Bajo esta configuración, una matriz A con un valor distinto de cero por encima de la diagonal (matriz triangular superior) indica que la superfetación ha afectado el óptimo de la placentotrofía. Por el contrario, una matriz A con un valor distinto de cero por debajo de la diagonal (matriz triangular inferior) indica que la placentotrofía ha afectado al óptimo de superfetación. Una matriz A diagonal (valores distintos de cero exclusivamente en la diagonal) indica que no hay coadaptación entre los

rasgos. Observe que la parametrización particular de la matriz que proporciona el mejor ajuste a los datos permite identificar cuál de los dos rasgos ha provocado cambios evolutivos en el otro. En el caso de Σ_{yy} , una matriz diagonal indica que no hay covariación entre los componentes aleatorios (no adaptativos) de los dos rasgos, mientras que una matriz Σ_{yy} con valores fuera de la diagonal distinta de cero (matriz no diagonal) indica una no-correlación adaptativa entre las perturbaciones aleatorias de ambos rasgos (Bartoszek et al. 2012). Los detalles matemáticos adicionales de la adaptación multivariante: los modelos de inercia se pueden encontrar en el material complementario electrónico del artículo publicado, apéndice S1c.

Usando mvSLOUCH, ajustamos un modelo BM y OUBM y modelos OUOU con las seis combinaciones posibles de matrices A (triangular superior, triangular inferior y diagonal) y Σ_{yy} (diagonal y no diagonal). Cada combinación se implementó para los modelos OUBM y OUOU, lo que generó 12 modelos, más un modelo BM para un total de 13 modelos competidores. Para examinar la convergencia del modelo y la consistencia en las estimaciones de los parámetros, cada combinación de matrices A y Σ_{yy} para los modelos OUBM y OUOU se ejecutó desde cinco puntos de partida diferentes. Evaluamos el ajuste del modelo mediante el criterio de información de Akaike ajustado al tamaño de la muestra (AICc; (Burnham y Anderson 2002). Además, mvSLOUCH nos permitió calcular una regresión evolutiva, que proporciona una estimación del efecto de uno de los dos rasgos sobre el otro, explicando las relaciones filogenéticas entre especies. Estimamos esta regresión a partir del modelo evolutivo que proporcionó el mejor

ajuste a los datos. Se calculó un intervalo de confianza del 95% para la pendiente de esta regresión evolutiva mediante un procedimiento de arranque paramétrico (material complementario electrónico del artículo publicado, apéndice S1d). El código R para implementar los análisis mvSLOUCH está disponible en el material complementario electrónico.

Finalmente, probamos la solidez de los resultados al examinar la influencia potencial en nuestros hallazgos de considerar (1) especies no superfetadoras con placentotrofia moderada y extensa (material complementario electrónico del artículo publicado, Tabla S2 y Figura S1), y (2) especies exclusivamente en cuya superfetación evolucionó antes que la placentotrofia (según [18]). Ajustamos los 13 modelos de la competencia a estos dos conjuntos adicionales de especies y comparamos los resultados con los obtenidos de nuestro análisis original con 36 especies (material complementario electrónico del artículo publicado, apéndice S1e).

3. Resultados

Encontramos evidencia de coadaptación entre placentotrofia y superfetación, con un claro patrón de causalidad. El modelo con mayor respaldo en los datos fue un modelo OUOU que incluía una matriz A triangular superior y una matriz Σ_{yy} diagonal ([Tabla 1](#)). Los cinco puntos de partida diferentes para esta combinación particular de matrices A y Σ_{yy} tenían puntajes AICc casi idénticos. Así, independientemente de las condiciones iniciales, este modelo OUOU convergió a la misma solución (material complementario electrónico, Tabla S3). Una matriz A triangular superior indica que el óptimo primario de placentotrofia se ha visto

afectado por el grado de superfetación. La pendiente estimada de la regresión evolutiva fue positiva (1,71, IC del 95 % = 0,00003–2,77) y, por lo tanto, los aumentos evolutivos en la superfetación llevaron a aumentos en la cantidad de placentotrofía ([Figura 2](#)). Una matriz diagonal Σ_{yy} indica que las perturbaciones aleatorias de placentotrofía y superfetación no están correlacionadas. Por lo tanto, la dependencia evolutiva entre estos dos rasgos ha surgido exclusivamente de su coadaptación. Las tasas de adaptación (valores diagonales en la matriz A) indican que la superfetación se adapta más rápido a su óptimo en comparación con la placentotrofía ([Tabla 2](#)). La tasa de coadaptación entre rasgos (valor por encima de la diagonal en la matriz A) fue negativa ([Tabla 2](#)), lo que sugiere que a medida que la superfetación se acerca a su punto óptimo, aleja a la placentotrofía de su propio punto óptimo primario. Esta influencia de la superfetación, que se opone a una tendencia centralizadora hacia un valor de MI óptimo, explica en parte la tasa de adaptación más lenta que observamos en la placentotrofía.

Tabla 1. Resultados de selección de modelos para las pruebas de la asociación evolutiva entre placentotrofia y superfetación. El modelo con mayor apoyo se destaca en negrita.

Modelo	AICc	ΔAICc	Tipo de matriz de deriva (A)	Tipo de matriz de difusión (Σ_{yy})
OUOU	163.91	0	Upper triangular	Diagonal
OUOU	167.80	3.89	Diagonal	Non-diagonal
OUOU	168.12	4.21	Upper triangular	Non-diagonal
OUOU	170.25	6.34	Lower triangular	Non-diagonal
BM	171.03	7.12	--	--
OUOU	177.79	13.88	Lower triangular	Diagonal
OUBM	178.28	14.37	Upper triangular	Non-diagonal
OUBM	178.37	14.46	Lower triangular	Non-diagonal
OUBM	178.37	14.46	Lower triangular	Diagonal
OUBM	178.38	14.47	Upper triangular	Diagonal
OUBM	178.38	14.47	Diagonal	Non-diagonal
OUBM	178.39	14.48	Diagonal	Diagonal
OUOU	179.17	15.26	Diagonal	Diagonal

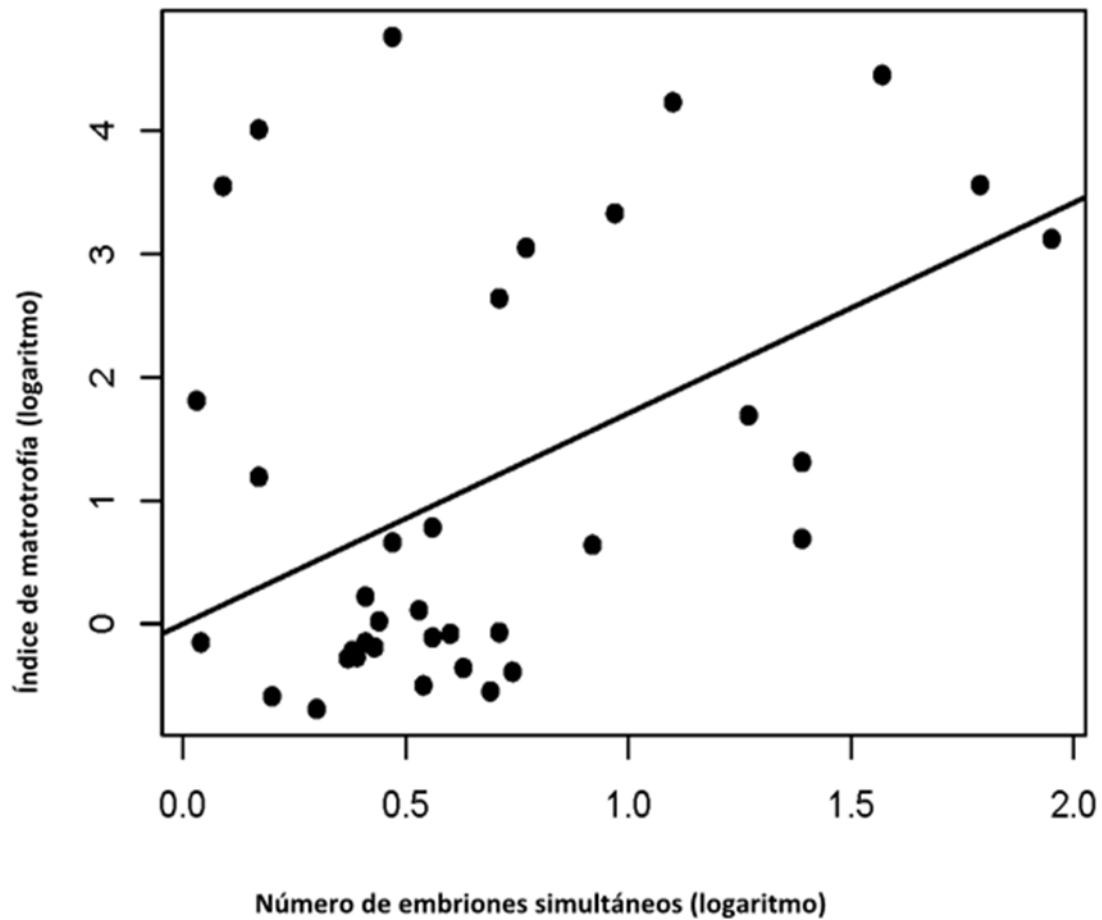


Figura 2 Efecto estadístico del grado de superfecundación (número de crías simultáneas) sobre la cantidad de placentotrofia (cuantificada por el índice de matrotrofia). La línea representa la regresión evolutiva estimada a partir del mejor modelo de la [Tabla 1](#).

Nuestros resultados fueron robustos a diferentes conjuntos de especies. Los dos análisis adicionales que consideraron especies no superfetadoras con placentotrofia moderada y extensa y exclusivamente especies en las que la superfecundación evolucionó antes que la placentotrofia arrojaron resultados cualitativamente idénticos a los obtenidos de nuestro análisis principal de 36 especies (material complementario electrónico del artículo publicado, apéndice S2, Tabla S4, Figuras S2 y S3).

4. Discusión

La mayoría de los estudios previos sobre placentotrofia y superfecundación de peces vivíparos de la familia Poeciliidae han examinado si la presencia de una de estas dos características está asociada con la presencia de la otra (es decir, tratando ambas características como categóricas: presencia o ausencia) y han proporcionado evidencia sólida de su evolución dependiente (Pollux et al. 2009, 2014; Meredith et al. 2011; Furness et al. 2019, 2021). En particular, Furness y colaboradores (2021) abordaron esta pregunta bajo un marco bayesiano utilizando un gran conjunto de datos (136 especies) y concluyeron que es probable que ambos rasgos aparezcan juntos. Sin embargo, su análisis, que trató ambos rasgos como dicotómicos, indicó que cualquiera de estos dos rasgos podría facilitar la evolución del otro, sin evidencia clara de cuál era más probable que surgiera primero. Aquí, hemos ido un paso más allá utilizando la amplia variación continua observada entre especies en ambos rasgos para probar la hipótesis de que la evolución de la placentotrofia extensa (y por lo tanto de las placentas complejas (Kwan et al. 2015; Olivera-Tlahuel et al. 2019) es necesaria para facilitar la

evolución de un mayor número de crías simultáneas. Curiosamente, encontramos el patrón opuesto: la evolución del mayor número de crías simultáneas ha precedido a la evolución de mayor nivel de placentotrofia y el óptimo de este último rasgo se ha visto afectado por cambios evolutivos en el grado de superfetación. Una implicación clave de este patrón de causalidad es que la complejidad placentaria ha surgido como una consecuencia indirecta de las fuerzas evolutivas que han promovido la aparición de muchas crías desarrollándose simultáneamente, lo que presumiblemente contribuye a optimizar la nutrición y regulación de los embriones en diferentes etapas de desarrollo. Curiosamente, se sabe muy poco sobre los mecanismos fisiológicos que subyacen a la superfetación y al aprovisionamiento particionado.

Furness y colaboradores (2021) también analizaron la variación continua en ambos rasgos, incluyendo especies con y sin superfetación, y encontraron una relación positiva significativa. Sin embargo, a diferencia de nuestros modelos multivariados de adaptación-inercia (Bartoszek et al. 2012), el análisis filogenético de mínimos cuadrados generalizados que realizaron no fue diseñado para probar explícitamente la coadaptación ni para examinar cuál de los dos rasgos precedió a la evolución del otro (Martins y Hansen 1997).

Tabla 2. Matrices de deriva (A) y de difusión (Σ_{yy}) estimadas del modelo mejor estimado de la Tabla 1A.

	Matriz A		Matriz Σ_{yy}	
	Placentotrofia	Superfetación	Placentotrofia	Superfetación
Placentotrofia	2.439	-21.479	0.678	0
Superfetación	0	10.135	0	2.131

Nuestros resultados son consistentes con la evidencia anterior entre especies de que varias variables ambientales no tienen efectos sobre el grado de placentotrofia. Según análisis comparativos filogenéticos recientes dentro de la familia Poeciliidae, ni la altitud, el rango geográfico, la temperatura ambiental, la precipitación, la estacionalidad, la velocidad del agua ni el riesgo de depredación parecen tener relaciones evolutivas con la placentotrofia (Furness et al. 2021). Esto indica que, a escala macroevolutiva, ninguna fuerza selectiva asociada con factores ecológicos particulares ha tenido efectos claros sobre la amplia variación que existe entre especies en el grado de provisión materna posterior a la fecundación. Más bien, según nuestra evidencia, la evolución de la placentotrofia avanzada y de placentas cada vez más complejas ha sido facilitada por la evolución precedente de más crías simultáneas. Un puñado de estudios realizados a escala intraespecífica (microevolutiva) en diferentes especies de poecílicos han demostrado que los grados más altos de superfetación probablemente evolucionaron como respuesta a la velocidad rápida del

agua o al aumento del riesgo de depredación (porque la superfetación reduce la distensión abdominal de las hembras preñadas, lo que les permite para exhibir cuerpos hidrodinámicos y un rendimiento de natación eficiente), lo que sugiere que la selección natural ha tenido fuertes efectos en este rasgo reproductivo (Zúñiga-Vega et al. 2007, 2010; Pollux et al. 2009; Gorini-Pacheco et al. 2018; Fleuren et al. 2019). De hecho, esto es consistente con la tasa más rápida de adaptación a su óptimo primario que detectamos en la superfetación en comparación con la placentotrofía. Tomadas en conjunto, estas líneas de evidencia, tanto desde la perspectiva macroevolutiva como microevolutiva, sugieren que la evolución de la superfetación avanzada ha ocurrido predominantemente por medio de la adaptación a las condiciones ambientales, mientras que la evolución de la placentotrofía extensa ha sido causada, al menos parcialmente, por un requerimiento funcional interno de placentas más complejas a medida que aumenta el grado de superfetación.

Nuestro estudio arroja luz sobre uno de los principales procesos subyacentes a la evolución de placentas complejas y placentotrofía extensa en peces poecílidos. Sin embargo, no afirmamos que deban descartarse otros posibles factores causales. Por ejemplo, algunas especies de poeciliid exhiben placentotrofía moderada y extensa sin superfetación (e.g. la mayoría de las especies de *Phalloceros* y *Pamphorichthys*; (Zandonà et al. 2021)). En estos taxones, la evolución de la placentotrofía avanzada difícilmente se explica por la evolución precedente de grados avanzados de superfetación, porque todos ellos carecen de superfetación. Aquí es donde otros mecanismos selectivos debieron

ser los principales motores de la placentación. En particular, las placentas elaboradas brindan a las hembras un mayor control sobre la cantidad y el nutrientes que se asignan a cada embrión, lo cual es fundamental en el contexto del conflicto intergenómico (padres-hijos) (Pollux et al. 2014; Furness et al. 2019; Reznick et al. 2021). Esta es la idea central detrás de la hipótesis del conflicto impulsado por la viviparidad, que también intenta explicar la evolución de la placentotrofia (Zeh y Zeh 2000; Crespi y Semeniuk 2004). Tanto las interacciones intergenómicas como la atracción selectiva que la superfetación ejerce sobre la placentotrofia deben considerarse conjuntamente en futuras exploraciones de las posibles causas de la evolución placentaria en los peces poecílidos.

Referencias

- Bartoszek K, Pienaar J, Mostad P, Andersson S, Hansen TF. 2012 A phylogenetic comparative method for studying multivariate adaptation. *J. Theor. Biol.* **314**, 204–215. (doi:10.1016/j.jtbi.2012.08.005)
- Blackburn DG, Flemming AF. 2009 Morphology, development, and evolution of fetal membranes and placentation in squamate reptiles. *J. Exp. Zool. Part B Mol. Dev. Evol.* **312**, 579–589. (doi:10.1002/jez.b.21234)
- Blackburn DG. 2015 Evolution of vertebrate viviparity and specializations for fetal nutrition: a quantitative and qualitative analysis. *J. Morphol.* **276**, 961–990. (doi:10.1002/jmor.20272)
- Boehlert GW, Kusakari M, Yamada J. 1991 Oxygen consumption of gestating female *Sebastes schlegeli*: estimating the reproductive costs of livebearing. *Environ. Biol. Fishes* **30**, 81–89. (doi:10.1007/BF02296879)
- Buddle AL, Van Dyke JU, Thompson MB, Simpfendorfer CA, Whittington CM. 2019 Evolution of placentotrophy: using viviparous sharks as a model to understand vertebrate placental evolution. *Mar. Freshw. Res.* **70**, 908–924. (doi:10.1071/MF18076)
- Burnham KP, Anderson DR. 2002 *Model Selection and Multimodel Inference. A Practical Information-Theoretic Approach*. Second ed. New York, NY: Springer.
- Crespi B, Semeniuk C. 2004 Parent-offspring conflict in the evolution of vertebrate reproductive mode. *Am. Nat.* **163**, 635–653. (doi:10.1086/382734)
- Fleuren M, Quicazan-Rubio EM, van Leeuwen JL, Pollux BJA. 2018 Why do placentas evolve? Evidence for a morphological advantage during pregnancy in live-bearing fish. *PLoS One* **13**, e0195976. (doi:10.1371/journal.pone.0195976)
- Fleuren M, van Leeuwen JL, Pollux BJA. 2019 Superfetation reduces the negative effects of pregnancy on the fast-start escape performance in live-bearing fish. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **286**, 20192245. (doi:10.1098/rspb.2019.2245)
- Furness AI, Avise JC, Pollux BJA, Reynoso Y, Reznick DN. 2021 The evolution of the placenta in poeciliid fishes. *Curr. Biol.* **31**, 2004–2011. (doi:10.1016/j.cub.2021.02.008)
- Furness AI, Pollux BJA, Meredith RW, Springer MS, Reznick DN. 2019 How conflict shapes evolution in poeciliid fishes. *Nat. Commun.* **10**, 3335. (doi:10.1038/s41467-019-11307-5)

- Gorini-Pacheco B, Zandonà E, Mazzoni R. 2018 Predation effects on matrotrophy, superfetation and other life history traits in *Phalloceros harpagos*. *Ecol. Freshw. Fish* **27**, 442–452. (doi:10.1111/eff.12359)
- Grabowski M, Voje KL, Hansen TF. 2016 Evolutionary modeling and correcting for observation error support a 3/5 brain-body allometry for primates. *J. Hum. Evol.* **94**, 106–116. (doi:10.1016/j.jhevol.2016.03.001)
- Gunn JS, Thresher RE. 1991 Viviparity and the reproductive ecology of clinid fishes (Clinidae) from temperate Australian waters. *Environ. Biol. Fishes* **31**, 323–344. (doi:10.1007/BF00002357)
- Hansen TF, Pienaar J, Orzack SH. 2008 A comparative method for studying adaptation to a randomly evolving environment. *Evolution* **62**, 1965–1977. (doi:10.1111/j.1558-5646.2008.00412.x)
- Ives AR, Midford PE, Garland Jr. T. 2007 Within-species variation and measurement error in phylogenetic comparative methods. *Syst. Biol.* **56**, 252–270. (doi:10.1080/10635150701313830)
- Kwan L, Fris M, Rodd FH, Rowe L, Tuhela L, Panhuis TM. 2015 An examination of the variation in maternal placentae across the genus *Poeciliopsis* (Poeciliidae). *J. Morphol.* **276**, 707–720. (doi:10.1002/jmor.20381)
- Labra A, Pienaar J, Hansen TF. 2009 Evolution of thermal physiology in *Liolaemus* lizards: adaptation, phylogenetic inertia, and niche tracking. *Am. Nat.* **174**, 204–220. (doi:10.1086/600088)
- MacFarlane RB, Bowers MJ. 1995 Matrotrophic viviparity in the yellowtail rockfish *Sebastes flavidus*. *J. Exp. Biol.* **198**, 1197–1206. (doi:10.1242/jeb.198.5.1197)
- Marsh-Matthews E. 2011 Matrotrophy. In *Ecology and Evolution of Poeciliid Fishes* (eds JP Evans, A Pilastro, I Schlupp), pp. 18–27. Chicago: The University of Chicago Press.
- Martins EP, Hansen TF. 1997 Phylogenies and the comparative method: a general approach to incorporating phylogenetic information into the analysis of interspecific data. *Am. Nat.* **149**, 646–667. (doi:10.1086/286013)
- Meredith RW, Pires MN, Reznick DN, Springer MS. 2011 Molecular phylogenetic relationships and the coevolution of placentotrophy and superfetation in *Poecilia* (Poeciliidae: Cyprinodontiformes). *Mol. Phylogenet. Evol.* **59**, 148–157. (doi:10.1016/j.ympev.2011.01.014)

- Mossman HW. 1937 Comparative morphogenesis of the fetal membranes and accessory uterine structures. *Contrib. to Embryol. Carnegie Inst.* **26**, 129–246.
- Olivera-Tlahuel C, Moreno-Mendoza NA, Villagrán-Santa Cruz M, Zúñiga-Vega JJ. 2019 Placental structures and their association with matrotrophy and superfetation in poeciliid fishes. *Acta Zool.* **100**, 167–181. (doi:10.1111/azo.12244)
- Pires MN, Arendt J, Reznick DN. 2010 The evolution of placentas and superfetation in the fish genus *Poecilia* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae: subgenera *Micropoecilia* and *Acanthophaelus*). *Biol. J. Linn. Soc.* **99**, 784–796. (doi:10.1111/j.1095-8312.2010.01391.x)
- Pires MN, Reznick DN. 2018 Life-history evolution in the fish genus *Poecilia* (Poeciliidae: Cyprinodontiformes: subgenus *Pamphorichthys*): an evolutionary origin of extensive matrotrophy decoupled from superfetation. *Biol. J. Linn. Soc.* **125**, 547–560. (doi:10.1093/biolinnean/bly128)
- Pollux BJA, Meredith RW, Springer MS, Garland T, Reznick DN. 2014 The evolution of the placenta drives a shift in sexual selection in livebearing fish. *Nature* **513**, 233–236. (doi:10.1038/nature13451)
- Pollux BJA, Pires MN, Banet AI, Reznick DN. 2009 Evolution of placentas in the fish family Poeciliidae: an empirical study of macroevolution. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **40**, 271–289. (doi:10.1146/annurev.ecolsys.110308.120209)
- R Core Team. 2020 *R: a language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Reznick D, Meredith R, Collette BB. 2007 Independent evolution of complex life history adaptations in two families of fishes, live-bearing halfbeaks (Zenarchopteridae, Beloniformes) and Poeciliidae (Cyprinodontiformes). *Evolution* **61**, 2570–2583. (doi:10.1111/j.1558-5646.2007.00207.x)
- Reznick DN, Furness AI, Meredith RW, Springer MS. 2017 The origin and biogeographic diversification of fishes in the family Poeciliidae. *PLoS One* **12**, e0172546. (doi:10.1371/journal.pone.0172546)
- Reznick DN, Mateos M, Springer MS. 2002 Independent origins and rapid evolution of the placenta in the fish genus *Poeciliopsis*. *Science* **298**, 1018–1020. (doi:10.1126/science.1076018)

- Reznick DN, Travis J, Pollux BJA, Furness AI. 2021 Reproductive mode and conflict shape the evolution of male attributes and rate of speciation in the fish family Poeciliidae. *Front. Ecol. Evol.* **9**, 639751. (doi:10.3389/fevo.2021.639751)
- Shimizu M, Kusakari M, Yoklavich MM, Boehlert GW, Yamada J. 1991 Ultrastructure of the epidermis and digestive tract in *Sebastes* embryos, with special reference to the uptake of exogenous nutrients. *Environ. Biol. Fishes* **30**, 155–163. (doi:10.1007/BF02296886)
- Thompson MB, Stewart JR, Speake BK. 2000 Comparison of nutrient transport across the placenta of lizards differing in placental complexity. *Comp. Biochem. Physiol. Part A* **127**, 469–479. (doi:10.1016/S1095-6433(00)00277-4)
- Zandonà E, Kajin M, Buckup PA, Amaral JR, Souto-Santos ICA, Reznick DN. 2021 Mode of maternal provisioning in the fish genus *Phalloceros*: a variation on the theme of matrotrophy. *Biol. J. Linn. Soc.* **134**, 867–878. (doi:10.1093/biolinnean/blab121)
- Zeh DW, Zeh JA. 2000 Reproductive mode and speciation: the viviparity-driven conflict hypothesis. *BioEssays* **22**, 938–946. (doi:10.1002/1521-1878(200010)22:10<938::AID-BIES9>3.0.CO;2-9)
- Zúñiga-Vega JJ, Macías-García C, Johnson JB. 2010 Hypotheses to explain the evolution of superfetation in viviparous fishes. In *Viviparous Fishes II* (eds MC Uribe, HJ Grier), pp. 241–254. Homestead: New Life Publications.
- Zúñiga-Vega JJ, Olivera-Tlahuel C, Molina-Moctezuma A. 2017 Superfetation increases total fecundity in a viviparous fish regardless of the ecological context. *Acta Oecologica* **84**, 48–56. (doi:10.1016/j.actao.2017.08.002)
- Zúñiga-Vega JJ, Reznick DN, Johnson JB. 2007 Habitat predicts reproductive superfetation and body shape in the livebearing fish *Poeciliopsis turrubarensis*. *Oikos* **116**, 995–1005. (doi:10.1111/j.2007.0030-1299.15763.x)

Material suplementario y apéndices

Tabla S1. Valores promedio del índice de matrotrofia (MI) y grado de superfetación (SUP) para 36 especies de peces de la familia Poeciliidae. También mostramos ambos rasgos en escala logarítmica (LN_MI y LN_SUP, respectivamente) y el error de medición (variación intraespecífica) calculado para ambos rasgos (ME_MI y ME_SUP, respectivamente).

Especies	MI	LN_MI	ME_MI	SUP	LN_SUP	ME_SUP	Fuente
<i>Carlhubbsia kidderi</i>	0.56	-0.59	0.0028	1.22	0.20	0.0018	1,21
<i>Heterandria formosa</i>	35.00	3.56	0.0094	6.00	1.79	0.0018	2–4
<i>Micropoecilia bifurca</i>	55.06	4.01	0.0031	1.18	0.17	0.0019	5
<i>Micropoecilia minima</i>	85.46	4.45	0.0009	4.79	1.57	0.0006	1,5
<i>Micropoecilia parae</i>	6.08	1.81	0.0019	1.03	0.03	0.0015	1,5
<i>Neoheterandria cana</i>	1.93	0.66	0.0018	1.59	0.47	0.0011	6
<i>Neoheterandria elegans</i>	2.0	0.69	0.0112	4.00	1.39	0.0070	6
<i>Neoheterandria tridentiger</i>	2.2	0.78	0.0007	1.75	0.56	0.0005	6
<i>Pamphorichthys hasemani</i>	34.7	3.55	0.0020	1.09	0.09	0.0016	1,7
<i>Phalloceros harpagos</i>	3.27	1.19	0.0006	1.19	0.17	0.0004	8
<i>Phalloptychus januarius</i>	22.75	3.12	0.0019	7.00	1.95	0.0015	1,9
<i>Poeciliopsis baenschi</i>	1.24	0.22	0.0002	1.51	0.41	0.0001	1,10
<i>Poeciliopsis balsas</i>	0.77	-0.27	0.0022	1.48	0.39	0.0014	6
<i>Poeciliopsis catemaco</i>	0.68	-0.39	0.0056	2.10	0.74	0.0035	11
<i>Poeciliopsis elongata</i>	68.90	4.23	0.0017	3.00	1.10	0.0018	1,2
<i>Poeciliopsis fasciata</i>	0.86	-0.15	0.0022	1.51	0.41	0.0014	1,2,12,21
<i>Poeciliopsis gracilis</i>	0.75	-0.28	0.0001	1.45	0.37	0.0001	1,2,11,13
<i>Poeciliopsis hnlickai</i>	0.89	-0.11	0.0017	1.75	0.56	0.0011	11
<i>Poeciliopsis infans</i>	1.02	0.02	0.0002	1.55	0.44	0.0001	1,2,13,14
<i>Poeciliopsis latidens</i>	0.86	-0.15	0.0094	1.04	0.04	0.0019	1,12
<i>Poeciliopsis lucida</i>	1.89	0.64	0.0011	2.51	0.92	0.0001	1,15,16,
<i>Poeciliopsis monacha</i>	0.58	-0.55	0.0014	2.00	0.69	0.0002	1,15,16,17
<i>Poeciliopsis occidentalis</i>	1.12	0.11	0.0094	1.69	0.53	0.0012	1,2,12
<i>Poeciliopsis paucimaculata</i>	14.04	2.64	0.0019	2.03	0.71	0.0012	6
<i>Poeciliopsis pleurospilus</i>	0.50	-0.69	0.0080	1.35	0.30	0.0050	12
<i>Poeciliopsis presidionis</i>	21.12	3.05	0.0010	2.16	0.77	0.0008	1,11
<i>Poeciliopsis prolifica</i>	5.40	1.69	0.0094	3.57	1.27	0.0003	1,2,16,17,18
<i>Poeciliopsis retropinna</i>	117.00	4.76	0.0062	1.60	0.47	0.0039	1
<i>Poeciliopsis scarlii</i>	0.70	-0.36	0.0004	1.87	0.63	0.0003	1,11
<i>Poeciliopsis turneri</i>	27.93	3.33	0.0013	2.64	0.97	0.0010	1,11,16
<i>Poeciliopsis turrubarensis</i>	0.92	-0.08	0.0001	1.83	0.60	0.0001	2,12,11,19
<i>Poeciliopsis viriosa</i>	0.93	-0.07	0.0187	2.03	0.71	0.0013	1,2,12
<i>Priapichthys darienensis</i>	0.80	-0.22	0.0010	1.46	0.38	0.0006	6
<i>Priapichthys panamensis</i>	0.60	-0.50	0.0080	1.71	0.54	0.0050	6
<i>Pseudopoecilia festae</i>	0.83	-0.19	0.0043	1.53	0.43	0.0027	6
<i>Xenodexia ctenolepis</i>	3.72	1.31	0.0008	4.03	1.39	0.0005	1,20

Referencias Tabla S1

- 1 Pollux BJA, Meredith RW, Springer MS, Garland T, Reznick DN. 2014 The evolution of the placenta drives a shift in sexual selection in livebearing fish. *Nature* **513**, 233–236. (doi:10.1038/nature13451)
- 2 Haynes JL. 1995 Standardized classification of poeciliid development for life-history studies. *Copeia* **1995**, 147–154.
- 2 Furness AI, Pollux BJA, Meredith RW, Springer MS, Reznick DN. 2019 How conflict shapes evolution in poeciliid fishes. *Nat. Commun.* **10**, 3335. (doi:10.1038/s41467-019-11307-5)
- 3 Reznick D, Callahan H, Llauredo R. 1996 Maternal effects on offspring quality in poeciliid fishes. *Am. Zool.* **36**, 147–156. (doi:10.1093/icb/36.2.147)
- 5 Pires MN, Arendt J, Reznick DN. 2010 The evolution of placentas and superfetation in the fish genus *Poecilia* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae: Subgenera *Micropoecilia* and *Acanthophaelus*). *Biol. J. Linn. Soc.* **99**, 784–796. (doi:10.1111/j.1095-8312.2010.01391.x)
- 6 Furness AI, Avise JC, Pollux BJA, Reynoso Y, Reznick DN. 2021 The evolution of the placenta in poeciliid fishes. *Curr. Biol.* **31**, 2004–2011. (doi:10.1016/j.cub.2021.02.008)
- 7 Pires MN, Reznick DN. 2018 Life-history evolution in the fish genus *Poecilia* (Poeciliidae: Cyprinodontiformes: Subgenus *Pamphorichthys*): An evolutionary origin of extensive matrotrophy decoupled from superfetation. *Biol. J. Linn. Soc.* **125**, 547–560. (doi:10.1093/biolinnean/bly128)
- 8 Gorini-Pacheco B, Zandonà E, Mazzoni R. 2018 Predation effects on matrotrophy, superfetation and other life history traits in *Phalloceros harpagos*. *Ecol. Freshw. Fish* **27**, 442–452. (doi:10.1111/eff.12359)
- 9 Schrader M, Travis J. 2012 Variation in offspring size with birth order in placental fish: A role for asymmetric sibling competition? *Evolution* **66**, 272–279. (doi:10.1111/j.1558-5646.2011.01422.x)
- 10 Saleh-Subaie, N., Ramírez-Cruz, G.A. and Zúñiga-Vega, J.J. 2021. Examination of the Trexler-DeAngelis Model of maternal provisioning reveals that matrotrophy is costly. *Front. Ecol. Evol.* **9**, 690430. (10.3389/fevo.2021.690430)

- 11 Bassar RD, Auer SK, Reznick DN. 2014 Why do placentas evolve? A test of the life-history facilitation hypothesis in two clades in the genus *Poeciliopsis* representing two independent origins of placentas. *Funct. Ecol.* **28**, 999–1010. (doi:10.1111/1365-2435.12233)
- 12 Olivera-Tlahuel C, Ossip-Klein AG, Espinosa-Pérez HS, Zúñiga-Vega JJ. 2015 Have superfetation and matrotrophy facilitated the evolution of larger offspring in poeciliid fishes? *Biol. J. Linn. Soc.* **116**, 787–804. (doi:10.1111/bij.12662)
- 13 Molina-Moctezuma A, Hernández-Rosas AL, Zúñiga-Vega JJ. 2019 Resource availability and its effects on mother to embryo nutrient transfer in two viviparous fish species. *J. Exp. Zool. Part A Ecol. Integr. Physiol.* **333**, 181–193. (doi:10.1002/jez.2342)
- 14 Frías-Alvarez P, Macías Garcia C, Vázquez-Vega LF, Zúñiga-Vega JJ. 2014 Spatial and temporal variation in superfoetation and related life history traits of two viviparous fishes: *Poeciliopsis gracilis* and *P. infans*. *Naturwissenschaften* **101**, 1085–1098. (doi:10.1007/s00114-014-1247-2)
- 15 Turcotte MM, Pires MN, Vrijenhoek RC, Reznick DN. 2008 Pre- and post-fertilization maternal provisioning in livebearing fish species and their hybrids (Poeciliidae: Poeciliopsis). *Funct. Ecol.* **22**, 1118–1124. (doi:10.1111/j.1365-2435.2008.01461.x)
- 16 Thibault RE, Schultz RJ. 1978 Reproductive adaptations among viviparous fishes (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Evolution* **32**, 320–333.
- 17 Banet AI, Reznick DN. 2008 Do placental species abort offspring? Testing an assumption of the Trexler-DeAngelis model. *Funct. Ecol.* **22**, 323–331. (doi:10.1111/j.1365-2435.2007.01367.x)
- 18 Pires MN, McBride KE, Reznick DN. 2007 Interpopulation variation in life-history traits of *Poeciliopsis prolifica*: implications for the study of placental evolution. *J. Exp. Zool. Part A-Comparative Exp. Biol.* **307A**, 113–125.
- 19 Zúñiga-Vega JJ, Reznick DN, Johnson JB. 2007 Habitat predicts reproductive superfetation and body shape in the livebearing fish *Poeciliopsis turrubarensis*. *Oikos* **116**, 995–1005. (doi:10.1111/j.0030-1299.2007.15763.x)
- 20 Reznick D, Hrbek T, Caura S, De Greef J, Roff D. 2007 Life history of *Xenodexia ctenolepis*: implications for life history evolution in the family Poeciliidae. *Biol. J. Linn. Soc.* **92**, 77–85. (doi:10.1111/j.1095-8312.2007.00869.x)
- 21 Zúñiga-Vega, This study

Tabla S2. Lista de las especies no superfetadoras con placentotrofia extensa y moderada que usamos para probar la robustez de nuestros resultados. Mostramos los valores promedio del índice de matrotrofia (MI) para cada especie, junto con su transformación logarítmica correspondiente (LN_MI). Todas estas especies comparten valor de 1 para superfetación (SUP), indicando una sola camada.

Especies	MI	LN_MI	SUP	Fuente
<i>Micropoecilia sarrafae</i>	43.70	3.78	1	1
<i>Pamphorichthys araguaiensis</i>	13.23	2.58	1	1
<i>Pamphorichthys hollandi</i>	38.00	3.64	1	1
<i>Pamphorichthys minor</i>	1.60	0.47	1	1
<i>Pamphorichthys scalpridens</i>	5.11	1.63	1	1
<i>Phalloceros anisophallos</i>	2.64	0.97	1	2
<i>Phalloceros aspilos</i>	2.50	0.92	1	2
<i>Phalloceros caudimaculatus</i>	2.95	1.08	1	1
<i>Phalloceros enneaktinos</i>	2.88	1.06	1	2
<i>Phalloceros leptokeras</i>	1.52	0.42	1	2
<i>Phalloceros tupinamba</i>	2.36	0.86	1	2
<i>Phalloceros uai</i>	2.61	0.96	1	2
<i>Phalloptychus iheringii</i>	36.93	3.61	1	1

Referencias Tabla S2

- 1 Furness AI, Avise JC, Pollux BJA, Reynoso Y, Reznick DN. 2021 The evolution of the placenta in poeciliid fishes. *Curr. Biol.* **31**, 2004-2011. (doi:10.1016/j.cub.2021.02.008)
- 2 Zandonà E, Kajin M, Buckup PA, Amaral JR, Souto-Santos ICA, Reznick DN. 2021 Mode of maternal provisioning in the fish genus *Phalloceros*: A variation on the theme of matrotrophy. *Biol. J. Linn. Soc.* **134**, 867–878. (doi:10.1093/biolinnean/blab121)

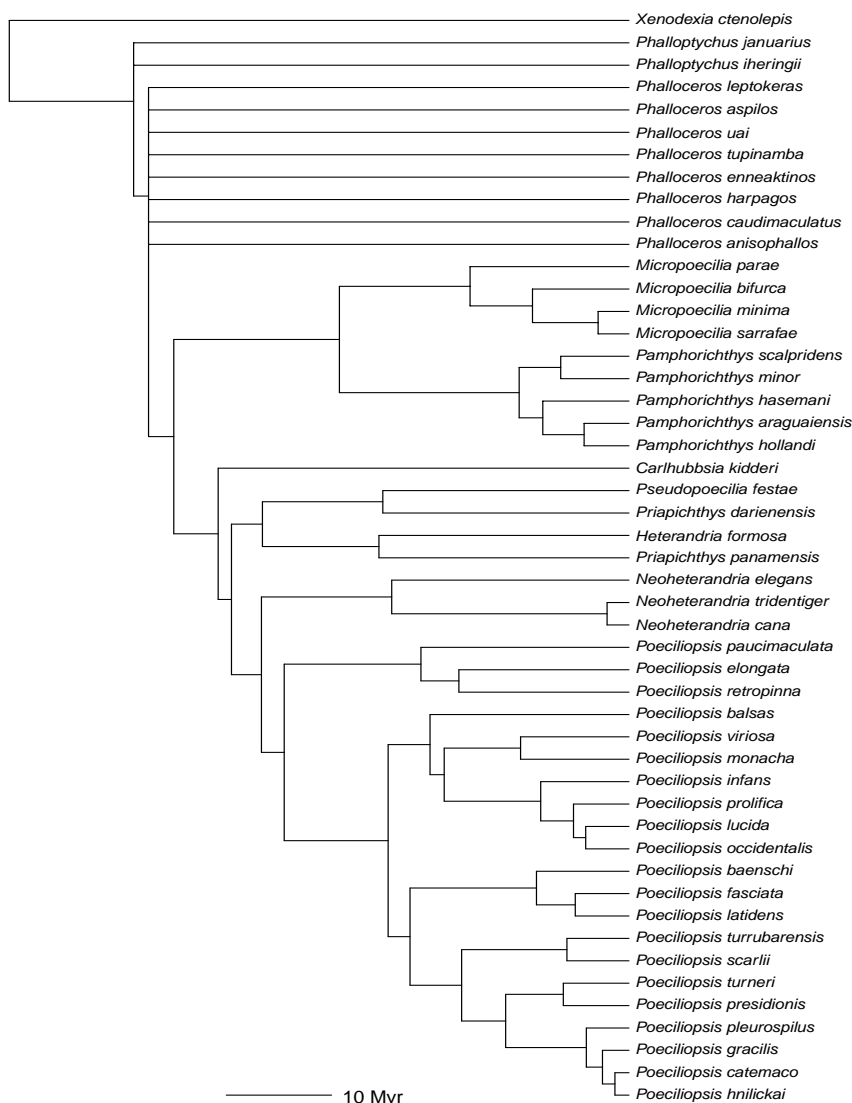
Tabla S3 Matrices de deriva (A) y difusión (Σ_{yy}) estimadas del mejor modelo en la [Tabla 1](#), que corrimos desde los “starting points”.

	Matriz A		Matriz Σ_{yy}	
	Placentotrofia	Superfetación	Placentotrofia	Superfetación
Primer réplica (AICc = 163.9071)				
Placentotrofia	2.439	-21.479	0.678	0
Superfetación	0	10.135	0	2.131
Segunda réplica (AICc = 163.9072)				
Placentotrofia	2.44	-21.484	0.677	0
Superfetación	0	10.124	0	2.132
Tercer réplica (AICc = 163.9072)				
Placentotrofia	2.441	-21.463	0.68	0
Superfetación	0	10.107	0	2.129
Cuarta réplica (AICc = 163.9074)				
Placentotrophy	2.432	-21.45	0.674	0
Superfetation	0	10.115	0	2.132
Quinta réplica (AICc = 163.9352)				
Placentotrofia	2.354	-21.142	0.674	0
Superfetación	0	9.75	0	2.087

Tabla S4 Resultados los 13 modelos ajustados (descritos en el texto principal) a dos grupos adicionales de especies. Usamos estas dos muestras adicionales para probar la solidez de nuestros resultados principales (consulte el apéndice S1e). La primera muestra consistió en nuestras 36 especies originales más 13 especies adicionales no superfetadoras que exhiben placentotrofia de moderada a extensa para un total de 49 especies. La segunda muestra consistió en 28 de nuestras 36 especies originales en las que la superfetación evolucionó antes que la placentotrofia. Mostramos el modelo de mejor ajuste para cada muestra y las estimaciones de parámetros de este modelo. En ambas muestras, todos los demás modelos diferían en más de dos unidades AICc del modelo superior y, por lo tanto, tenían menos apoyo.

Muestra	Modelo	Regresión evolutiva	Tipo de matriz de deriva (A)	Tipo de matriz de difusión (Σ_{uv})	Matriz A			Matriz Σ_{yy}	
					Placentotrofia	Superfetación	Placentotrofia	Superfetación	
49 especies	OUOU	1.15	Triangular superior	Diagonal	Placentotrofia	2.588	-22.203	0.864	0
					Superfetación	0	16.8	0	2.938
28 especies	OUOU	2.69	Triangular superior	Diagonal	Placentotrofia	2.002	-19.124	0.671	0
					Superfetación	0	5.088	0	1.16

Figura S1. Filogenia calibrada en el tiempo de 49 especies de peces de la familia Poeciliidae, modificada de (Reznick et al. 2017). Usamos estas especies para probar la solidez de nuestros principales resultados (ver apéndice S1e). Algunas especies de los géneros *Phalloptychus* y *Phalloceros* no estaban incluidas en el árbol original y, por lo tanto, las incorporamos a la filogenia mediante la construcción de politomías en los nodos ancestrales de ambos géneros.



Referencia

1. Reznick DN, Furness AI, Meredith RW, Springer MS. 2017 The origin and biogeographic diversification of fishes in the family Poeciliidae. *PLoS One* **12**, e0172546. doi:10.1371/journal.pone.0172546)

Figura S2. Efecto estadístico del grado de superfetación (número de crías simultáneas) sobre la cantidad de placentotrofia (cuantificada por el índice de matrotrofia) para la primera muestra adicional que usamos para probar la solidez de nuestros resultados principales (consulte el apéndice S1e). Esta muestra consistió en nuestras 36 especies originales más 13 especies no superfetadoras adicionales que exhiben placentotrofia de moderada a extensa para un total de 49 especies. La línea representa la regresión evolutiva estimada a partir del modelo que proporcionó el mejor ajuste a esta muestra adicional (pendiente = 1,15; consulte la Tabla S4).

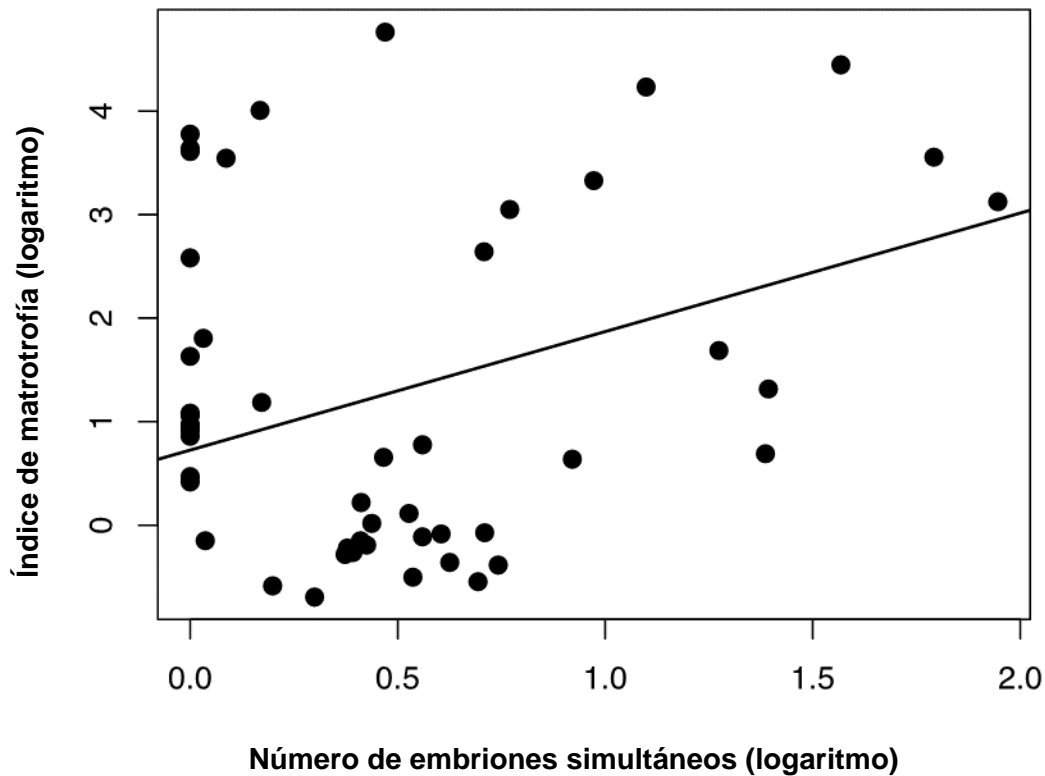
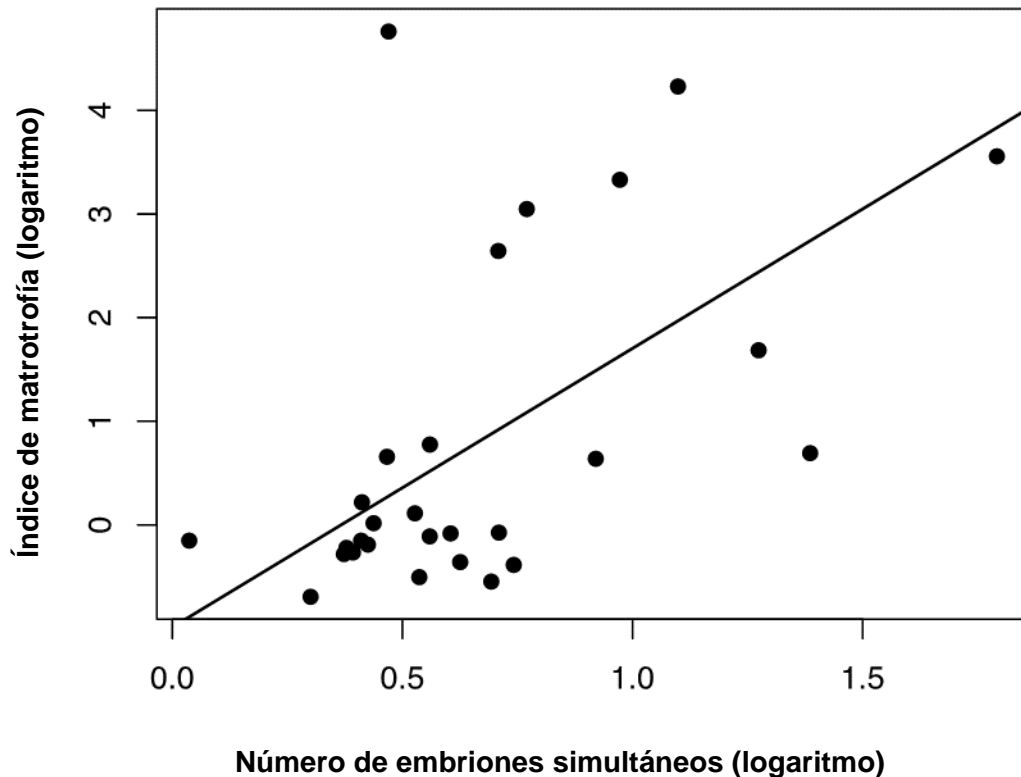


Figura S3. Efecto estadístico del grado de superfetación (número de crías simultáneas) sobre la cantidad de placentotrofia (cuantificada por el índice de matrotrofia) para la segunda muestra adicional que usamos para probar la solidez de nuestros resultados principales (consulte el apéndice S1e). Esta muestra constaba de 28 de nuestras 36 especies originales en las que la superfetación evolucionó antes que la placentotrofia. La línea representa la regresión evolutiva estimada a partir del modelo que proporcionó el mejor ajuste a esta muestra adicional (pendiente = 2,69; consulte la Tabla S4).



CAPÍTULO 3

Lidiando con la carga de la viviparidad: la placentotrofia y la superfecundación promueven una evolución morfológica convergente

Karla N. García-Cabello, Maren G. Callaway, Nabila Saleh-Subaie y

J. Jaime Zúñiga-Vega

Sometido en *Journal of Evolutionary Biology* (Julio 2023).
Artículo en proceso de revisión por lo que está sujeto a cambios.

Resumen

La gestación conlleva costos para las hembras vivíparas, como cambios en la masa corporal, forma, estado hormonal, condición física y rendimiento locomotor que pueden reducir la adecuación y la supervivencia. Sin embargo, la evolución de la placentación en los peces, en particular la placentotrofia avanzada, puede reducir la carga reproductiva y el costo locomotor de la gestación, brindando una ventaja selectiva en entornos de alto rendimiento. La superfetación es otra estrategia que disminuye la carga, dividiendo un único episodio reproductivo en camadas más pequeñas en diferentes etapas de desarrollo. En este estudio, examinamos la hipótesis de que la coevolución de la placentotrofia y la superfetación en los peces vivíparos de la familia Poeciliidae promueve la evolución convergente de formas corporales hidrodinámicas y esbeltas, y evaluamos los posibles efectos de factores ambientales en la evolución de la forma corporal, como las condiciones de depredación y la velocidad del agua. Analizamos la variación en la forma corporal de 48 especies de poecílicos utilizando morfometría geométrica y medidas morfológicas adicionales. Basándonos en una filogenia robusta de la familia Poeciliidae, implementamos un poderoso método comparativo filogenético, el método de adaptación-inercia, que nos permitió comparar nuestras variables morfológicas entre especies que difieren en la presencia o ausencia de placentotrofia y superfetación, asumiendo dos modelos evolutivos distintos, un proceso de movimiento browniano y un proceso adaptativo de Ornstein-Uhlenbeck. Descubrimos que la presencia de superfetación por sí sola causa una evolución adaptativa convergente hacia cuerpos delgados e hidrodinámicos, mientras que la placentotrofia ha tenido poco efecto en la evolución de la forma corporal de las hembras. En resumen, nuestro estudio proporciona valiosas perspectivas sobre cómo la placentación y la superfetación han impulsado cambios morfológicos en los peces vivíparos.

1. Introducción

En organismos vivíparos, se sabe que la gestación conlleva cambios en la masa corporal, forma, coloración, estado hormonal y condición física de las hembras en diferentes taxones (James y Johnston, 1998; Noren et al., 2011; Quicazan-Rubio et al., 2019). La viviparidad impone costos severos a las hembras gestantes, derivados principalmente del aumento sustancial en el volumen y la masa corporal, lo que a su vez reduce tanto la capacidad de búsqueda de alimento como el rendimiento locomotor, volviéndolas más vulnerables a los depredadores (Magnhagen, 1991; Sinervo et al., 1991; Salido y Vicente, 2019). En lagartijas, la gestación afecta negativamente la velocidad de escape, reduce el área de actividad y dificulta la capacidad de defender posibles sitios de anidación (Miles et al., 2000). En pequeños mamíferos, las hembras grávidas pasan más tiempo buscando alimento, lo que aumenta su riesgo de ser cazadas (Speakman y John, 2007). En invertebrados y peces vivíparos, la carga física y fisiológica de la gestación afecta negativamente el rendimiento locomotor (volar, trepar, nadar) (Shaffer y Formanowicz, 1996; Plaut, 2002; Ghalambor et al., 2004). Dado que la locomoción limitada causada por el desarrollo interno de los embriones puede disminuir la adecuación de las hembras (principalmente al reducir sus probabilidades de supervivencia y tasas de alimentación), la selección natural debería promover la evolución de mecanismos para minimizar los costos de la gestación.

Los entornos acuáticos imponen fuertes presiones selectivas a los animales nadadores y estas presiones se intensifican aún más para las

especies vivíparas durante la gestación (Noren et al., 2011; Hückstädt et al., 2018). El desarrollo interno de los embriones causa cambios morfológicos que limitan el rendimiento de natación y la respuesta de escape (Rodewald y Foster, 1998). En peces vivíparos, la gestación provoca un aumento sustancial en la masa corporal y el volumen, incluyendo una distensión abdominal significativa (Hamlett, 2005; Langerhans y Reznick, 2010). En consecuencia, las hembras grávidas tienen una mayor superficie en contacto con el agua, lo que provoca fuerzas de arrastre más fuertes en sus cuerpos (Plaut, 2002; Ghalambor et al., 2004; Rubio-Gracia et al., 2020).

La placentación en los peces se ha considerado como una posible adaptación para hacer frente a los costos de locomoción derivados del desarrollo interno de los embriones (Pollux et al., 2009). Las placentas son órganos reproductivos complejos formados por la integración de tejidos embrionarios y maternos que tienen la función principal de intercambio fisiológico (Mossman, 1991; Ostrovsky et al., 2016). En los peces vivíparos, existe una amplia variación interespecífica en el grado de placentación, con algunas especies que tienen placentas relativamente simples y otras que presentan una complejidad sustancial en sus tejidos placentarios, incluyendo células maternas más gruesas, abundantes microvellosidades y numerosas y grandes vesículas (Kwan et al., 2015; Olivera-Tlahuel et al., 2019). En especies con placentas simples, el vitelo que se almacena antes de la fertilización del huevo es la principal fuente de nutrientes para los embriones en desarrollo (es decir, lecitotrofia). En cambio, en especies con una mayor complejidad placentaria, las madres proporcionan activamente nutrientes a

los embriones durante todo su desarrollo (es decir, placentotrofia, que es un tipo particular de matrotrofia; Reznick et al., 2002; Marsh-Matthews, 2011; Blackburn, 2015). En los peces vivíparos, la placentotrofia extensa mediante placentas complejas ha evolucionado de forma independiente en múltiples ocasiones y numerosas especies presentan diferentes grados de placentación (Reznick et al., 2021).

Una de las hipótesis que se ha propuesto para explicar la evolución de la placenta en peces vivíparos sugiere que la placentación avanzada reduce el costo locomotor de la gestación (Ghalambor et al., 2004; Fleuren et al., 2018). Las hembras gestantes de especies placentotróficas tienen una carga reproductiva menor, al menos durante las primeras etapas del desarrollo embrionario, porque producen ovocitos maduros que tienen poco o nada de vitelo (Pollux et al., 2009). Por lo tanto, los huevos son pequeños en la fertilización y los embriones crecen gradualmente como resultado del suministro materno de nutrientes a través de los tejidos placentarios. Por lo tanto, los embriones permanecen relativamente pequeños durante una proporción significativa de la gestación. En contraste, las hembras de especies lecitotróficas producen huevos más grandes llenos de vitelo y los embriones aumentan de volumen durante el desarrollo debido a la absorción de agua, imponiendo una carga reproductiva mayor durante toda la gestación (Thibault y Schultz, 1978; Pollux et al., 2009). La reducción de la distensión abdominal y el menor tamaño y volumen corporal durante la gestación que resulta de la placentotrofia avanzada probablemente mejora

la morfológica hidrodinámica, lo que a su vez otorga una ventaja selectiva en ambientes que demandan un alto rendimiento, como sitios con corrientes de agua rápidas o abundantes depredadores (Fleuren et al., 2018; Hagmayer et al., 2020; Furness et al.; 2021).

En particular, los peces vivíparos de la familia Poeciliidae son un excelente sistema modelo para entender las consecuencias morfológicas de la evolución de placentas elaboradas porque dentro de esta familia ha habido al menos nueve orígenes independientes de placentotrofía (Furness et al., 2019; Reznick et al., 2021). También existe una amplia variación interespecífica en el grado de placentación, con algunas especies siendo estrictamente lecitotróficas con placentas simples, otras especies exhibiendo una placentotrofía extensa a través de placentas complejas, y numerosas especies entre estos dos extremos con diferentes grados de placentación acompañados por distintas combinaciones de reservas pre-fertilización (vitelo) y nutrientes proporcionados activamente por las madres después de la fertilización (Pollux et al., 2009, 2014).

Además, en los peces poecílicos, existe una fuerte relación evolutiva entre la placentotrofía y la superfetación (Pollux et al., 2009, 2014; García-Cabello et al., 2022). La superfetación es la presencia de múltiples camadas en diferentes etapas de desarrollo dentro de una sola hembra (Turner, 1937). Este modo reproductivo divide una gran carga reproductiva en camadas pequeñas, lo que reduce la carga reproductiva máxima porque las hembras superfetadoras nunca llevan muchos embriones grandes y avanzados como las hembras que no son superfetadoras (Pollux et al., 2009). Al igual que la placentotrofía, la superfetación se ha

considerado una adaptación reproductiva que probablemente evolucionó para reducir la carga reproductiva de la gestación (Thibault y Schultz, 1978; Reznick y Miles, 1989; Zúñiga-Vega et al., 2010). Evidencia de distintas especies de poecílidos respalda esta hipótesis. Mayores grados de superfetación (es decir, más camadas simultáneas) se asocian con hembras más fusiformes de *Poeciliopsis turrubarensis* (Zúñiga-Vega et al., 2007). Además, Fleuren y colegas (2019) demostraron que la superfetación reduce la distensión abdominal durante la gestación, promueve cuerpos delgados y mejora el rendimiento de nado en tres especies de poecílidos (*Poeciliopsis turneri*, *Heterandria formosa* y *Phalloptychus januaris*). En la familia Poeciliidae, la superfetación ha evolucionado independientemente al menos cuatro veces (Furness et al., 2019; Reznick et al., 2021).

Basándonos en la evidencia de que la placentotrofia y la superfetación tienden a evolucionar juntas (grados avanzados de superfetación tienden a ocurrir en especies con placentotrofia extensa; Pires et al., 2010; Pollux et al., 2014; Furness et al., 2021; García-Cabello et al., 2022), así como en la ventaja selectiva que ambos modos reproductivos parecen proporcionar a las hembras en términos de esbeltez e hidrodinámica (Zúñiga-Vega et al., 2007; Pollux et al., 2009; Fleuren et al., 2018, 2019; Hagmayer et al., 2020), preguntamos aquí si la placentotrofia y la superfetación impulsan una evolución morfológica convergente. Específicamente, usamos datos comparativos de diferentes especies de peces poecílidos para examinar las consecuencias morfológicas de la

evolución conjunta de la placentotrofia y la superfetación. Nos centramos en la hipótesis de que la evolución correlacionada de ambos modos reproductivos ha promovido la evolución de cuerpos hidrodinámicos y esbeltos ([Figura 1a](#)). Esto implica que las especies lecitotróficas sin superfetación exhibirán morfologías más robustas causadas por una mayor carga reproductiva. Por lo tanto, la segunda hipótesis relacionada que probamos es que la falta de placentotrofia y superfetación debería seleccionar características morfológicas que faciliten la propulsión de una mayor masa y volumen corporal a través de un ambiente acuático, como pedúnculos caudales más profundos y aletas caudales más grandes (Langerhans y Reznick, 2010) ([Figura 1b](#)). Esto implica, a su vez, que la presencia de superfetación y placentotrofia conducirá a una convergencia morfológica hacia un pedúnculo caudal más estrecho y una aleta caudal más pequeña, ya que un cuerpo hidrodinámico requiere menos fuerzas propulsivas de la mitad posterior del cuerpo (Lighthill, 1975; Lauder y Tytell, 2005) ([Figura 1a](#)). La presencia de solo uno de estos dos modos reproductivos, como en especies lecitotróficas con superfetación o en especies placentotróficas sin superfetación, debería estar asociada con la evolución de morfologías intermedias, es decir, cuerpos menos hidrodinámicos en comparación con especies que exhiben tanto superfetación como placentotrofia, así como pedúnculos caudales y aletas caudales que no son tan profundos o grandes como en especies lecitotróficas sin superfetación ([Figura 1c](#)).

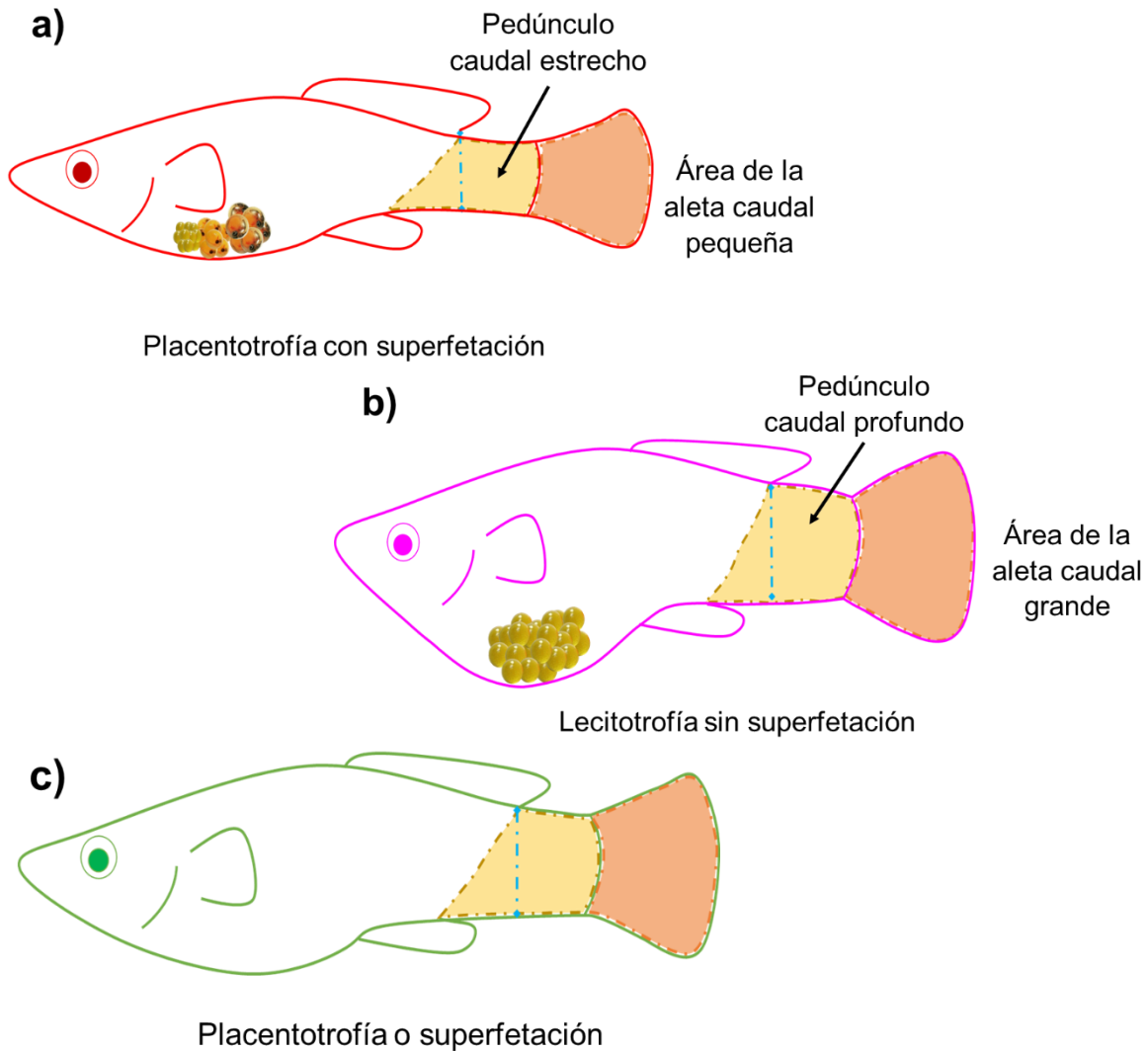


Figura 1 Hipótesis: **a)** la presencia de superfetación y placentotrofia conducirá a una convergencia morfológica debido a la carga distribuida hacia un pedúnculo caudal más estrecho y una aleta caudal más pequeña, porque un cuerpo hidrodinámico requiere menos fuerzas propulsivas de la mitad posterior del cuerpo. **b)** Las especies lecitotróficas sin superfetación exhibirán morfologías más robustas causadas por una mayor carga reproductiva, y seleccionarán características morfológicas que faciliten la propulsión de mayor masa y volumen corporal a través de un ambiente acuático, como pedúnculos caudales más profundos y aletas caudales más grandes. **c)** La presencia de solo uno de estos dos modos reproductivos, como en especies lecitotróficas con superfetación o especies placentotróficas sin superfetación, debería estar asociada con la evolución de morfologías intermedias, es decir, menos hidrodinámicas.

Adicionalmente, consideramos que la alta intensidad de depredación y la rápida velocidad del agua son fuerzas selectivas que podrían impulsar la evolución convergente hacia cuerpos delgados e hidrodinámicos (Mclaughlin y Grant, 1994; Langerhans et al., 2003; Furness et al., 2021). Por lo tanto, nuestro análisis de la evolución morfológica probó simultáneamente los posibles efectos de estos factores ambientales y la presencia conjunta (o ausencia) de superfetación y placentotrofia. Nuestro estudio es una contribución importante al conocimiento de cómo evoluciona la morfología tanto como consecuencia del modo reproductivo como en respuesta adaptativa al ambiente.

2. Material y métodos

2.1 Recopilación y preparación de datos

Cuantificamos la variación en la forma corporal de las hembras de 48 especies de peces vivíparos de la familia Poeciliidae utilizando morfometría geométrica.

Tomamos fotografías digitales del perfil izquierdo de al menos 10 hembras preñadas de cada especie. Utilizamos individuos conservados (solo hembras) de tres colecciones de museos: la Colección Nacional de Peces del Instituto de Biología, el Museo de Zoología "Alfonso L. Herrera" de la Facultad de Ciencias, ambos de la Universidad Nacional Autónoma de México, y el Museo de Ciencias de la Vida Monte L. Bean de la Universidad Brigham Young. Nuestra muestra total consistió en 929 hembras. Evitamos cuerpos disecados o torcidos. Todas las imágenes se tomaron a la misma distancia del pez y se incluyó una escala en cada fotografía. Usando el software TpsDig2 versión 2.30® (Rohlf, 2017a) marcamos 17 puntos anatómicos para analizar el perfil lateral de cada hembra

(Zúñiga-Vega et al., 2011) ([Figura 2a](#)). Extrajimos las variables de forma (coordenadas de deformación relativa) para todas las especies utilizando TpsRelw32 versión 1.67® (Rohlf, 2017b). Las variables de forma (RW) proporcionan un resumen de cómo la forma corporal de cada hembra se desvía con respecto a una forma general o "consenso" (Zelditch et al., 2012). Para nuestros análisis comparativos, retuvimos las dos primeras variables de forma, que explicaron el 46,3% de la variación total en la forma corporal. Basándonos en estas dos RW, generamos cuadrículas de deformación para visualizar las diferencias en las morfologías promedio entre distintos grupos de especies dependiendo de la presencia o ausencia de placentotrofia y superfecundación, así como para identificar qué tan delgados son sus cuerpos. También calculamos el tamaño del centroide para cada hembra, que es una medida geométrica del tamaño corporal, como la raíz cuadrada de las distancias cuadradas sumadas entre cada punto y el centro geométrico de cada hembra (Zelditch et al., 2012

Obtuvimos medidas morfológicas adicionales a partir de las imágenes digitales usando el software ImageJ (Schneider et al., 2012), lo que nos proporcionó más información sobre la hidrodinámica y la forma del cuerpo. Medimos la profundidad del cuerpo (BD; por sus siglas en inglés), la profundidad del pedúnculo caudal (PD; por sus siglas en inglés), el área del pedúnculo caudal (PA; por sus siglas en inglés), el área de la aleta caudal (CFA; por sus siglas en inglés) y la longitud estándar (SL; por sus siglas en inglés) ([Figura 2b](#)). Para eliminar los efectos alométricos, la BD y la PD se

ajustaron respecto a la SL, mientras que la PA y la CFA se ajustaron respecto al tamaño del centroide.

También calculamos el índice de fineza (FI; por sus siglas en inglés) para cada hembra como una medida precisa del grado de la hidrodinámica del cuerpo (Langerhans y Reznick, 2010). Un índice de fineza igual a 1 corresponde a una forma corporal que exhibe la mínima resistencia al máximo volumen (es decir, un grado máximo de hidrodinámica; Blake, 2004; Haas et al., 2015). El FI se calculó para cada hembra como $FI = 1 - |1 - (FR/4.5)|$, donde FR (relación de fineza) = longitud estándar/profundidad del cuerpo. En resumen, utilizamos las dos primeras variables de forma, las medidas morfológicas ajustadas por el tamaño y el índice de fineza como variables de respuesta en nuestros análisis comparativos. Los valores promedio de estas características morfológicas para las 48 especies se pueden encontrar en la Tabla S1 del artículo publicado.

2.2 Cuantificando y categorizando la placentotrofia y la superfetación

Obtuvimos datos sobre placentotrofia y superfetación de la literatura. La primera fue cuantificada utilizando el índice de matrotrofia (MI), que es una medida de la cantidad de nutrientes que las hembras proporcionan activamente a los embriones durante el desarrollo (Skalkos et al., 2023). El MI se calcula como la masa seca estimada de la descendencia al nacer dividida por la masa seca del huevo en la fertilización (Reznick et al., 2002; Marsh-Matthews, 2011). En los peces poecílicos, hay una amplia variación entre especies en los valores del MI dependiendo del momento de la asignación materna de nutrientes a los embriones (Pollux et al., 2009).

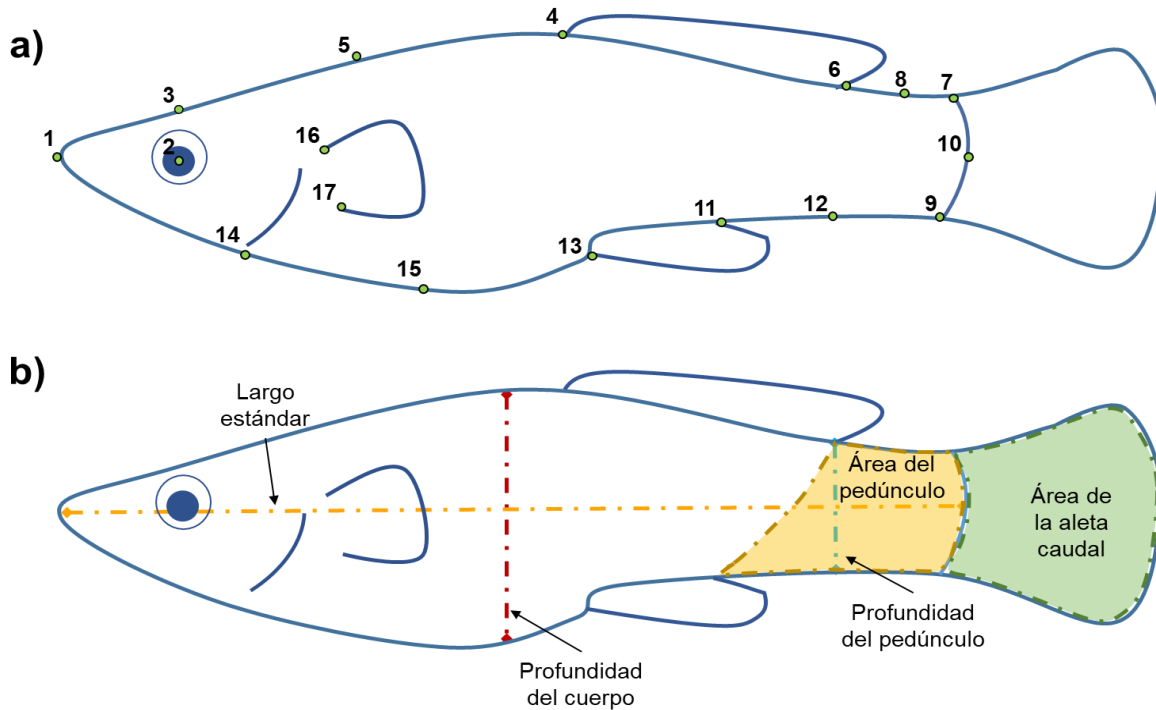


Figura 2 a) Ubicación de los 17 puntos anatómicos de referencia utilizados para obtener las variables de forma. 1, punta del hocico; 2, centro del ojo; 3, encima del ojo en el perfil del cuerpo; 4, inserción anterior de la aleta dorsal; 5, punto medio entre las marcas 3 y 4 en el perfil del cuerpo; 6, inserción posterior de la aleta dorsal; 7, inserción dorsal de la aleta caudal; 8, punto medio entre las marcas 6 y 7 en el perfil del cuerpo; 9, inserción ventral de la aleta caudal; 10, base de la aleta caudal al nivel de la línea lateral; 11, inserción posterior de la aleta anal; 12, punto medio entre las marcas 9 y 11 en el perfil ventral del cuerpo; 13, inserción anterior de la aleta anal; 14, abertura del opérculo; 15, punto medio entre las marcas 13 y 14 en el perfil ventral del cuerpo; 16, inserción superior de la aleta pectoral; 17, inserción inferior de la aleta pectoral. **b)** Medidas morfológicas de hembras grávidas. Longitud estándar (SL; medida utilizada para el cálculo del índice de finura), profundidad del cuerpo (BD; altura en la región más profunda del cuerpo), área de la aleta caudal (CFA; área de la aleta caudal extendida), profundidad del pedúnculo (PD; la altura máxima del pedúnculo entre la base de la aleta dorsal y el cuerpo del pez) y área del pedúnculo (PA; área entre la inserción posterior de la base de la aleta dorsal, la inserción dorsal de la aleta caudal, la inserción ventral de la aleta caudal y la inserción posterior de la aleta anal).

Por un lado, están las especies lecitotróficas, que asignan nutrientes antes de la fertilización en forma de vitelo. Aquí, los embriones experimentan una pérdida de masa seca debido a los costos metabólicos del desarrollo, lo que resulta en valores de $MI < 0.75$. Por otro lado, están las especies placentotróficas, en las que el aprovisionamiento materno ocurre después de la fertilización. En estas especies, los embriones aumentan sustancialmente en masa a medida que avanza el desarrollo debido a los nutrientes que las madres proporcionan activamente a través de sus placentas durante la gestación, lo que lleva a valores de $MI > 1$ (Wourms, 1981; Reznick et al., 2002). Los valores de MI entre 0.75 y 1 representan especies con matrotrofia incipiente porque los embriones dependen principalmente de las reservas de vitelo, pero las hembras proporcionan pequeñas cantidades de nutrientes durante la gestación que compensan ligeramente los costos metabólicos del desarrollo (Wourms, 1981; Blackburn, 1992; Reznick et al., 2002). Para nuestros análisis comparativos, transformamos el MI en una característica binaria de ausencia o presencia de placentotrofia. Para mantener un enfoque conservador, las especies lecitotróficas ($MI < 0.75$) y las especies con matrotrofia incipiente (MI entre 0.75 y 1) se consideraron juntas como principalmente lecitotróficas (según Furness et al., 2021). Las especies con $MI > 1$ se consideraron placentotróficas.

También identificamos si nuestras especies de estudio son capaces de portar simultáneamente dos o más grupos de embriones en diferentes etapas de desarrollo o no. Aquellas especies que pueden hacerlo se consideraron como especies superfetadoras, mientras que las que no pueden se consideraron como

carentes de superfetación. Por lo tanto, tratamos la superfetación como una característica binaria (presencia o ausencia), independientemente de la especie superfetadora en el número promedio de camadas simultáneas. Los valores de MI y el número promedio de camadas simultáneas para las 48 especies se pueden encontrar en la Tabla S1.

Dado que nuestro enfoque fue explorar el efecto de la presencia conjunta de placentotrofia y superfetación en la forma del cuerpo, clasificamos nuestras especies de estudio en cuatro categorías que corresponden a las diferentes combinaciones de presencia o ausencia de superfetación y placentotrofia: 1) lecitotrofia sin superfetación, 2) placentotrofia sin superfetación, 3) lecitotrofia con superfetación y 4) placentotrofia con superfetación ([Figura 3](#)). En nuestros análisis comparativos que describimos a continuación, consideramos estas cuatro categorías como regímenes selectivos distintos que influyen en la evolución de la forma del cuerpo femenino. Debido a que solo tenemos dos especies placentotróficas que carecen de superfetación (*Poecilia latipinna* y *P. butleri*), enfocamos nuestras interpretaciones en las tres otras categorías, aunque incluimos estas dos especies en nuestros análisis como los únicos representantes de la segunda categoría (placentotrofia sin superfetación).

2.3 Análisis comparativos filogenéticos

Dado que nuestra hipótesis es que la presencia conjunta de placentotrofia y superfetación constituye un régimen selectivo fuerte que ha llevado a la evolución de morfologías más esbeltas e hidrodinámicas, mientras que la presencia de

lecitotrofia sin superfetación ha llevado a la evolución de pedúnculos caudales más profundos y aletas caudales más grandes, buscamos diferencias morfológicas entre grupos de especies dentro de un marco adaptativo. Utilizamos el método de adaptación-inercia (Hansen, 1997; Hansen et al., 2008) implementado en el paquete SLOUCH del entorno R (Hansen et al., 2008; Pienaar et al., 2020; R Core Team, 2022) para determinar si los rasgos morfológicos de especies con diferentes combinaciones de placentotrofia/lecitotrofia y superfetación (es decir, diferentes regímenes selectivos) han evolucionado hacia diferentes óptimos primarios (denotados como θ_j , donde j representa cada combinación de placentotrofia/lecitotrofia y superfetación). En general, SLOUCH modela la evolución adaptativa de un rasgo hacia un óptimo primario como una función de variables predictoras continuas o categóricas, teniendo en cuenta la tendencia de las especies a retener el valor ancestral del rasgo (es decir, inercia filogenética) (Hansen, 1997; Butler y King, 2004; Hansen et al., 2008). Para este fin, SLOUCH estima dos parámetros relacionados: la vida media filogenética (denotada como $t_{1/2}$) y la tasa de adaptación (denotada como α). La vida media filogenética refleja el tiempo que se necesita para que el rasgo pierda la mitad de su valor ancestral y, por lo tanto, representa una estimación de la inercia filogenética. La magnitud de $t_{1/2}$ es relativa a la longitud total del árbol filogenético que se está utilizando para implementar este método comparativo (en nuestro caso, las unidades son millones de años). Un valor pequeño de $t_{1/2}$ indica una adaptación inmediata a un cambio en el régimen selectivo (Hansen, 1997; Hansen et al., 2008). La tasa de adaptación representa la fuerza de la selección natural y, por lo tanto, un valor grande de α también indica que el rasgo se adapta

inmediatamente al óptimo primario. Una tasa rápida de adaptación implica una inercia filogenética débil, mientras que si α es pequeña, la selección natural es débil y el rasgo se adapta lentamente a su nuevo régimen selectivo con una inercia filogenética fuerte (ambos parámetros están inversamente relacionados; Hansen et al., 2008).

En el caso de un régimen selectivo que se representa mejor mediante una variable continua (como es el caso de algunas variables ambientales como la elevación), SLOUCH estima la tasa a la que el rasgo de interés se adapta al óptimo primario del régimen selectivo continuo comparando dos regresiones lineales. La regresión óptima representa la relación esperada entre el rasgo y la variable predictora en el escenario de una adaptación rápida (es decir, el rasgo evoluciona lo suficientemente rápido para seguir inmediatamente los cambios del régimen selectivo continuo). La regresión evolutiva es la relación observada entre el rasgo y el predictor continuo que está influenciada por la adaptación y la inercia. La diferencia estimada entre ambas regresiones proporciona información sobre la tasa a la que el rasgo se adapta al óptimo primario del régimen selectivo continuo. Esta diferencia se cuantifica mediante el factor de corrección filogenética (ρ), que indica una adaptación rápida al régimen selectivo cuando ρ se acerca a 1 (es decir, las pendientes de ambas regresiones son iguales) o una fuerte inercia filogenética y ningún proceso de adaptación cuando ρ se acerca a 0 (es decir, la pendiente de la regresión evolutiva es

sustancialmente menor que la pendiente de la regresión óptima) (Hansen et al., 2008).

Este método comparativo filogenético requiere una filogenia con longitudes de rama (Hansen, 1997; Hansen et al., 2008). Utilizamos la filogenia datada de la familia Poeciliidae de Reznick et al. (2017), la cual recortamos para incluir solamente nuestras 48 especies de estudio ([Figura 3](#)). La longitud total de esta filogenia (es decir, la longitud de la rama más larga) es de aproximadamente 57 millones de años.

2.4 Modelos

Utilizamos siete características morfológicas (variables de forma 1 y 2, índice de fineza y medidas ajustadas por tamaño de la profundidad del cuerpo, profundidad del pedúnculo, área del pedúnculo y área de la aleta caudal) como variables de respuesta y las cuatro categorías de presencia o ausencia de placentotrofia y superfetación como predictor principal (como regímenes selectivos distintos). Para cada característica morfológica, ajustamos 10 modelos en SLOUCH que diferían en sus supuestos evolutivos. Primero, corrimos dos modelos sin considerar variables predictoras (modelos solo con intercepto) para identificar si cada característica sigue un modo de evolución de movimiento browniano, en el cual los cambios se acumulan gradualmente con el tiempo (modelo BM-intercepto), o un proceso adaptativo de Ornstein-Uhlenbeck en el que la característica evoluciona hacia un óptimo (modelo OU-intercepto) (Hansen, 1997). Luego, corrimos modelos asumiendo que cada característica evolucionó aleatoriamente bajo el movimiento browniano, pero considerando que cada régimen selectivo (lecitotrofia sin

superfetación, placentotrofía sin superfetación, lecitotrofía con superfetación y placentotrofía con superfetación) causó una tendencia evolutiva diferente (BM-regímenes). También corrimos modelos asumiendo que cada característica evolucionó bajo un proceso adaptativo de Ornstein-Uhlenbeck en el que cada régimen selecciona un valor óptimo distinto (OU-regímenes). Este último modelo representa nuestras hipótesis de que la presencia o ausencia tanto de placentotrofía como de superfetación promueve la evolución convergente de morfologías particulares.

También consideramos la posible influencia de factores ambientales en la evolución de la forma del cuerpo de las hembras. Específicamente, ajustamos modelos que representan cómo la intensidad de la depredación y la velocidad del agua podrían impulsar cambios evolutivos en nuestras variables morfológicas. Siguiendo a Furness et al. (2021), usamos la salinidad y la elevación como proxies de la presión de depredación porque las condiciones de baja elevación y agua salobre o salada suelen implicar una mayor diversidad de especies y, en consecuencia, una mayor intensidad de depredación, que a su vez promueve morfologías hidrodinámicas (Ghalambor et al., 2004; Walker et al., 2005). En los peces, una forma corporal delgada aumenta la velocidad de natación y mejora el rendimiento de escape de los depredadores (Fleuren et al., 2019; Quicazan-Rubio et al., 2019).

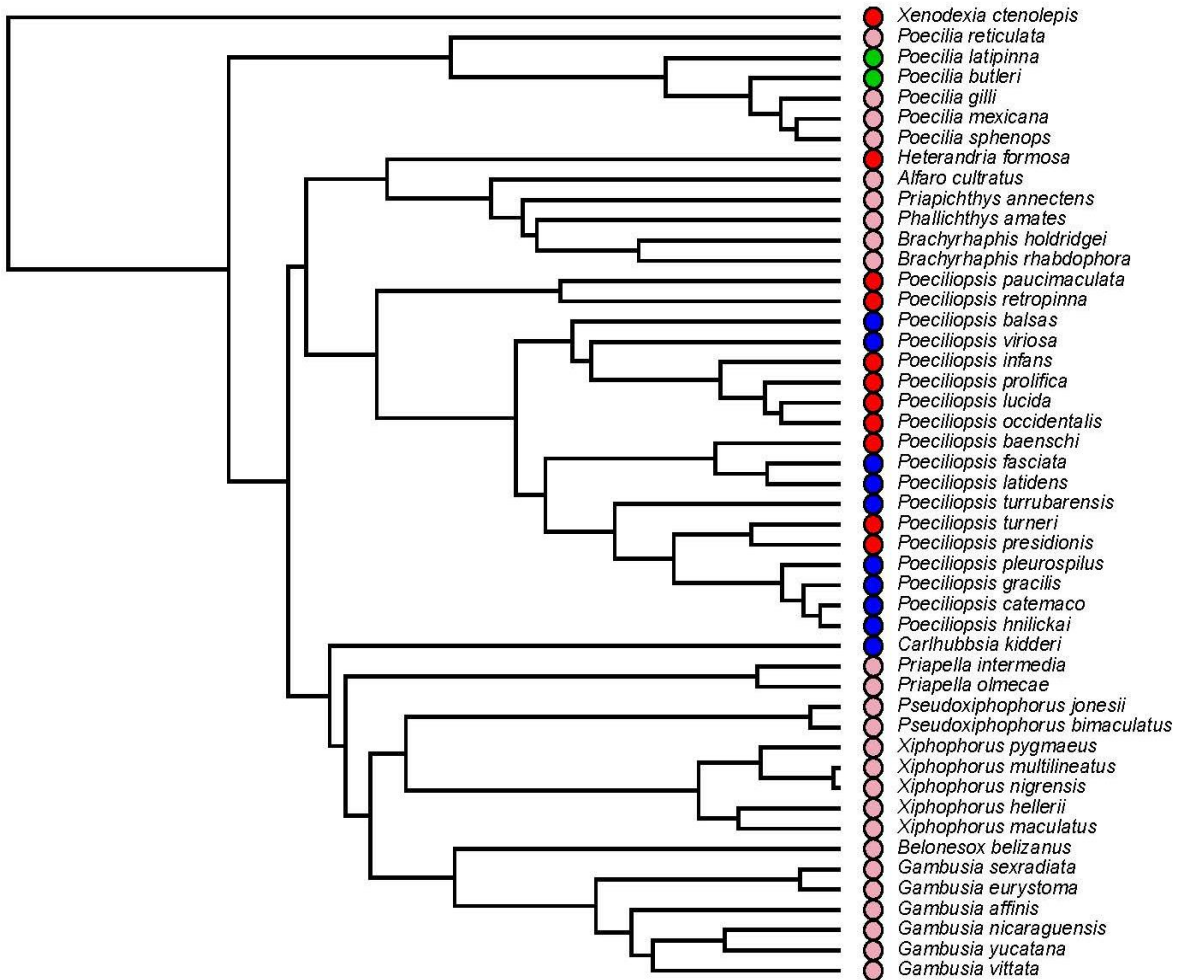


Figura 3 Árbol filogenético de 48 especies de peces de la familia Poeciliidae, modificado a partir de Reznick et al. (2017), que muestra la distribución taxonómica de la presencia y ausencia de placentotrofia y superfecundación: lecitotrofia sin superfecundación (● rosa); placentotrofia sin superfecundación (● verde), lecitotrofia con superfecundación (● azul) y placentotrofia con superfecundación (● rojo). La longitud total de esta filogenia es aproximadamente de 57 millones de años.

Evaluamos la salinidad de cada especie como un factor selectivo dicotómico que depende de si habita solo en agua dulce o puede vivir en agua salobre o salada. La elevación se utilizó como variable predictora continua medida en metros sobre el nivel del mar. Con respecto a la velocidad del agua, construimos otro factor selectivo dicotómico en el que se clasificó a las especies como habitantes de aguas con flujo lento/estancadas o con flujo rápido. Las corrientes de agua rápida pueden conducir a la evolución de cuerpos delgados e hidrodinámicos (Zúñiga-Vega et al., 2007, 2017; Frías-Alvarez y Zúñiga-Vega, 2016). Los datos sobre salinidad, elevación y velocidad del agua para cada especie se obtuvieron de Furness et al. (2021). Ajustamos modelos en los que cada una de estas tres características ambientales se utilizó como variable predictora, asumiendo procesos evolutivos BM y OU (es decir, BM-salinidad, OU-salinidad, BM-elevación, OU-elevación, BM-velocidad del agua y OU-velocidad del agua).

Para evaluar el ajuste del modelo y seleccionar el mejor modelo para cada rasgo morfológico, utilizamos el criterio de información de Akaike ajustado para muestras pequeñas (AICc; Burnham y Anderson, 2002). Identificamos el modelo que proporcionaba el mejor ajuste como aquel con la puntuación AICc más baja o como el modelo más simple en aquellos casos en los que dos o más modelos tenían puntuaciones AICc igualmente bajas (es decir, modelos que diferían en menos de 2 unidades AICc del modelo superior [$\Delta AICc < 2$]).

Finalmente, para reducir la incertidumbre en los valores promedio de los rasgos morfológicos, incorporamos la variación intraespecífica en nuestros análisis, como sugieren Ives et al. (2007), Labra et al. (2009) y Grabowski et al. (2016). Separadamente para cada rasgo morfológico, primero calculamos una varianza común entre especies de la siguiente manera:

$$\sigma_w^2 = \frac{\sum_i \sigma_{wi}^2 (n_i - 1)}{\sum_i (n_i - 1)},$$

donde σ_{wi}^2 es la varianza de la muestra de la especie i , la cual calculamos directamente a partir de las hembras que medimos de cada especie. Esta varianza común pondera la varianza intraespecífica de cada especie por su tamaño de muestra correspondiente n_i . Luego, estimamos la variación intraespecífica para cada especie como σ_w^2/n_i . SLOUCH nos permitió incorporar estas estimaciones ponderadas por el tamaño de muestra de la variación intraespecífica en todos los modelos evolutivos que ajustamos (Hansen et al., 2008)

3. Resultados

Solo en dos de nuestras siete características morfológicas, el modelo de Ornstein-Uhlenbeck que asume una evolución adaptativa hacia diferentes óptima para las distintas combinaciones de presencia/ausencia de placentotrofia y superfetación (nuestros principales regímenes selectivos) proporcionó el mejor ajuste a los datos. Específicamente, tanto para la variable de forma 2 (RW2) como para el índice de fineza (FI), este fue el único modelo con un fuerte respaldo (es decir, ningún otro modelo se encontraba dentro de 2 unidades AICc de este modelo superior; [Tabla 1](#)). Basándonos en las cuadrículas de deformación que

representan cómo varía la morfología según los valores de RW2, encontramos que la morfología óptima para las especies lecitotróficas sin superfetación corresponde a cuerpos profundos y robustos (óptimo estimado = 0.017, IC del 95% = 0.005 - 0.028; [Figura 4a](#)). En contraste, la morfología óptima para las especies placentotróficas con superfetación corresponde a cuerpos notablemente más delgados (óptimo = -0.038, IC del 95% = -0.058 - -0.017). El óptimo estimado de RW2 para las especies lecitotróficas con superfetación fue ligeramente menos negativo (-0.020, IC del 95% = -0.040 - 0.001), lo que también indica una forma corporal delgada, aunque menos delgada que las especies con ambos rasgos reproductivos ([Figura 4a](#)). Sin embargo, los intervalos de confianza de los óptimos estimados de RW2 para estos dos regímenes selectivos se superpusieron, lo que indica que no hay diferencias estadísticas en la forma corporal entre estos dos modos reproductivos. Como era de esperarse, el valor óptimo de RW2 para las especies placentotróficas sin superfetación no se estimó correctamente debido al bajo número de datos que teníamos para este régimen selectivo (2 especies). La tasa de adaptación estimada (α) y la vida media filogenética ($t_{1/2}$) para RW2 derivadas del modelo de regímenes OU fueron de 8.6 y 8.1 millones de años, respectivamente ([Tabla 2](#)). Por lo tanto, después de un cambio evolutivo en el modo reproductivo, llevaría 16.2 millones de años para que la forma corporal (representada en RW2) se adapte a su nuevo óptimo primario. Esta cantidad de tiempo necesaria para que ocurra un cambio adaptativo representa el 28% de la longitud total de la filogenia (57 millones de años) y, por lo tanto, indica una fuerte inercia filogenética relativa en la forma corporal.

También en consonancia con nuestra predicción sobre los fenotipos hidrodinámicos en especies con placentotrofia y superfetación, el valor óptimo estimado del índice de fineza para este régimen selectivo fue el más alto (FI = 0.82, IC del 95% = 0.77 - 0.87; Figura 4b). El valor óptimo de FI para las especies lecitotróficas con superfetación también fue alto (FI = 0.79, IC del 95% = 0.74 - 0.84) y no fue estadísticamente diferente al de las especies con placentotrofia y superfetación, según sus intervalos de confianza superpuestos (Figura 4b). Estos valores altos de FI estimados para ambos regímenes corresponden a cuerpos más hidrodinámicos en comparación con las especies lecitotróficas sin superfetación, cuyo valor óptimo estimado de FI fue estadísticamente menor (FI = 0.72, CI = 0.69 - 0.74) e indica cuerpos menos hidrodinámicos. También en este caso, el valor óptimo de FI para las especies placentotróficas sin superfetación no se estimó correctamente ([Figura 4b](#)). Según nuestro modelo mejor respaldado (OU-regímenes; [Tabla 1](#)), $\alpha = 10.5$ y $t_{1/2} = 6.6$ millones de años ([Tabla 2](#)). Por lo tanto, aproximadamente se necesitan 13.2 millones de años para que el valor de FI pierda su valor ancestral después de un cambio evolutivo en el modo reproductivo. Esta cantidad de tiempo también indica una inercia filogenética relativamente fuerte en el grado de hidrodinamismo.

Tabla 1. Resultados de selección de modelos para siete variables morfológicas: RW1 = variable de forma 1, RW2 = variable de forma 2, FI = índice de fineza, BD = profundidad del cuerpo, PD = profundidad del pedúnculo, CFA = área de la aleta caudal y PA = área del pedúnculo. Mostramos las diferencias en los valores de AICc ($\Delta AICc$) entre cada modelo competidor y el modelo de mejor ajuste (indicado por $\Delta AICc = 0$). Los modelos con un fuerte respaldo ($\Delta AICc < 2$) se resaltan en negrita. El modelo que seleccionamos para cada característica morfológica se indica con un asterisco. Los modelos difieren en la variable predictora, así como en el modo de cambio evolutivo: BM = movimiento browniano y OU = Ornstein-Uhlenbeck.

Modelos	RW1	RW2	FI	BD	PD	CFA	PA
BM-una sola tendencia	0*	10	9	3	14	11	27
BM-regímenes	3	12	11	4	21	15	34
BM-salinidad	1	12	11	5	15	13	29
BM- velocidad del agua	3	12	10	5	16	13	30
BM-elevación	1	6	12	5	17	1*	10
OU-un óptimo	2	8	6	0*	0*	3	1*
OU-regímenes	6	0*	0*	3	0	5	7
OU-salinidad	3	10	6	3	0	6	2
OU-velocidad del agua	3	10	6	2	2	6	2
OU-elevación	4	6	8	2	1	0	0

En cuanto a las otras cinco variables morfológicas (RW1, BD, PD, CFA y PA), no encontramos evidencia de una evolución adaptativa impulsada por las diferentes combinaciones de presencia y ausencia de placentotrofía y superfetación. En el caso de RW1, tres modelos obtuvieron un fuerte respaldo ($\Delta AICc < 2$), siendo el modelo más parsimonioso el modelo BM solo con intercepto ([Tabla 1](#)), lo cual indica que RW1 evoluciona de manera aleatoria siguiendo un proceso de movimiento browniano sin la influencia de los regímenes de placentotrofía y superfetación. En cuanto a la profundidad corporal, el modelo con mayor respaldo fue el modelo OU solo con intercepto ([Tabla 1](#)), lo que indica un proceso adaptativo pero también sin la influencia de nuestros regímenes selectivos. Cuatro modelos proporcionaron un ajuste adecuado para la profundidad del pedúnculo. Entre estos modelos, el más simple indicó un proceso adaptativo hacia un óptimo (OU solo un intercepto), pero sin relación con los regímenes de placentotrofía y superfetación. En el caso del área del pedúnculo, dos modelos obtuvieron un fuerte respaldo ([Tabla 1](#)), siendo el más simple también el modelo OU de un intercepto.

Tabla 2 Estimaciones de parámetros derivadas del modelo evolutivo que proporcionó el mejor ajuste para cada uno de los siete rasgos morfológicos que analizamos, RW1 = variable de forma 1, RW2 = variable de forma 2, FI = índice de fineza, BD = profundidad del cuerpo, PD = profundidad del pedúnculo, CFA = área de la aleta caudal y PA = área del pedúnculo. Mostramos la tasa de adaptación (α), la semivida filogenética ($t_{1/2}$) y la cantidad de variación explicada por el modelo (R^2). Los modelos difieren en la variable predictora, así como en el modo de cambio evolutivo: BM = movimiento browniano y OU = Ornstein-Uhlenbeck.

Variable de respuesta	Modelos seleccionados	Tasa de adaptación (α)	Vida media filogenética ($t_{1/2}$)	R^2
RW1	BM-una tendencia	--	--	< 0.01
RW2	OU-regímenes	8.6	8.1	0.33
FI	OU-regímenes	10.5	6.6	0.30
BD	OU-un óptimo	101.8	0.7	< 0.01
PD	OU-un óptimo	13.1	5.3	< 0.01
CFA	BM-elevación	--	--	0.18
PA	OU-un óptimo	86.0	0.8	< 0.01

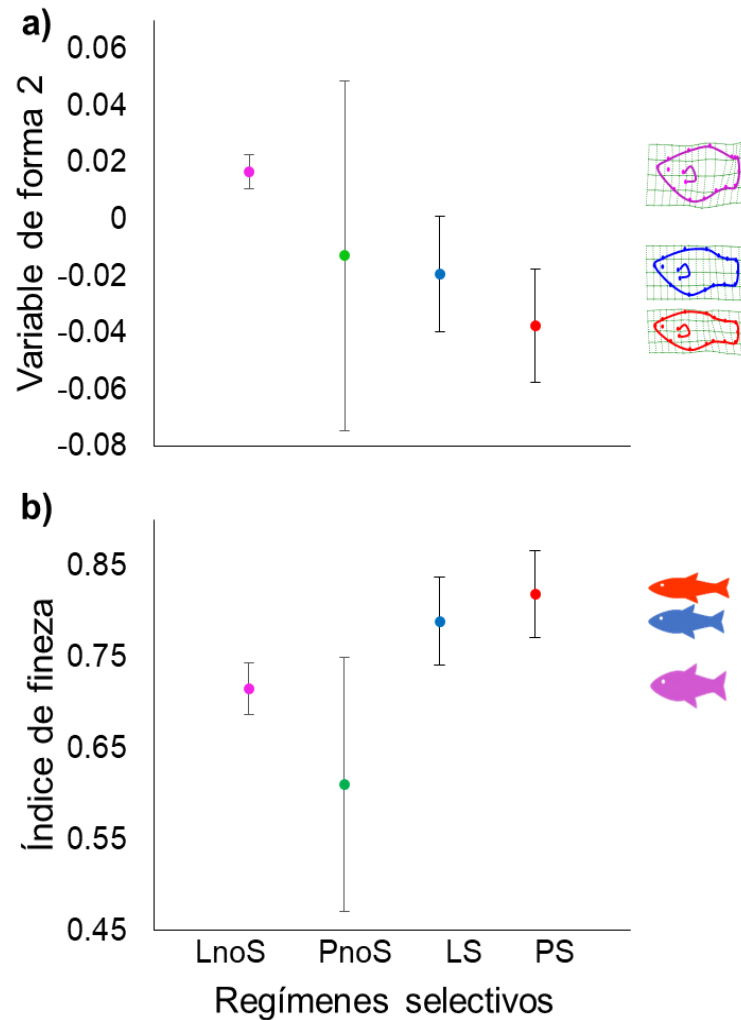


Figura 4 Valores óptimos estimados para: **a)** la forma corporal (variable de forma 2, RW2) y **b)** el grado de morfología hidrodinámica (índice de fineza, FI) según la presencia o ausencia de placentotrofia y superfetación. En los ejes x se representan cuatro regímenes selectivos: LnoS = lecitotrofia sin superfetación, PnoS = placentotrofia sin superfetación, LS = lecitotrofia con superfetación y PS = placentotrofia con superfetación. Las gradillas de deformación en **a)** muestran la forma corporal esperada para los diferentes valores óptimos de la variable de forma. En **b)** $FI \approx 1$ corresponde al grado máximo de aerodinámica. Las barras de error indican intervalos de confianza del 95%.

Solo en una característica morfológica detectamos un efecto de una variable ambiental. Específicamente, obtuvimos dos modelos con un fuerte respaldo para el área de la aleta caudal y ambos incluían el efecto de la elevación (modelos BM-elevación y OU-elevación; [Tabla 1](#)). Seleccionamos el modelo BM-elevación porque es más sencillo en comparación con el modelo OU-elevación (este último estima parámetros adicionales: α , $t_{1/2}$ y el factor de corrección filogenética, ρ ; ver Tabla S2). De acuerdo con la regresión evolutiva derivada del modelo BM-elevación, el área de la aleta caudal aumenta a medida que aumenta la elevación ([Figura 5](#)) y esta tendencia positiva ha seguido un proceso de movimiento browniano en el cual los cambios en el área de la aleta caudal se han acumulado gradualmente a lo largo del tiempo.

Las estimaciones de los parámetros derivados de los modelos seleccionados para las siete características morfológicas se muestran en la [Tabla 2](#). Además, en la Tabla complementaria S2 informamos las estimaciones de los parámetros de todos los modelos con un fuerte respaldo (es decir, todos los modelos con $\Delta AICc < 2$) para todas las características.

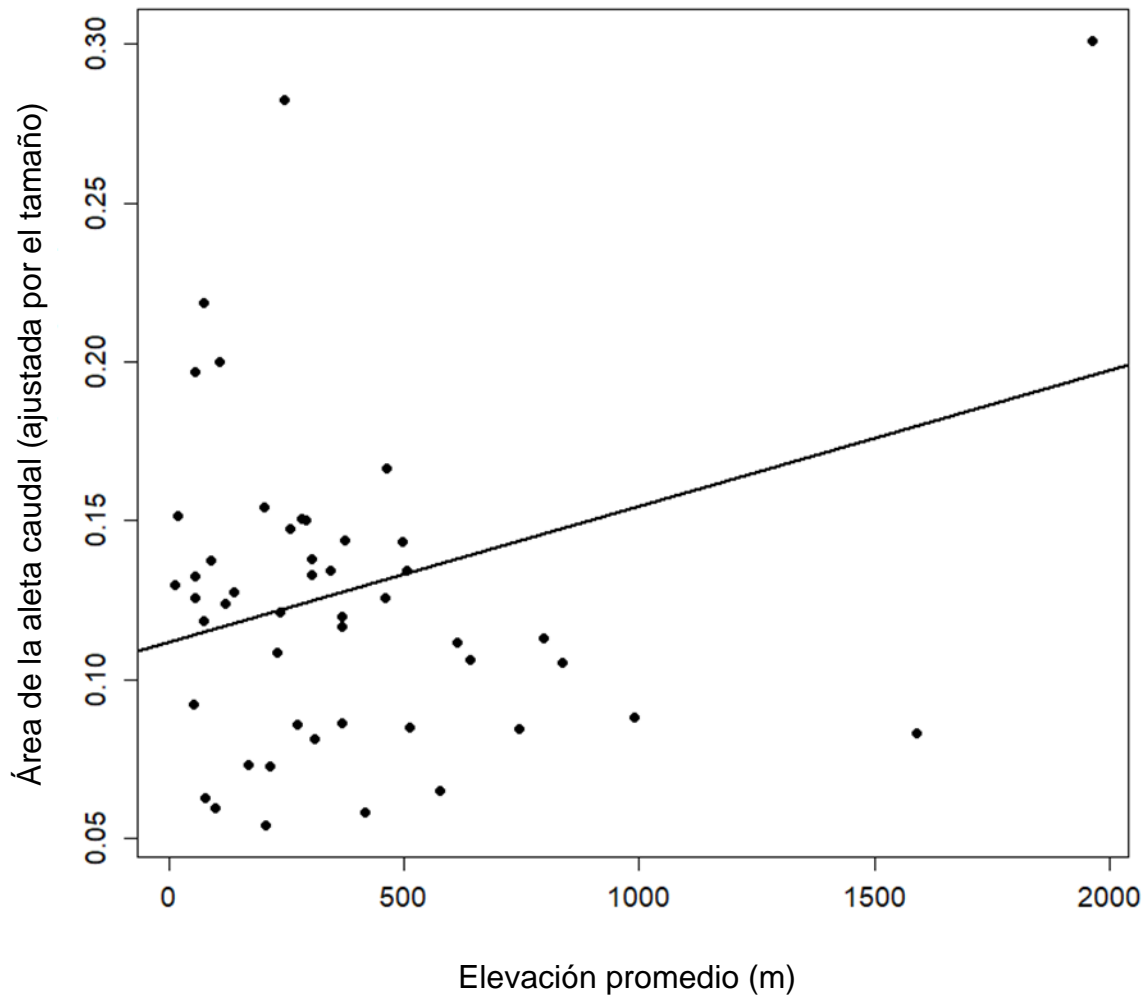


Figura 5 Regresión evolutiva del área de la aleta caudal (ajustada por el tamaño) en relación a la elevación promedio derivada de un modelo de cambio evolutivo mediante movimiento Browniano. Cada punto de datos representa una especie.

Discusión

Nos propusimos evaluar la hipótesis de la evolución convergente hacia estructuras morfológicas asociadas con ventajas locomotoras (es decir, cuerpos delgados e hidrodinámicos) en hembras de especies con placentotrofia y superfetación. Se ha postulado que la evolución de la placenta reduce la asignación reproductiva de las hembras, al menos en las primeras etapas de la gestación, ya que los óvulos maduros son pequeños antes de la fertilización (Pollux et al., 2009; Fleuren et al., 2018). Del mismo modo, se ha demostrado que la superfetación reduce la carga reproductiva al asignar recursos de manera diferencial entre las camadas en diferentes etapas de desarrollo (Pollux et al., 2009; Zúñiga-Vega et al., 2010; Fleuren et al., 2019). En otras palabras, asumiendo una fecundidad similar, la superfetación alivia la carga de llevar múltiples embriones grandes en etapas avanzadas (como en las hembras sin superfetación) al llevar en su lugar menos embriones grandes junto con embriones más pequeños en etapas tempranas. Además, se ha propuesto que la evolución conjunta de la placentotrofia y la superfetación en peces vivíparos ha ocurrido como respuesta a la necesidad de disminuir la carga reproductiva, por ejemplo, en lugares donde los peces deben nadar rápidamente para escapar de los depredadores o en ambientes de aguas rápidas (Thibault y Schultz, 1978; Pollux et al., 2009; Zúñiga-Vega et al., 2010; Fleuren et al., 2018). En este sentido, planteamos dos hipótesis. En la primera, asumimos que la placentotrofia y la superfetación, debido a su ventaja en reducir la asignación reproductiva, han impulsado la evolución de morfologías esbeltas e hidrodinámicas. En nuestra segunda hipótesis, predijimos que la ausencia de estas estrategias resultaría en cuerpos más robustos, atribuidos a la alta

asignación reproductiva de tener óvulos y embriones grandes del mismo tamaño. En consecuencia, las estructuras asociadas con la natación (aleta caudal y pedúnculo caudal) serían más grandes para impulsar un mayor peso y volumen.

Obtuvimos resultados sólidos que respaldan parcialmente la predicción de nuestra primera hipótesis. Según el mejor modelo para la componente morfológica 2, las hembras con placentotrofia y superfetación exhiben los cuerpos más esbeltos. Tener un cuerpo esbelto implica bajas fuerzas de resistencia, lo que potencialmente mejora el rendimiento en la natación (Pollux et al., 2009; Fleuren et al., 2018, 2019). Cabe destacar que las especies con superfetación pero sin placentotrofia también tienen morfologías esbeltas, lo que sugiere que la superfetación es el modo reproductivo que provoca grandes reducciones en la profundidad del cuerpo y distensión abdominal, mientras que la placentotrofia tiene un papel menos importante en estas morfologías esbeltas. En contraste, también según la componente morfológica 2, las especies lecitotróficas sin superfetación exhiben cuerpos robustos y profundos, lo que probablemente conlleva fuertes fuerzas de resistencia durante la natación. Este hallazgo implica un fuerte compromiso entre la locomoción y la reproducción para las especies que carecen tanto de placentotrofia como de superfetación (Ghalambor et al., 2004).

Además, las especies con placentotrofia y superfetación, así como las especies con lecitotrofia y superfetación, tienen una forma corporal más hidrodinámica que es claramente distinta de las especies lecitotróficas que carecen de superfetación. Una forma corporal hidrodinámica se caracteriza por valores de índice de fineza cercanos a 1 (Langerhans y Reznick, 2010), lo que

indica que la forma corporal de las especies con y sin placentotrofia pero con superfetación es fusiforme y alargada, lo que les permite minimizar las fuerzas de resistencia. También en el caso del índice de fineza, la presencia de superfetación es claramente más importante que la placentotrofia para promover la evolución convergente hacia un cuerpo más estrecho, incluso cuando se llevan crías en su interior.

Sorprendentemente, tanto para la componente morfológica 2 como para el índice de fineza, que representan formas corporales esbeltas e hidrodinámicas, respectivamente, esperábamos diferencias notables entre el régimen selectivo que involucra ambas características, debido a la influencia combinada de la placentotrofia y la superfetación en la asignación de recursos a los embriones en desarrollo (Pollux et al., 2009), y todas las demás combinaciones de presencia/ausencia de ambos modos reproductivos. Inesperadamente, nuestros resultados demuestran que la presencia de superfetación por sí sola puede ser un factor selectivo suficiente para desarrollar un cuerpo esbelto y más hidrodinámico, independientemente de la presencia de placentotrofia. Aunque predecíamos que la presencia de múltiples camadas y placentas complejas podían servir como adaptaciones para mejorar la eficiencia en la natación en las hembras grávidas modificando la forma corporal, el tener placentotrofia no resultó en cuerpos significativamente esbeltos en comparación con solo tener superfetación. Nuestra evidencia destaca que la

superfetación, en lugar de las placentas complejas, desempeña un papel hidrodinámicas.

Se ha demostrado claramente que las placentas complejas tienen un impacto en la morfología de las hembras, al menos durante las primeras etapas de la gestación. La especie placentotrófica *Poeciliopsis turneri* tiene una forma corporal más esbelta al comienzo de la gestación en comparación con la especie lecitotrófica *P. gracilis* (Fleuren et al., 2018). Sin embargo, esta diferencia morfológica disminuye hacia el final de la gestación. Aunque esta evidencia previa sugiere a nivel microevolutivo que la evolución de las placentas puede llevar a cuerpos esbeltos, nuestro estudio proporciona evidencia contrastante a escala macroevolutiva, mostrando que la placentotrofia en especies de la familia Poeciliidae no necesariamente resulta en cuerpos más esbeltos e hidrodinámicos, sino que la superfetación lo hace. En este sentido, nuestros hallazgos son consistentes con los obtenidos por Zúñiga-Vega et al. (2007) y Fleuren et al. (2019), quienes argumentan que la superfetación reduce la asignación de recursos en términos de distensión abdominal, ya que las hembras superfetantes nunca llevan muchos embriones grandes en etapas avanzadas, sino que dividen un único evento reproductivo en camadas más pequeñas, algunas de las cuales consisten en embriones en etapas tempranas. Por lo tanto, podemos concluir que la superfetación ejerce una influencia más fuerte en la forma corporal, favoreciendo y promoviendo la evolución de morfologías esbeltas e hidrodinámicas, más que la presencia de placentas complejas.

En cuanto a nuestra segunda hipótesis, nuestra predicción no fue confirmada. Recordemos que esperábamos estructuras corporales posteriores más grandes en especies lecitotróficas sin superfetación debido a la necesidad de impulsar un mayor peso y volumen corporal, pero no detectamos ningún efecto de nuestros regímenes selectivos en la profundidad, el área y la profundidad del pedúnculo caudal o el área de la aleta caudal. La falta de efecto en las estructuras posteriores, independientemente del régimen de placentotrofia o superfetación, se puede explicar por el hecho de que varios factores están involucrados en la locomoción de los peces y la biomecánica es compleja (Langerhans y Reznick, 2010). El pedúnculo caudal y la aleta caudal son características morfológicas importantes relacionadas con el tipo de natación inestable de los poecílidos, como lo indican estudios previos (Fisher et al., 2000; Langerhans, 2009). Por lo tanto, el tamaño de las estructuras posteriores puede estar más relacionado con las condiciones ambientales, como la presencia de depredadores o la velocidad del agua, que con la inversión reproductiva o la complejidad placentaria. Además, tenemos evidencia de que el tamaño de la aleta caudal está relacionado con un factor ambiental, pero no con los regímenes de placentotrofia y superfetación.

Específicamente, nuestro análisis corregido filogenéticamente indica que las aletas caudales más grandes tienden a ocurrir en elevaciones más altas. Furness et al. (2021) argumentaron que la baja elevación representa una mayor diversidad de especies, lo que significa más depredadores

potenciales. Una inversión grande en el período de gestación representa una carga para el rendimiento locomotor, lo que a su vez aumenta el riesgo de depredación (Jaramillo-Villa et al., 2010; Furness et al., 2021). En general, las hembras grávidas sufren costos locomotores elevados durante la natación constante y las respuestas de escape, lo que las hace más vulnerables a los depredadores (Ghalambor et al., 2004).

Se ha demostrado que *Gambusia affinis*, *Poecilia reticulata* y *Brachyrhaphis rhabdophora* presentan cuerpos hidrodinámicos bajo un alto riesgo de depredación (Langerhans y DeWitt, 2004). Por lo tanto, esperábamos encontrar un área de aleta caudal más grande, lo que implica una mayor propulsión en el agua necesaria para escapar de los depredadores, en ambientes de baja elevación con mayor presión de depredación. Sin embargo, encontramos el patrón opuesto: aletas caudales más grandes en elevaciones más altas (es decir, ríos de montaña). Los sitios de alta elevación son en muchos casos ambientes montañosos con pendientes pronunciadas y, por lo tanto, las corrientes de agua son más rápidas y fuertes que en los ambientes costeros (baja elevación) (Zúñiga-Vega et al., 2007). Una aleta caudal relativamente grande podría proporcionar una ventaja locomotora en esos entornos de flujo rápido. Si bien el tener una aleta caudal más grande puede favorecer la natación en estos sitios donde el agua es más rápida, nuestros resultados podrían estar sesgados por una especie, *Pseudoxiphophorus jonesii*, que tiene una aleta caudal significativamente más grande y habita las elevaciones más altas (Figura 5). Por lo tanto, la asociación

observada entre el tamaño de la aleta caudal y la elevación es inconclusa y debe interpretarse con precaución.

En resumen, nuestros hallazgos demuestran que el modo reproductivo particular ha desempeñado un papel significativo en la conformación de la forma corporal de los peces vivíparos. Nuestros resultados indican que las especies lecitotróficas sin superfetación presentan formas corporales robustas, lo que sugiere que estas especies experimentan un severo compromiso entre la inversión reproductiva y el rendimiento locomotor. Además, nuestra evidencia también demuestra que a pesar de las evidencias previas que sugieren que la placentotrofia puede reducir la distensión abdominal al menos durante las primeras etapas de la gestación (Fleuren et al., 2019), a escala macroevolutiva, la placentotrofia no parece ser un impulsor significativo de cuerpos esbeltos e hidrodinámicos. Por lo tanto, podemos concluir que la presencia de superfetación por sí sola es suficiente para la evolución de formas corporales esbeltas, que se asocian con un mejor rendimiento en la natación, incluso cuando se llevan embriones internamente. En general, nuestros hallazgos tienen implicaciones significativas para comprender la evolución convergente de la morfología en peces vivíparos impulsada por estrategias reproductivas distintas.

Referencias

- Blackburn, D.G. 1992. Convergent evolution of viviparity, matrotrophy, and specializations for fetal nutrition in reptiles and other vertebrates. *Integr. Comp. Biol.* **32**: 313–321.
- Blackburn, D.G. 2015. Evolution of vertebrate viviparity and specializations for fetal nutrition: A quantitative and qualitative analysis. *J. Morphol.* **276**: 961–990.
- Blake, R.W. 2004. Fish functional design and swimming performance. *J. Fish Biol.* **65**: 1193–1222.
- Burnham, K.P. y Anderson, D.R. 2002. *Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach*, 2nd ed. Springer New York, New York.
- Butler, M.A. y King, A.A. 2004. Phylogenetic comparative analysis: A modelling approach for adaptive evolution. *Am. Nat.* **164**: 683–695.
- Fisher, R., Bellwood, D.R. y Job, S.D. 2000. Development of swimming abilities in reef fish larvae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **202**: 163–173.
- Fleuren, M., Quicazan-Rubio, E.M., van Leeuwen, J.L. y Pollux, B.J.A. 2018. Why do placentas evolve? Evidence for a morphological advantage during pregnancy in live-bearing fish. *PLoS One* **13**: 1–15.
- Fleuren, M., Van Leeuwen, J.L. y Pollux, B.J.A. 2019. Superfetation reduces the negative effects of pregnancy on the fast-start escape performance in live-bearing fish. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **286**.
- Frías-Alvarez, P. y Zúñiga-Vega, J.J. 2016. Superfetation in live-bearing fishes is not always the result of a morphological constraint. *Oecologia* **181**: 645–658.
- Furness, A.I., Avise, J.C., Pollux, B.J.A., Reynoso, Y. y Reznick, D.N. 2021. The evolution of the placenta in poeciliid fishes. *Curr. Biol.* **31**: 2004-2011.e5. Elsevier Ltd.
- Furness, A.I., Pollux, B.J.A., Meredith, R.W., Springer, M.S. y Reznick, D.N. 2019. How conflict shapes evolution in poeciliid fishes. *Nat. Commun.* **10**: 1–12.
- García-Cabello, K.N., Fuentes-González, J.A., Saleh-Subaie, N., Pienaar, J. y Zúñiga-Vega, J.J. 2022. Increased superfetation precedes the evolution of advanced degrees of placentotrophy in viviparous fishes of the family Poeciliidae. *Biol. Lett.* **18**.

- Ghalambor, C.K., Reznick, D.N. y Walker, J.A. 2004. Constraints on adaptive evolution: The functional trade-off between reproduction and fast-start swimming performance in the Trinidadian guppy (*Poecilia reticulata*). *Am. Nat.* **164**: 38–50.
- Grabowski, M., Voje, K.L. y Hansen, T.F. 2016. Evolutionary modelling and correcting for observation error support a 3/5 brain-body allometry for primates. *J. Hum. Evol.* **94**: 106–116.
- Haas, T.C., Heins, D.C. y Blum, M.J. 2015. Predictors of body shape among populations of a stream fish (*Cyprinella venusta*, Cypriniformes: Cyprinidae). *Biol. J. Linn. Soc.* **115**: 842–858.
- Hagmayer, A., Furness, A.I., Reznick, D.N., Dekker, M.L. y Pollux, B.J.A. 2020. Predation risk shapes the degree of placentation in natural populations of live-bearing fish. *Ecol. Lett.* 0–10.
- Hamlett, W.C. 2005. Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids and Chimaeras (1st ed.). CRC Press.
- Hansen, T.F. 1997. Stabilizing Selection and the Comparative Analysis of Adaptation. *Evolution* **51**: 1341.
- Hansen, T.F., Pienaar, J. y Orzack, S.H. 2008. A comparative method for studying adaptation to a randomly evolving environment. *Evolution* **62**: 1965–1977.
- Hückstädt, L.A., Holser, R.R., Tift, M.S. y Costa, D.P. 2018. The extra burden of motherhood : reduced dive duration associated with pregnancy status in a deep-diving mammal, the northern elephant seal. *Biol. Lett.* **14**.
- Ives, A.R., Midford, P.E. y Garland, T. 2007. Within-species variation and measurement error in phylogenetic comparative methods. *Syst. Biol.* **56**: 252–270.
- James, R.S. y Johnston, I.A. 1998. Influence of spawning on swimming performance and muscle contractile properties in the short-horn sculpin. *J. Fish Biol.* **53**: 485–501.
- Jaramillo-Villa, U., Maldonado-Ocampo, J.A. y Escobar, F. 2010. Altitudinal variation in fish assemblage diversity in streams of the central Andes of Colombia. *J. Fish Biol.* **76**: 2401–2417.
- Kwan, L., Fris, M., Rodd, F.H., Rowe, L., Tuhela, L. y Panhuis, T.M. 2015. An examination of the variation in maternal placentae across the genus *Poeciliopsis* (Poeciliidae). *J. Morphol.* **276**: 707–720.

- Labra, A., Pienaar, J. y Hansen, T.F. 2009. Evolution of thermal physiology in *Liolaemus* lizards: Adaptation, phylogenetic inertia, and niche tracking. *Am. Nat.* **174**: 204–220.
- Langerhans, R.B. 2009. Trade-off between steady and unsteady swimming underlies predator-driven divergence in *Gambusia affinis*. *J. Evol. Biol.* **22**: 1057–1075.
- Langerhans, R.B., Layman, C.A., Langerhans, A.K. y Dewitt, T.J. 2003. Habitat-associated morphological divergence in two Neotropical fish species. *Biol. J. Linn. Soc.* **80**: 689–698.
- Langerhans, R.B. y Reznick, D.N. 2010. Ecology and evolution of swimming performance in fishes: Predicting evolution with biomechanics. In: *Fish Locomotion: An Eco-ethological Perspective* (P. Domenici, ed), pp. 200–248. CRC Press.
- Lauder, G. V. y Tytell, E.D. 2005. Hydrodynamics of undulatory propulsion. In: *Fish Physiology*, Vol. 23, pp. 425–468. Academic Press.
- Lighthill, M.J. 1975. *Mathematical biofluid dynamics*. Cambridge Press, Cambridge.
- Magnhagen, C. 1991. Predation Risk as a Cost of Reproduction. *Trends Ecol. Evol.* **6**: 183–186.
- Marsh-Matthews, E. 2011. Matrotrophy. In: *Ecology and Evolution of Poeciliid Fishes* (J. P. Evans, A. Pilastro, y I. Schlupp, eds), pp. 18–27. The University of Chicago Press, Chicago.
- Mclaughlin, R.L. y Grant, J.W.A. 1994. Morphological and behavioural differences among recently-emerged brook charr, *Salvelinus fontinalis*, foraging in slow- vs. fast-running water. *Environ. Biol. Fishes* **39**: 289–300.
- Miles, D.B., Sinervo, B. y Frankino, W.A. 2000. Reproductive burden, locomotor performance, and the cost of reproduction in free ranging lizards. *Evolution* **54**: 1386–1395.
- Mossman, H.W. 1991. Comparative morphogenesis of the fetal membranes and accessory uterine structures. *Placenta* **12**: 1–5.
- Noren, S.R., Redfern, J. V. y Edwards, E.F. 2011. Pregnancy is a drag: Hydrodynamics, kinematics and performance in pre-and post-parturition bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *J. Exp. Biol.* **214**: 4151–4159.
- Olivera-Tlahuel, C., Moreno-Mendoza, N.A., Villagrán-Santa Cruz, M. y Zúñiga-Vega, J.J. 2019. Placental structures and their association with matrotrophy and superfetation in poeciliid fishes. *Acta Zool.* **100**: 167–181.

- Ostrovsky, A.N., Lidgard, S., Gordon, D.P., Schwaha, T., Genikhovich, G. y Ereskovsky, A. V. 2016. Matrotrophy and placentation in invertebrates : a new paradigm. *Biol. Rev.* **91**: 673–711.
- Pienaar, J., Kopperud, B.T., Voje, K.L., Orzack, S.H. y Hansen, T.F. 2020. SLOUCH: stochastic linear Ornstein-Uhlenbeck models for comparative hypotheses.
- Pires, M.N., Arendt, J. y Reznick, D.N. 2010. The evolution of placentas and superfetation in the fish genus *Poecilia* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae: Subgenera *Micropoecilia* and *Acanthophaelus*). *Biol. J. Linn. Soc.* **99**: 784–796.
- Pires, M.N. y Reznick, D.N. 2018. Life-history evolution in the fish genus *Poecilia* (Poeciliidae: Cyprinodontiformes: Subgenus *Pamphorichthys*): An evolutionary origin of extensive matrotrophy decoupled from superfetation. *Biol. J. Linn. Soc.* **125**: 547–560.
- Plaut, I. 2002. Does pregnancy affect swimming performance of female Mosquitofish, *Gambusia affinis*? *Funct. Ecol.* **16**: 290–295.
- Pollux, B., Meredith, R., Springer, M., Garland, T. y Reznick, D. 2014. The evolution of the placenta drives a shift in sexual selection in livebearing fish. *Nature* **513**: 233–236.
- Pollux, B., Pires, M., Banet, A. y Reznick, D. 2009. Evolution of placentas in the fish family Poeciliidae: An empirical study of macroevolution. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **40**: 271–289.
- Quicazan-Rubio, E.M., Van Leeuwen, J.L., Van Manen, K., Fleuren, M., Pollux, B.J.A. y Stamhuis, E.J. 2019. Coasting in live-bearing fish: The drag penalty of being pregnant. *J. R. Soc. Interface* **16**: 20180714.
- R Core Team. 2022. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Reznick, D. y Miles, D. 1989. A review of life history patterns in Poeciliid fishes. In: *Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae)* (G. Meffe y F. F. Snelson, eds), pp. 125–148. Englewood Cliffs, NJ Prentice Hall.
- Reznick, D.N., Furness, A.I., Meredith, R.W. y Springer, M.S. 2017. The origin and biogeographic diversification of fishes in the family Poeciliidae. *PLoS One* **12**: 1–20.
- Reznick, D.N., Mateos, M. y Springer, M.S. 2002. Independent origins and rapid evolution of the placenta in the fish genus *Poeciliopsis*. *Science* **298**: 1018–1020.

- Reznick, D.N., Travis, J., Pollux, B.J.A. y Furness, A.I. 2021. Reproductive mode and conflict shape the evolution of male attributes and rate of speciation in the fish family Poeciliidae. *Front. Ecol. Evol.* **9**: 1–20.
- Rodewald, A.D. y Foster, S.A. 1998. Effects of gravidity on habitat use and antipredator behaviour in three-spined sticklebacks. *J. Fish. Biol.* **52**: 973–984.
- Rohlf, F.J. 2017a. TpsDig2. Version 2.31. Stony Brook NY: Department of Ecology and Evolution, State University of New York.
- Rohlf, F.J. 2017b. TpsRelw32. Version 1.75. Stony Brook NY: Department of Ecology and Evolution, State University of New York.
- Rubio-Gracia, F., García-Berthou, E., Guasch, H., Zamora, L. y Vila-Gispert, A. 2020. Size-related effects and the influence of metabolic traits and morphology on swimming performance in fish. *Curr. Zool.* **66**: 493–503.
- Salido, C.A. y Vicente, N.S. 2019. Sex and refuge distance influence escape decision in a *Liolaemus* lizard when it is approached by a terrestrial predator. *Behaviour* **156**: 909–925.
- Schneider, C.A., Rasband, W.S. y Eliceiri, K.W. 2012. *NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis*. *Nat. Methods* **9**: 671–675.
- Shaffer, L.R. y Formanowicz, D.R. 1996. A cost of viviparity and parental care in scorpions: reduced sprint speed and behavioural compensation. *Anim. Behav.* **51**: 1017–1024.
- Sinervo, B., Hedges, R. y Adolph, S.C. 1991. Decreased sprint speed as a cost of reproduction in the lizard *Sceloporus occidentalis*: variation among populations. *J. Exp. Biol.* **155**: 323–336.
- Skalkos, Z.M.G., Dyke, J.U. Van y Whittington, C.M. 2023. Distinguishing between embryonic provisioning strategies in teleost fishes using a threshold value for parentotrophy. *Biomolecules* **13**: 1–15.
- Speakman, J.R. 2007. The physiological costs of reproduction in small mammals. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **363**: 375–398.
- Thibault, R.E. y Schultz, R.J. 1978. Reproductive adaptations among viviparous fishes (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Evolution* **32**: 320–333.
- Turner, C.L. 1937. Reproductive cycles and superfetation in poeciliid fishes. *Biol. Bull.* **72**: 145–164.

- Walker, J., Ghalambor, C., Griset, O. y Reznick, D. 2005. Do faster starts increase the probability of evading predators? *Funct. Ecol.* **19**: 808–815.
- Wourms, J.P. 1981. Viviparity: The maternal-fetal relationship in fishes. *Integr. Comp. Biol.* **21**: 473–515.
- Zelditch, M., Swiderski, D., Sheets, H. y Fink, W. 2012. *Geometric Morphometrics for Biologists (Second Edition)*. Academic Press, Londres.
- Zúñiga-Vega, J., Reznick, D.N. y Johnson, J.B. 2007. Habitat predicts reproductive superfetation and body shape in the livebearing fish *Poeciliopsis turrubarensis*. *Oikos* **116**: 995–1005.
- Zúñiga-Vega, J., Suárez-Rodríguez, M., Espinosa-Pérez, H. y Johnson, J.B. 2011. Morphological and reproductive variation among populations of the Pacific molly *Poecilia butleri*. *J. Fish Biol.* **79**: 1029–1046.
- Zúñiga-Vega, J.J., Macías-García, C. y Johnson, J.B. 2010. Hypotheses to explain the evolution of superfetation in viviparous fishes. In: *Viviparous fishes II* (M. C. Uribe y H. J. Grier, eds), pp. 13–30. New Life Publications, Homestead, Florida.
- Zúñiga-Vega, J.J., Olivera-Tlahuel, C. y Molina-Moctezuma, A. 2017. Superfetation increases total fecundity in a viviparous fish regardless of the ecological context. *Acta Oecologica* **84**: 48–56.

Material suplementario y apéndices

Tabla S1. Valores promedio del índice de matrotrofia (MI) y el grado de superfetación (Sup) para 48 especies de peces de la familia Poeciliidae. También mostramos nuestra categorización de cada especie en una de las cuatro categorías de presencia/ausencia de placentotrofia y superfetación (nuestros regímenes selectivos): (1) lecitotrofia sin superfetación, (2) placentotrofia sin superfetación, (3) lecitotrofia con superfetación y (4) placentotrofia con superfetación. También mostramos los valores promedio y la variación intraespecífica correspondiente (ME = error de medición) para siete variables morfológicas: RW1 = variable de forma 1, RW2 = variable de forma 2, FI = índice de fineza, BD = profundidad corporal, PD = profundidad del pedúnculo, CFA = área de la aleta caudal y PA = área del pedúnculo. Finalmente, informamos si cada especie habita ambientes con agua lenta (0) o rápida (1), así como la elevación promedio.

Species	MI	Sup	Regimes	RW1	ME_RW1	RW2	ME_RW2	BD	(size ME BD adjusted)	(size PD adjusted)	(size ME PD adjusted)	(size PA adjusted)	(size PA adjusted)	(size ME PA adjusted)	(size CFA adjusted)	(size ME CFA adjusted)	FI	ME_FI	Fast_water	Salt_water	Mean elevation
<i>Afana_cultivatus</i>	0.68	1	1	-0.093	0.000008	0.071	0.00001	0.30	0.0005	0.18	0.000178	0.14	0.000099	0.13	0.000144	0.75	0.00033	1	0	58	
<i>Beinaxoxa_virens</i>	0.70	1	1	-0.075	0.000021	-0.010	0.00003	0.17	0.0042	0.36	0.000030	0.16	0.000039	0.20	0.000389	0.67	0.00035	0	1	107	
<i>Berythrinops_hydrophilus</i>	0.66	1	1	-0.083	0.000009	-0.003	0.00002	0.32	0.0018	0.20	0.000295	0.13	0.000169	0.13	0.000169	0.70	0.00021	0	0	201	
<i>Carulobas_hildneri</i>	0.86	1	1	0.019	0.000018	-0.031	0.00002	0.32	0.0035	0.20	0.000400	0.21	0.000019	0.22	0.000334	0.71	0.00029	0	0	506	
<i>Gambusia_affinis</i>	0.43	1,2	3	-0.029	0.000018	-0.031	0.00002	0.32	0.0035	0.20	0.000400	0.21	0.000019	0.22	0.000334	0.71	0.00029	0	0	76	
<i>Gambusia_eurasiatica</i>	0.58	1	1	-0.044	0.000010	0.011	0.00001	0.30	0.0000	0.16	0.000029	0.07	0.000011	0.06	0.000185	0.76	0.00014	0	1	77	
<i>Gambusia_nozzagaris</i>	0.76	1	1	-0.026	0.000009	0.037	0.00001	0.33	0.0007	0.19	0.000192	0.15	0.000099	0.20	0.000156	0.68	0.00014	0	0	56	
<i>Gambusia_saradana</i>	0.82	1	1	-0.028	0.000035	0.063	0.00004	0.32	0.0069	0.22	0.000649	0.08	0.000039	0.13	0.000649	0.69	0.00058	0	1	55	
<i>Gambusia_vittata</i>	0.77	1	1	-0.047	0.000012	-0.014	0.00001	0.32	0.0023	0.19	0.000267	0.07	0.000013	0.12	0.000216	0.69	0.00019	0	1	76	
<i>Gambusia_vittata</i>	0.53	1	1	-0.037	0.000019	0.052	0.00002	0.29	0.0044	0.14	0.000437	0.06	0.000021	0.07	0.000300	0.76	0.00012	0	0	216	
<i>Pseudocyclophorus_bimaculatus</i>	0.82	1	1	0.027	0.000009	0.069	0.00002	0.28	0.0038	0.42	0.000437	0.06	0.000021	0.07	0.000300	0.76	0.00012	0	0	52	
<i>Herandira_fornosa</i>	37.63	6,25	4	0.008	0.000021	-0.039	0.00003	0.31	0.0042	0.18	0.000480	0.11	0.00010	0.17	0.000162	0.72	0.00015	0	1	464	
<i>Pseudocyclophorus_jonesii</i>	0.88	1	1	0.015	0.000009	0.020	0.00002	0.28	0.0019	0.20	0.000192	0.25	0.000099	0.30	0.000156	0.79	0.00015	0	0	13	
<i>Phialothys_ammatus</i>	0.54	1	1	0.071	0.000013	0.007	0.00002	0.33	0.0066	0.22	0.000300	0.20	0.000099	0.28	0.000243	0.67	0.00022	0	0	1961	
<i>Poecilia_burteri</i>	2.31	1	2	0.019	0.000010	-0.019	0.00001	0.34	0.0019	0.16	0.000218	0.12	0.000011	0.13	0.000177	0.65	0.00016	0	1	305	
<i>Poecilia_gilli</i>	0.83	1	1	0.019	0.000009	-0.012	0.00001	0.29	0.0018	0.19	0.000269	0.12	0.000010	0.12	0.000169	0.77	0.00015	0	1	237	
<i>Poecilia_lipmanii</i>	1.52	1	2	0.102	0.000008	-0.003	0.00001	0.34	0.0015	0.20	0.000178	0.10	0.000009	0.15	0.000144	0.66	0.00013	0	1	21	
<i>Poecilia_mexicana</i>	0.73	1	1	0.018	0.000007	-0.035	0.00001	0.31	0.0014	0.21	0.000160	0.15	0.000008	0.15	0.000130	0.72	0.00012	0	1	284	
<i>Microgocella_reticulata</i>	0.67	1	1	0.018	0.000012	-0.023	0.00001	0.29	0.0023	0.16	0.000267	0.09	0.000013	0.11	0.000216	0.77	0.00019	0	1	231	
<i>Poecilia_sphenops</i>	0.64	1	1	0.027	0.000011	0.000	0.00001	0.31	0.0022	0.19	0.000253	0.13	0.000012	0.14	0.000205	0.73	0.00018	0	1	486	
<i>Poeciliopsis_baenschi</i>	1.01	1,60	4	-0.045	0.000007	-0.008	0.00001	0.26	0.0044	0.15	0.000166	0.07	0.000008	0.06	0.000134	0.87	0.00012	1	0	578	
<i>Poeciliopsis_babais</i>	0.77	1,48	3	-0.020	0.000018	-0.028	0.00002	0.31	0.0055	0.19	0.000400	0.13	0.000019	0.11	0.000334	0.72	0.00029	0	0	798	
<i>Poeciliopsis_catenata</i>	0.84	2,10	3	-0.008	0.000021	-0.029	0.00003	0.27	0.0042	0.16	0.000480	0.16	0.000023	0.09	0.000389	0.82	0.00035	0	0	770	
<i>Poeciliopsis_fasciata</i>	0.70	1,55	3	-0.042	0.000011	-0.012	0.00001	0.26	0.0021	0.17	0.000240	0.07	0.000012	0.08	0.000195	0.87	0.00017	1	0	310	
<i>Poeciliopsis_gracilis</i>	0.68	1,52	3	-0.008	0.000009	-0.030	0.00001	0.54	0.0018	0.24	0.000269	0.10	0.000010	0.11	0.000169	0.71	0.00015	0	0	642	
<i>Poeciliopsis_milnari</i>	0.91	1,75	3	-0.011	0.000011	-0.025	0.00001	0.29	0.0021	0.14	0.000240	0.10	0.000010	0.11	0.000169	0.76	0.00017	0	0	980	
<i>Poeciliopsis_njans</i>	0.92	1,64	4	-0.022	0.000014	-0.045	0.00001	0.28	0.0016	0.13	0.000240	0.10	0.000010	0.11	0.000169	0.75	0.00017	0	0	2650	
<i>Poeciliopsis_njans</i>	1.05	1,66	3	-0.052	0.000014	-0.045	0.00001	0.28	0.0016	0.13	0.000240	0.10	0.000010	0.11	0.000169	0.75	0.00017	0	0	2650	
<i>Poeciliopsis_njans</i>	1.35	2,55	4	0.022	0.000019	0.007	0.00002	0.31	0.0038	0.21	0.000437	0.12	0.000021	0.14	0.000334	0.72	0.00013	0	1	303	
<i>Poeciliopsis_njans</i>	1.11	1,70	4	-0.011	0.000018	-0.032	0.00002	0.27	0.0035	0.10	0.000400	0.12	0.000019	0.08	0.000334	0.83	0.00029	0	0	744	
<i>Poeciliopsis_occidentalis</i>	14.04	2,03	4	-0.007	0.000014	-0.044	0.00002	0.26	0.0028	0.18	0.000320	0.14	0.000016	0.11	0.000259	0.87	0.00023	1	0	835	
<i>Poeciliopsis_paucimaculata</i>	0.50	1,35	3	-0.012	0.000024	-0.007	0.00003	0.28	0.0046	0.19	0.000534	0.11	0.000026	0.12	0.000432	0.79	0.00038	0	0	370	
<i>Poeciliopsis_prestidans</i>	64.31	2,17	4	-0.063	0.000021	-0.005	0.00003	0.29	0.0042	0.17	0.000480	0.08	0.000023	0.07	0.000389	0.78	0.00035	0	1	170	
<i>Poeciliopsis_prolifera</i>	10.71	3,59	4	-0.065	0.000007	-0.027	0.00001	0.25	0.0013	0.15	0.000150	0.06	0.000007	0.06	0.000122	0.89	0.00011	0	1	58	
<i>Poeciliopsis_retrorsa</i>	81.27	1,60	4	-0.005	0.000009	-0.036	0.00001	0.28	0.0017	0.22	0.000192	0.14	0.000009	0.15	0.000156	0.78	0.00014	0	0	259	
<i>Poeciliopsis_turneri</i>	74.67	2,67	4	-0.041	0.000013	-0.016	0.00002	0.28	0.0024	0.18	0.000282	0.07	0.000016	0.13	0.000259	0.79	0.00023	0	0	416	
<i>Poeciliopsis_turnerensis</i>	0.99	2,04	3	-0.019	0.000015	0.000	0.00002	0.27	0.0030	0.12	0.000320	0.11	0.000016	0.13	0.000259	0.79	0.00023	0	1	139	
<i>Poeciliopsis_intermedia</i>	0.62	1	1	0.011	0.000005	0.045	0.00001	0.35	0.0000	0.23	0.000144	0.10	0.000011	0.15	0.000093	0.82	0.00008	1	0	513	
<i>Poeciliopsis_ohmeae</i>	0.76	1	1	0.011	0.000010	0.052	0.00001	0.35	0.0000	0.21	0.000229	0.12	0.000011	0.15	0.000185	0.64	0.00017	1	0	203	
<i>Priapichthys_annemans</i>	0.64	1	1	0.011	0.000009	0.014	0.00001	0.32	0.0007	0.20	0.000200	0.11	0.000010	0.11	0.000162	0.71	0.00015	0	0	274	
<i>Xenodexa_crenolaps</i>	5.38	4,13	4	0.004	0.000021	-0.052	0.00003	0.25	0.0042	0.17	0.000480	0.11	0.000023	0.09	0.000389	0.90	0.00035	1	0	375	
<i>Xiphophorus_helleri</i>	0.64	1	1	0.063	0.000008	-0.029	0.00001	0.32	0.0016	0.17	0.000185	0.10	0.000009	0.14	0.000156	0.69	0.00013	0	0	274	
<i>Xiphophorus_maculatus</i>	0.84	1	1	0.109	0.000010	0.054	0.00001	0.41	0.0020	0.27	0.000240	0.08	0.000011	0.14	0.000156	0.55	0.00017	0	0	90	
<i>Xiphophorus_multilineatus</i>	0.48	1	1	0.090	0.000018	0.023	0.00002	0.33	0.0035	0.20	0.000400	0.13	0.000019	0.13	0.000185	0.68	0.00019	0	0	461	
<i>Xiphophorus_nigricans</i>	0.75	1	1	0.086	0.000011	-0.004	0.00001	0.33	0.0021	0.22	0.000240	0.09	0.000012	0.12	0.000195	0.67	0.00017	1	0	321	
<i>Xiphophorus_pymmeus</i>	0.92	1	1	0.058	0.000011	-0.008	0.00001	0.30	0.0022	0.18	0.000253	0.09	0.000012	0.12	0.000205	0.75	0.00018	1	0	368	

Tabla S2. Estimaciones de parámetros derivadas de los modelos evolutivos que presentaron un ajuste adecuado (modelos con $\Delta AICc < 2$ en la Tabla 1) para cada una de las siete características morfológicas que analizamos: RW1 = variable relativa 1, RW2 = variable relativa 2, FI = índice de fineza, BD = profundidad corporal, PD = profundidad del pedúnculo, CFA = área de la aleta caudal, y PA = área del pedúnculo. Mostramos la tasa de adaptación (α), la semivida filogenética ($t_{1/2}$), la cantidad de variación explicada por el modelo (R^2) y, en el caso de los modelos con una variable predictora continua, el factor de corrección filogenética (ρ). Los modelos difieren en la variable predictora, así como en el modo de cambio evolutivo: BM = movimiento browniano y OU = Ornstein-Uhlenbeck.

Variable de respuesta	Modelos	Tasa de adaptación (α)	Vida media filogenética ($t_{1/2}$)	R^2	Factor de corrección filogenético (ρ)
RW1	BM- una tendencia	--	--	< 0.01	--
	BM-salinidad	--	--	0.031	--
	BM-elevación	--	--	0.005	--
RW2	OU-regímenes	8.59	8.1	0.33	--
FI	OU-regímenes	10.52	6.6	0.30	--
BD	OU-un intercepto	101.78	0.7	< 0.01	--
PD	OU-un intercepto	13.06	5.3	< 0.01	--
	OU- regímenes	57.38	1.2	0.15	--
	OU-salinidad	13.36	5.2	0.047	0.87
	OU-elevación	59.32	1.2	0.048	0.97
CFA	BM-elevación	--	--	0.17	--
	OU-elevación	3.58	19.4	0.13	0.57
PA	OU-un intercepto	85.97	0.8	< 0.01	--
	OU-elevación	103.26	0.7	0.065	0.98

CAPÍTULO 4

Posible diversificación de las estructuras genitales masculinas en respuesta a la placentotrofia y la superfetación en una familia de peces vivíparos

Karla N. García-Cabello, Maren G. Callaway, Jerald B. Johnson y

J. Jaime Zúñiga-Vega

Sometido en *Biological Journal of the Linnean Society* (Septiembre 2023)
Artículo en proceso de revisión por lo que está sujeto a cambios

Resumen

El conflicto en la naturaleza actúa como una fuerza impulsora que conduce a la diversificación de estructuras y comportamientos, incluyendo aspectos relacionados con los órganos reproductivos. Este estudio explora cómo estrategias reproductivas específicas, como la placentotrofia y la superfetación, influyen en la evolución de las estructuras gonopodiales masculinas dentro de la diversa familia de los Poeciliidae. Mientras que las expectativas previas apuntaban a tasas de diversificación más altas en especies que exhibían tanto placentotrofia como superfetación, nuestros resultados ofrecen una perspectiva diferente.

Sorprendentemente, las especies lecitotróficas sin superfetación mostraron tasas elevadas de diversificación en la profundidad del gonopodio y la longitud relativa del gonopodio. Esto sugiere la existencia de dos tácticas de apareamiento distintas dentro de estas especies, una que involucra comportamiento de cortejo y otra de comportamiento coercitivo, lo que lleva a la diversificación morfológica a través del conflicto. Por otro lado, la longitud del gonopodio fue principalmente influenciada por la presencia de superfetación, con las especies que emplean esta estrategia reproductiva mostrando consistentemente gonopodios más largos. De manera similar, el número de serras en los gonopodios fue significativamente mayor en especies con superfetación, lo que indica su papel en garantizar el éxito copulatorio ante el aumento de la competencia entre machos. En conclusión, aunque el vínculo esperado entre la placentotrofia y la superfetación y la diversificación gonopodial no se confirmó completamente, nuestro estudio destaca el papel central de la superfetación en impulsar la evolución de las estructuras gonopodiales entre las especies de peces vivíparos.

1. Introducción

El conflicto en la naturaleza actúa como un impulsor que conduce, entre otras cosas, a la diversificación de estructuras y comportamientos (Huntingford y Turner, 1987; Gavrilets, 2000). Estos conflictos pueden surgir debido a la competencia por recursos limitados o resultados; esto último se refiere al hecho de que las consecuencias pueden afectar la aptitud o el éxito reproductivo de los individuos. Por lo general, la competencia por los resultados surge cuando los intereses inmediatos de quienes participan en el conflicto son divergentes. En muchos casos, un individuo se beneficia a expensas del otro (Huntingford y Turner, 1987). Por ejemplo, la relación depredador-presa y el desarrollo de mecanismos de defensa para evitar ser devorado conducen a una carrera armamentista (Dawkins y Krebs, 1979; Abrams, 1986). Del mismo modo, el conflicto ha motivado el desarrollo de estructuras y comportamientos relacionados con la reproducción, afectando directamente rasgos importantes de la selección sexual (Chapman et al., 2003).

Según el escenario de conflicto, la competencia entre los sexos por el control de las decisiones reproductivas puede impulsar la coevolución de rasgos sexuales masculinos y femeninos (Eberhard, 1985; Arnqvist, 1997). Los sexos están involucrados en un proceso coevolutivo en el que las hembras evolucionan continuamente para disminuir la tasa de apareamiento, mientras que los machos evolucionan constantemente para aumentarla (Gavrilets, 2000). El conflicto sexual implica una lucha evolutiva entre los sexos para maximizar sus intereses reproductivos, lo que puede dar lugar a conflictos en las decisiones de

apareamiento y fertilización (Parker, 1979). En los insectos, existe evidencia de que los machos manipulan internamente el esperma de otros machos dentro de la hembra para inducir el uso de su propio esperma para la fertilización, incluso si va en contra de los intereses de la hembra (Eberhard, 1997). Las características agresivas de los machos y la resistencia de las hembras crean una situación de conflicto que impulsa patrones de selección de pareja a través de una carrera armamentista entre los sexos, favoreciendo la diversificación evolutiva de estrategias reproductivas en ambos sexos (Langerhans, 2011; Wang et al., 2015). A menudo, estas estrategias resultan en coerción sexual masculina, un conjunto de rasgos conductuales y morfológicos que mejoran la aptitud masculina pero disminuyen la elección de pareja de las hembras. Algunas estrategias conductuales de coerción sexual incluyen la cópula forzada, el acoso o la intimidación (Parker y Clutton-Brock, 1995; Watson-Capps, 2009). El conflicto sexual establecido como resultado de estas estrategias masculinas para asegurar la cópula promueve la adaptación de las hembras para abordar este conflicto. Es probable que evolucionen mecanismos como la elección crítica de las hembras, que les permite influir en el uso del esperma y prevenir la poliespermia durante la selección sexual postcópula (Eberhard, 1996a; Hosken y Stockley, 2004). Así como la presencia de algunas estructuras placentarias complejas. Las placentas complejas permiten a las hembras regular y asignar recursos de manera más selectiva, lo que significa que tienen más influencia sobre cuáles embriones

reciben más recursos y cuáles reciben menos (Pollux et al., 2014; Furness et al., 2019; Reznick et al., 2021).

Uno de los patrones más emocionantes en la evolución fenotípica es la rápida divergencia en las morfologías genitales masculinas entre especies que se reproducen mediante fertilización interna (Hosken y Stockley, 2004). Típicamente, en especies que participan en la fertilización interna, los machos poseen estructuras genitales complejas diseñadas para la intromisión. Estas estructuras muestran una variación significativa tanto dentro de las especies como entre individuos (Eberhard, 1985). La evolución de las estructuras genitales está asociada con el proceso de reproducción, y en este escenario, la selección sexual desempeña un papel en la formación de su evolución y potencialmente en su diversificación (Arnqvist, 1997). La evolución de rasgos reproductivos a través de la selección sexual se ha examinado en el contexto de la selección críptica, la competencia espermática y la teoría del conflicto entre los sexos (Arnqvist y Thornhill, 1998; Hosken y Stockley, 2004). Cada escenario propone diferentes mecanismos por los cuales la selección sexual puede dar forma o causar la divergencia genital. De esta manera, el conflicto moldea propiedades específicas de la morfología de algunas estructuras sexuales y comportamientos relacionados con el apareamiento en los machos (Parker, 1979). Así, la coerción sexual y la cópula forzada promueven carreras armamentistas entre los sexos (Parker y Clutton-Brock, 1995). Se ha explicado que la selección sexual postcópula impulsa la rápida evolución de la estructura genital en diferentes taxones (Arnqvist y Rowe, 2005; Hotzy et al., 2012).

La familia Poeciliidae es un grupo diverso que proporciona un excelente modelo para estudiar cómo el conflicto puede impulsar la evolución de la morfología, el comportamiento y diferentes estrategias en ambos machos y hembras. Además, muestran diversidad en el modo de alimentación materna (Reznick et al., 2021) y una alta variación interespecífica en los atributos masculinos relacionados con la selección sexual y las estrategias de apareamiento. Dentro de la familia, existe un continuo de transferencia de nutrientes de la hembra a los embriones en desarrollo, que va desde la deposición de nutrientes en forma de yema antes de la fertilización (lecitotrofia) hasta la transferencia de nutrientes a los embriones durante el desarrollo gestacional (placentotrofia) (Pollux et al., 2009; Marsh-Matthews, 2011).

Algunas especies de esta familia también muestran superfetación, que es la capacidad de llevar múltiples camadas de crías en diferentes etapas de desarrollo (Turner, 1937). El número de camadas que las hembras pueden llevar (grado de superfetación) varía ampliamente entre especies y poblaciones (Zúñiga-Vega, Reznick y Johnson, 2007; Zúñiga-Vega, Macías-García y Johnson, 2010; Zúñiga-Vega, Olivera-Tlahuel y Molina-Moctezuma, 2017; Frías-Alvarez et al., 2014). La superfetación está correlacionada con un mayor grado de placentación en esta familia (Pollux et al., 2009, 2014; García-Cabello et al., 2022).

Los machos de las especies de poecílicos emplean diversas estrategias, que van desde el cortejo hacia las hembras hasta el uso de la

coerción para iniciar intentos de apareamiento. Estas tácticas coevolucionan junto con sus estructuras genitales (Langerhans, 2011; Martin et al., 2013; Wang et al., 2015). Los machos tienen una estructura genital no retráctil llamada gonopodio. Esta estructura resulta de la modificación de la aleta anal (Rosen y Bailey, 1963) y varía (es decir, tamaño diferente, número y tamaño de las estructuras en la punta distal) ampliamente entre y dentro de las especies (Eberhard, 1996b; Hosken y Stockley, 2004). Cabe destacar que el tamaño de los gonopodios se ha asociado con diferentes comportamientos (por ejemplo, los machos de guppies con gonopodios alargados tienden a realizar intentos de cópula forzada con mayor frecuencia; Reynolds et al., 1993). Por el contrario, los machos que poseen gonopodios más cortos tienden a exhibir un comportamiento de exhibición más alto en diferentes especies de peces poecílidos (Reynolds et al., 1993). Esta asociación entre el tamaño del gonopodio y el comportamiento de apareamiento puede explicarse por el conflicto sexual, ya que los gonopodios más largos permiten a los machos alcanzar a las hembras y evitar la elección de pareja de las hembras para asegurar la cópula exitosa (Evans et al., 2011; Gasparini et al., 2011). Además, se ha demostrado que la longitud relativa del gonopodio aumenta según aumenta el nivel de placentotrofia, proporcionando evidencia de una conexión entre gonopodios más largos y la presencia de provisión materna post-fertilización (Pollux et al., 2014; Reznick et al., 2021).

Además de la longitud del gonopodio, otras estructuras en la punta distal del gonopodio participan en el proceso de cópula, ya sea a través del cortejo o de la cópula sigilosa (Rosen y Gordon, 1953; Eberhard, 1996; Hosken y Stockley,

2004; Greven, 2005; Langerhans, 2011). Estas estructuras, como garras, ganchos, sierras y espinas, tienen funciones relacionadas con la transferencia de esperma a través de procesos mecánicos en algunas especies y también pueden servir para sujetar a la hembra durante la cópula (Evans et al., 2011; Kwan et al., 2013). Además, se ha sugerido que las espinas también tienen una función táctil, actuando como receptores sensoriales debido a la elaborada inervación del gonopodio (por ejemplo, *Xiphophorus helleri*) (Rosen y Gordon, 1953; Rosen y Tucker, 1961), mientras que los ganchos y sierras permiten un contacto prolongado durante la cópula (Clark et al., 1954).

Debido a que la placentotrofia y la superfetación parecen ser mecanismos que favorecen la selección sexual postcópula y promueven el conflicto entre los sexos, planteamos la hipótesis de que los machos de especies que exhiben placentotrofia y superfetación tendrán tasas de diversificación más altas en las estructuras de sus gonopodios en comparación con los machos de especies lecitotróficas sin superfetación. Para abordar esto, utilizamos fotografías digitales de las estructuras en la punta distal del gonopodio de machos de 39 especies de la familia Poeciliidae. Exploramos la hipótesis anterior estimando y comparando la tasa de diversificación evolutiva de la morfología del gonopodio entre especies placentotróficas con superfetación y especies lecitotróficas con y sin superfetación, utilizando un método comparativo filogenético. Este estudio representa una contribución significativa al conocimiento de la

diversificación genital, particularmente como consecuencia del conflicto surgido por la presencia de placentotrofia, superfetación y selección sexual postcópula en peces vivíparos.

2. Material y métodos

2.1 Placentotrofia y superfetación

Los datos sobre placentotrofia y superfetación se obtuvieron de la literatura. El índice de matrotrofia (MI) representa una estimación del nivel de placentotrofia y se define como el peso en seco de las crías al nacer dividido por el peso en seco de los huevos en el momento de la fertilización (Reznick et al., 2002; Marsh-Matthews, 2011). Las especies con valores de MI <1 se clasifican como lecitotróficas. En tales casos, la mayor parte de la inversión materna en la nutrición de los embriones se realiza antes de la fertilización y los embriones pierden peso en seco durante el desarrollo debido a los costos metabólicos (Wourms, 1981). Las especies con valores de MI >1 se clasifican como placentotróficas, ya que los embriones aumentan su peso en seco porque reciben recursos directamente de la madre durante el desarrollo. Convertimos el MI en una característica binaria que indica su presencia o ausencia. Si el MI era mayor o igual a 1, lo consideramos presente (1) y ausente (0) si era menor que 1. En cuanto a la superfetación, cuando una especie tiene múltiples camadas superpuestas, la consideramos presente (1). Cuando las hembras producen solo una camada, la consideramos ausente (0) o, en otras palabras, careciendo de superfetación. Dado que nuestro objetivo era investigar las consecuencias de la placentotrofia y la superfetación en la diversificación de las estructuras gonopodiales, clasificamos nuestras especies

en cuatro categorías: 1) lecitotróficas sin superfetación, 2) lecitotróficas con superfetación, 3) placentotróficas con superfetación y 4) placentotróficas sin superfetación, aunque no teníamos especies en esta última categoría.

2.2 Caracterización de las estructuras morfológicas de los gonopodios

Cuantificamos las tasas de diversificación de los gonopodios en machos de 39 especies de peces vivíparos pertenecientes a la familia Poeciliidae. Esto se logró mediante la caracterización de las estructuras en la punta distal del gonopodio.

Utilizamos machos conservados de dos colecciones de museos: el Museo de Ciencias de la Vida Monte L. Bean de Brigham Young y la Colección Nacional de Peces del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Nuestra muestra total consistió en 406 machos adultos. Para cada macho, tomamos fotografías del perfil lateral (lado izquierdo) del cuerpo y del gonopodio.

Utilizamos un trípode y una cámara adaptada para mantener una distancia consistente del pez en todas las fotografías del cuerpo, incluyendo una escala en cada imagen. Las estructuras en la punta distal del gonopodio se fotografiaron utilizando un microscopio Olympus MVX10 equipado con el software Olympus cellSens Standard.

Medimos la longitud estándar, la longitud del gonopodio y las estructuras morfológicas en la punta distal a partir de las imágenes digitales utilizando el software ImageJ (Schneider et al., 2012). Cada medición se realizó en triplicado. La longitud estándar (SL) se midió desde la punta del hocico hasta la inserción del pedúnculo caudal ([Figura 1A](#)).

La longitud del gonopodio (GL) se midió desde la intersección entre la base del gonopodio y el cuerpo hasta la punta del gonopodio ([Figura 1B](#)). Calculamos la longitud relativa del gonopodio (RGL) para cada macho para considerar la relación alométrica entre el gonopodio y el cuerpo mediante la razón de la longitud del gonopodio con respecto a la longitud estándar. Medimos la profundidad de la punta distal (GD) del gonopodio trazando una línea desde la base del radio 3 hasta el punto más alto del radio 5 ([Figura 1C](#)). Dado que las sierras tienen funciones importantes y específicas, como la estabilización y el anclaje del tejido de unión cuando el gonopodio se mueve hacia adelante (Rosen y Gordon, 1953), contamos el número de sierras (NS), medimos la altura de las sierras (SH) y calculamos la altura promedio (SHmean) y la altura máxima de las sierras (SHMax, [Figura 1C](#)). A pesar de que las diferentes estructuras de los gonopodios sirven para diferentes funciones (por ejemplo, las garras ayudan en la transferencia de esperma, las espinas tienen funciones táctiles, los ganchos permiten un contacto gonopodial más prolongado con las hembras; Rosen y Tucker, 1961; Peden, 1972; Greven, 2005; Kwan et al., 2013), solo utilizamos las sierras porque son una característica compartida entre 34 de nuestras 39 especies (es decir, las otras estructuras ocurren en menos especies).

2.3 Análisis de componentes principales filogenéticos

Para analizar la variación fenotípica de los gonopodios teniendo en cuenta las relaciones evolutivas entre las especies, realizamos un análisis de componentes principales filogenéticos (pPCA, por sus siglas en inglés) utilizando el paquete Phytools (Revell, 2012) en el entorno R versión 4.2.0 (R Core Team, 2022). El

pPCA analiza la variación fenotípica en un contexto filogenético y reduce la dimensionalidad y complejidad de rasgos correlacionados. Integra información sobre las relaciones evolutivas entre las especies en un análisis de componentes principales (PCA) (Revell, 2009). Para este análisis, utilizamos 34 especies que poseían todos los rasgos estudiados. En consecuencia, realizamos el pPCA para cinco rasgos gonopodiales: profundidad del gonopodio (GD), longitud relativa del gonopodio (RGL), número de sierras (NS), altura máxima de las sierras (SHMax) y altura promedio de las sierras (SHmean). Los dos primeros componentes principales tuvieron eigenvalores mayores que 1 (PC1 = 2.8 y PC2 = 1.1). El PC1 tuvo altos *loadings* (>0.6 en cuatro de cinco variables; profundidad del gonopodio = 0.73, número de sierras = 0.64, altura máxima de las sierras = 0.95 y altura promedio de las sierras = 0.92). Por lo tanto, consideramos que el PC1 es una medida de la complejidad de la punta del gonopodio que indica que los gonopodios más profundos tienen un mayor número de sierras, y estas sierras son más altas. El PC2 solo tuvo una variable con *loading* alto (longitud del gonopodio). Por lo tanto, no consideramos este segundo componente principal y en su lugar analizamos la longitud relativa del gonopodio por separado. Posteriormente, utilizamos las puntuaciones del primer componente principal (PC1) en nuestro análisis comparativo. El pPCA reveló una alta inercia filogenética entre los rasgos ($\lambda = 0.74$), lo que indica una fuerte similitud estructural entre especies relacionadas.

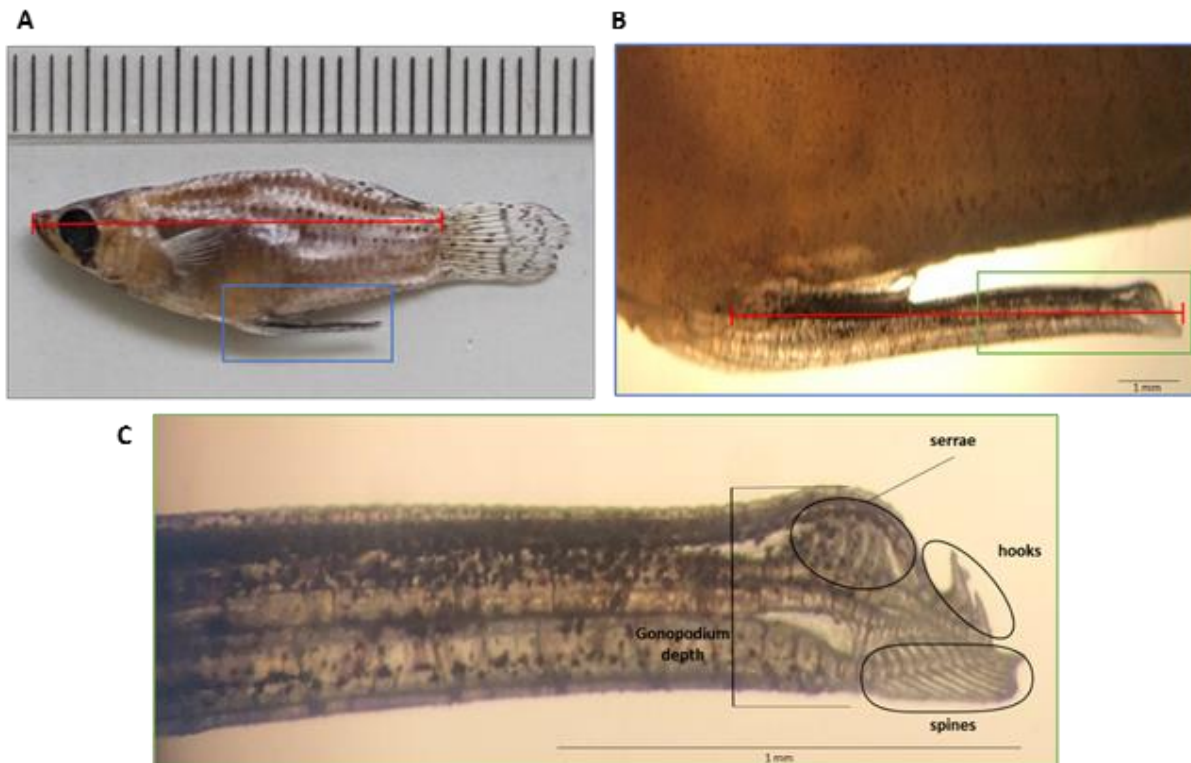


Figura 1 **A**, Fotografía de un macho adulto de *Gambusia yucatanana*, la línea roja representa la longitud estándar (SL). **B**, vista lateral del gonopodio, la línea roja representa su longitud. **C**, vista lateral de la punta distal del gonopodio que indica la ubicación de las sierras, ganchos, espinas, así como la profundidad del gonopodio (GD).

2.4 Análisis comparativos

Dado que nuestro objetivo principal era evaluar las tasas de diversificación fenotípica en las estructuras gonopodiales en respuesta a las condiciones de superfecundación y placentotrofia, utilizamos un método filogenético que nos permitió calcular y comparar las tasas de cambio evolutivo y diversificación en rasgos estructurales bajo diferentes regímenes de superfecundación y placentotrofia. Recordemos que establecimos cuatro regímenes considerando combinaciones de

la presencia/ausencia de ambos rasgos: 1) lecitotrofia sin superfetación, 2) lecitotrofia con superfetación y 3) placentotrofia con superfetación, y 4) placentotrofia sin superfetación, aunque no teníamos especies en esta última categoría. Para llevar a cabo este análisis, utilizamos el paquete R OUwie v.2.4 (Beaulieu y O'Meara, 2016; R Core Team, 2022). OUwie examina si los rasgos evolucionan siguiendo un proceso de evolución adaptativa de Ornstein-Uhlenbeck generado por selección natural estabilizadora o, en contraste, un proceso de evolución por movimiento Browniano, que puede resultar de deriva genética o selección direccional fluctuante (Beaulieu et al., 2012). Los parámetros estimados por OUwie mediante máxima verosimilitud incluyen tasas evolutivas (σ^2), la fuerza de la selección estabilizadora (α) y los óptimos de los rasgos (θ). Para aplicar OUwie, utilizamos el árbol filogenético junto con la reconstrucción de estados ancestrales basados en nuestros regímenes selectivos específicos. Utilizamos el filogenia fechada de la familia Poeciliidae de Reznick et al. (2017), que recortamos para incluir solo nuestras 39 especies de estudio. Además, integramos información específica de las especies, incluyendo los regímenes selectivos (es decir: 1) lecitotrofia sin superfetación, 2) lecitotrofia con superfetación y 3) placentotrofia con superfetación), los valores de las estructuras gonopodiales (es decir, profundidad del gonopodio: GD, longitud relativa del gonopodio: RGL, número de sierras: NS, altura máxima de las sierras: SHMax y altura promedio de las sierras: SHmean), y las puntuaciones del PC1. Para mitigar la incertidumbre de los valores promedio de las mediciones gonopodiales, consideramos la variación intraespecífica. De acuerdo con Ives et al. (2007), Labra et al. (2009) y Grabowski et al. (2016), para cada rasgo gonopodial, calculamos una varianza común entre

las especies utilizando las varianzas muestrales de cada especie, ponderadas por sus tamaños de muestra correspondientes. Posteriormente, estimamos la variación intraespecífica para cada especie dividiendo esta varianza común por su tamaño de muestra.

2.5. Conjunto de modelos

Para evaluar si existen diferencias en las tasas evolutivas de cada una de las estructuras gonopodiales entre los diferentes regímenes de placentación y superfetación, primero implementamos dos modelos de movimiento Browniano por separado para cada rasgo gonopodial y el PC1. El primero fue el modelo más simple, BM1, que no permite que la tasa de diversificación (σ^2) varíe, y el segundo modelo fue el movimiento Browniano multirate (BMS), que asigna una tasa de diversificación diferente para cada régimen de placentotrofia y superfetación.

Además, asumiendo que los rasgos estructurales del gonopodio han experimentado selección estabilizadora hacia valores óptimos que dependen (o no) del régimen de placentotrofia y superfetación, evaluamos para cada estructura si la evolución ocurrió siguiendo un único óptimo evolutivo para todas las especies (OU1) o con valores óptimos diferentes para los diferentes regímenes de placentotrofia y superfetación (OU_M) y el mismo α y σ^2 para todas las especies. De igual manera, probamos otro modelo que permite valores óptimos diferentes (θ) y establece la misma tasa de diversificación (σ^2) entre los regímenes de superfetación y placentotrofia, manteniendo constante la tasa de adaptación (α) (OU_{MV}). Además, implementamos otros dos modelos más; uno permitió la variación en los valores óptimos (θ) y la tasa de adaptación (α) entre los

regímenes de superfetación y placentotrofia, manteniendo constante la tasa de diversificación (σ^2) (OU_{MA}), y el último modelo permitió que los valores óptimos (θ), la tasa de adaptación (α) y la tasa de diversificación (σ^2) varíen entre los regímenes selectivos de placentotrofia y superfetación (OU_{MVA}). Las trayectorias evolutivas (es decir, los valores óptimos de cada rasgo) se basaron en los regímenes selectivos de placentotrofia y superfetación. Empleamos el criterio de información de Akaike ajustado para muestras pequeñas (AICc) para evaluar el ajuste de todos los modelos (Burnham y Anderson 2002). Para identificar el modelo mejor ajustado, comparamos sus puntuaciones AICc y elegimos aquel con la puntuación más baja. Sin embargo, seleccionamos el modelo más simple si dos o más modelos tenían puntuaciones AICc similares (dentro de dos unidades del modelo principal, $\Delta AICc < 2$).

3. Resultados

Para la profundidad del gonopodio, tres modelos proporcionaron un ajuste adecuado ([Tabla 1](#)). El modelo más simple y, por lo tanto, seleccionado (BMS) indica que la profundidad del gonopodio se diversifica de manera diferente para cada régimen de placentotrofia y superfetación. Las especies lecitotróficas sin superfetación tienen la tasa de diversificación más alta ($\sigma^2 = 0.12$; EE ± 0.29), mientras que las especies lecitotróficas con superfetación tienen una tasa más baja ($\sigma^2 = 0.18$; EE ± 0.49), y las placentotróficas con superfetación tienen la tasa de diversificación más baja ($\sigma^2 = 0.011$; EE ± 0.74) para la profundidad del gonopodio.

Para la longitud relativa del gonopodio, dos modelos proporcionaron un ajuste adecuado (OU_{MV} y OU_{MA} ; [Tabla 1](#)). El modelo OU_{MV} describe que la longitud relativa de los gonopodios evoluciona hacia diferentes óptimos según los regímenes de placentotrofia y superfetación ([Figura 2A](#)), 1) lecitotrofia sin superfetación ($\theta = 0.26$; IC del 95% = 0.22-0.29), 2) lecitotrofia con superfetación ($\theta = 0.36$; IC del 95% = 0.33-0.40) y 3) placentotrofia con superfetación ($\theta = 0.33$; IC del 95% = 0.32-0.34). Además, las longitudes relativas de los gonopodios tienen diferentes tasas de diversificación para cada régimen ([Tabla 2](#)): 1) la lecitotrofia sin superfetación tiene la tasa de diversificación más alta ($\sigma^2 = 0.25$; EE ± 0.67), 2) lecitotrofia con superfetación tiene una tasa de diversificación más baja ($\sigma^2 = 0.12$; EE ± 0.60) y 3) placentotrofia con superfetación tiene la tasa de diversificación más baja ($\sigma^2 = 0.02$; EE ± 0.78). Sin embargo, la incertidumbre en estas estimaciones es alta (i.e. errores estándar grandes). Por el contrario, el segundo modelo igualmente respaldado, OU_{MA} , tiene una sola tasa de diversificación para los tres regímenes, mientras que cada régimen evoluciona hacia un óptimo diferente ([Figura 2B](#)). Los óptimos para los diferentes regímenes en este modelo OU_{MA} son similares a las estimaciones del modelo OU_{MV} ([Tabla 2](#)).

Para la altura media de las sierras (SHmean), el modelo que mejor se ajustó fue BM1 ([Tabla 1](#)). Este modelo indica que no hay variación en las tasas de diversificación entre los distintos regímenes de placentotrofia y superfetación. En consecuencia, este modelo estimó una sola tasa de diversificación ($\sigma^2 = 0.002$). Para la altura máxima de las sierras (SHMax), el modelo seleccionado fue el modelo de Ornstein-Uhlenbeck más simple (OU_1 ; [Tabla 1](#)), que asume que el

tamaño de las sierras evoluciona hacia un solo óptimo ($\theta = 0.12$). Este modelo también estimó la fuerza de la selección estabilizadora ($\alpha = 5.72$).

El modelo OUM proporcionó el mejor ajuste para el número de sierras (Tabla 1). Este modelo describe diferentes óptimos entre los regímenes (Figura 2C): 1) lecitotrofia sin superfetación ($\theta = 7.55$; IC del 95% = 6.15-9), 2) lecitotrofia con superfetación ($\theta = 11.98$; IC del 95% = 9.44-14.53) y 3) placentotrofia con superfetación ($\theta = 11.36$; IC del 95% = 8.77-13.96), aunque con una sola σ^2 y α para todos los regímenes (Tabla 2). Esto indica que el número de sierras evoluciona siguiendo diferentes óptimos a pesar de tener la misma tasa de diversificación ($\sigma^2 = 100$).

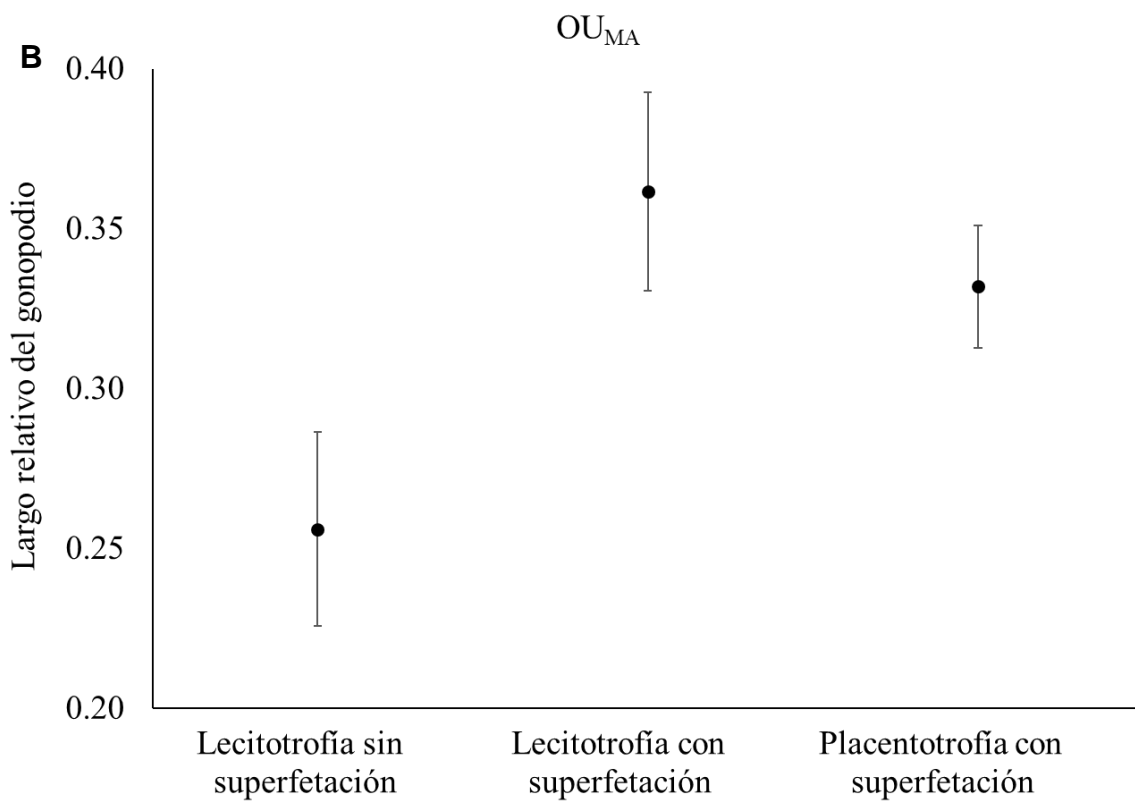
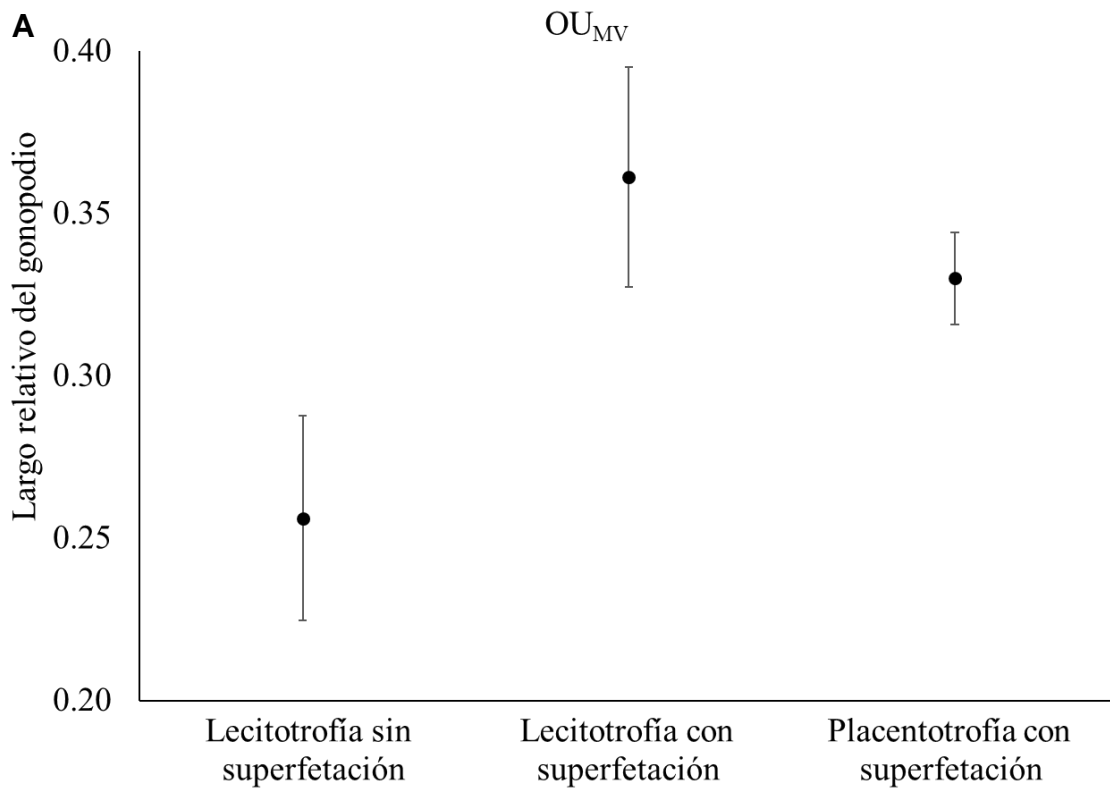
Finalmente, surgieron dos modelos mejor ajustados para explicar el proceso evolutivo del conjunto de características morfológicas combinadas en el PC1 (profundidad del gonopodio, número de sierras, altura máxima de las sierras y altura media de las sierras: Tabla 1). El modelo seleccionado fue BM1, que muestra la falta de variación en las tasas de diversificación entre los distintos regímenes de placentotrofia y superfetación. Por lo tanto, este modelo estimó una sola tasa de diversificación ($\sigma^2 = 4.55$).

Tabla 1 Resultados de selección de modelos para diferentes rasgos del gonopodio, incluyendo un componente principal (PC1) que combina cuatro rasgos (profundidad del gonopodio, número de sierras, altura máxima de las sierras y altura media de las sierras). Mostramos las diferencias en las puntuaciones de AICc entre cada modelo y el modelo de mejor ajuste ($\Delta AICc$). Los modelos con un fuerte respaldo ($\Delta AICc < 2$) se resaltan en negrita y el asterisco indica el modelo que seleccionamos para cada rasgo. Consulte la sección 2.5 para obtener una descripción detallada de los modelos.

Modelo	Ancho del gonopodio	Largo relativo del gonopodio	Largo promedio de las sierras	Alto máximo de las sierras	Número de sierras	PC1
BM1	7.51	20.04	0*	3.19	7.31	1.81*
BMS	0*	14.90	2.7	6.43	9.96	4.49
OU1	9.86	13.97	2.16	0*	2.77	0
OU_M	7.84	7.53	5.25	4.43	0*	4.62
OU_{MV}	1.04	0*	9.07	9.33	5.89	8.49
OU_{MA}	2.82	0.5*	9	7.17	3.13	8.82
OU_{MVA}	1.30	6.04	8.41	1.44	10.58	6.83

Tabla 2 Estimaciones de parámetros (óptimos del rasgo: θ , tasa de adaptación: α y tasas de diversificación: σ^2) derivadas de los modelos seleccionados para la longitud relativa del gonopodio y el número de sierras. Los errores estándar para las tasas de diversificación se muestran entre paréntesis.

Estructura	Modelo	Parámetros	Lecitotrofia sin superfetación	Lecitotrofia con superfetación	Placentotrofia con superfetación
Largo relativo del gonopodio	OU _{MV}	θ	0.26	0.36	0.33
		α	24.84	24.84	24.84
		σ^2	0.25 (\pm 0.67)	0.12 (\pm 0.60)	0.01 (\pm 0.78)
Largo relativo del gonopodio	OU _{MA}	θ	0.26	0.36	0.33
		α	25.78 (\pm 0.20)	24.73 (\pm 0.20)	22.42 (\pm 0.22)
		σ^2	0.24	0.24	0.24
Número de sierras	OU _M	θ	7.55	11.98	11.36
		α	7.95	7.95	7.95
		σ^2	100	100	100



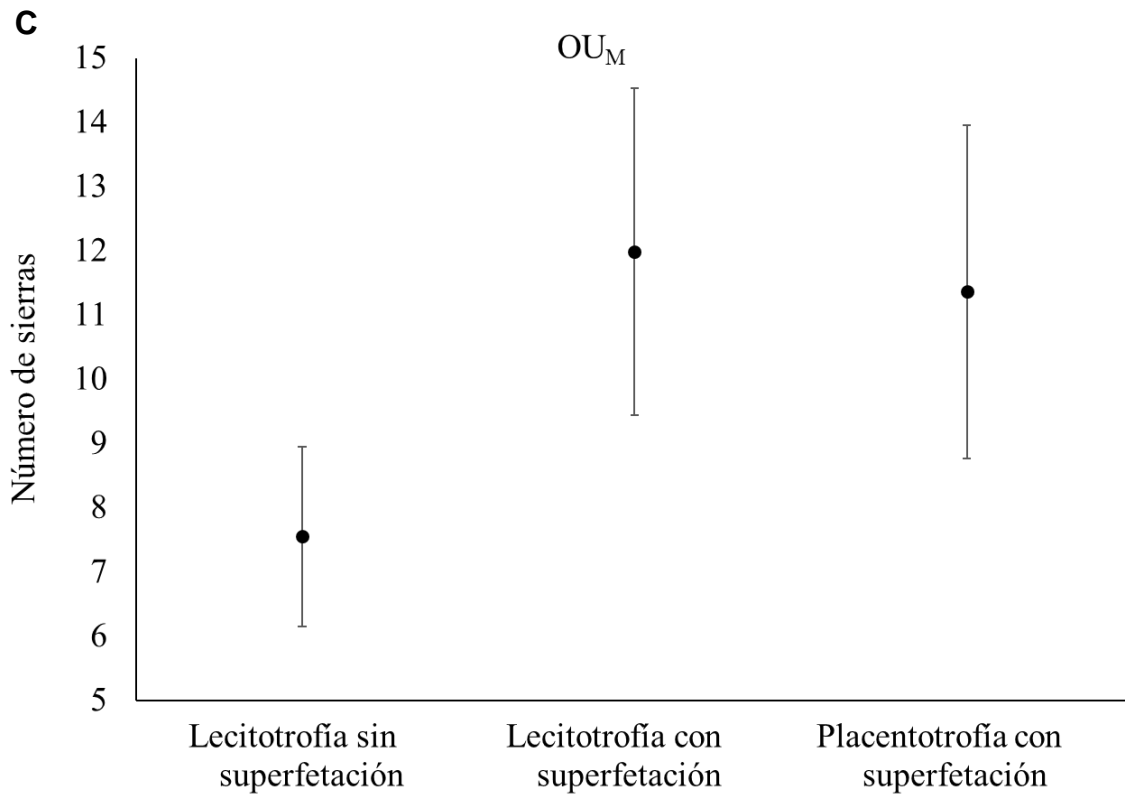


Figura 2 Valores óptimos estimados derivados de los modelos OUwie que seleccionamos para: A, Modelo OU_{MV} para la longitud relativa del gonopodio, B, modelo OU_{MA} para la longitud relativa del gonopodio y C, número de sierras. El eje x representa el régimen selectivo (lecitotrofia sin superfetación, lecitotrofia con superfetación y placentotrofia con superfetación). Las barras de error representan intervalos de confianza del 95%.

4. Discusión

Nuestro objetivo era evaluar la hipótesis de tasas de diversificación aumentadas en especies con el régimen de placentotrofia y superfetación. Sin embargo, esto no se cumplió en ninguna de las características del gonopodio que evaluamos. En otras palabras, no encontramos tasas de diversificación más altas en especies con placentotrofia y superfetación para ninguno de los rasgos. La presencia de placentas complejas y la capacidad de gestar embriones en diferentes etapas de desarrollo de manera simultánea son estrategias que crean un escenario de competencia entre hembras y machos por el éxito reproductivo e implican conflicto entre los sexos (Furness et al., 2019; Lyons et al., 2021). Se ha demostrado que el conflicto es una de las razones más significativas para la diversificación morfológica genital (Arnqvist y Rowe, 2005; Simmons, 2014).

A la luz de este conflicto, predijimos una mayor diversificación morfológica en especies que muestran tanto placentotrofia como superfetación, impulsada por el potencial del conflicto para desencadenar cambios adaptativos en las estructuras del gonopodio, mejorando el éxito reproductivo de los machos. Esperábamos que la profundidad del gonopodio y la longitud relativa del gonopodio fueran rasgos que se diversificaran a tasas más altas en especies con placentotrofia y superfetación. Contrariamente a nuestra predicción, nuestros hallazgos indican que las tasas de diversificación para la profundidad y la longitud del gonopodio son más altas en especies lecitotróficas sin superfetación y comparativamente más bajas en especies placentotróficas con superfetación. Estos resultados opuestos sugieren que los machos de especies lecitotróficas

pueden no solo tener comportamientos de cortejo, lo que implica que algunos de ellos también participan en copulaciones forzadas (Plath et al., 2007), lo que impulsa la diversificación a través del conflicto. De hecho, se ha encontrado que estos dos comportamientos de apareamiento existen en algunas especies, como *Poecilia reticulata*, donde el tipo de copula (cooperativa o coercitiva) depende del tamaño del cuerpo del macho y puede afectar la frecuencia de partos en las hembras guppys (Sato et al., 2011). Del mismo modo, la alta tasa de diversificación en especies lecitotróficas sin superfetación nos permite observar que tanto la profundidad como la longitud del gonopodio reflejan que hay algunas especies en las que los machos tienen gonopodios cortos (cortejo) y machos con gonopodios más largos (coerción). Es posible encontrar especies lecitotróficas sin superfetación en las que los machos participan en comportamientos de cortejo (por ejemplo, *Girardinus metallicus*; Farr, 1980) y otras que dependen de copulaciones forzadas para lograr la fertilización (por ejemplo, *Poecilia orri*; Rosen y Gordon, 1953).

Observamos también que la longitud relativa del gonopodio evoluciona hacia diferentes óptimos en correspondencia con los regímenes selectivos, específicamente, las especies con superfetación (independientemente de la presencia o ausencia de placentotrofia) tienen gonopodios más largos. Nuestros hallazgos sobre la evolución de la longitud del gonopodio hacia óptimos distintos basados en los regímenes de superfetación y placentotrofia coinciden con las conclusiones de

Langerhans (2011) y Reznick et al. (2021). Sus estudios indicaron que las especies con gonopodios cortos suelen exhibir comportamientos de cortejo y son y son frecuentemente lecitotróficas sin superfetación, mientras que las especies con gonopodios más largos, a menudo sin ornamentación, pueden manifestar comportamientos coercitivos y son típicamente especies placentotróficas con superfetación. Por lo tanto, tener un gonopodio largo podría ayudar a lograr copulaciones exitosas incluso sin la aceptación de la hembra, ya que los machos con gonopodios alargados pueden acercarse a las hembras y transferir esperma sin acercarse demasiado a ellas (Evans et al., 2011; Langerhans, 2011).

Destacadamente, nuestros hallazgos revelan que la longitud del gonopodio se atribuye principalmente a la presencia de superfetación, independientemente del régimen de placentotrofia. Este fenómeno se observa notablemente en especies con superfetación, abarcando tanto las características lecitotróficas como placentotróficas, ya que tienden a exhibir gonopodios más largos en comparación con sus contrapartes lecitotróficas sin superfetación. En esencia, la superfetación, con su consecuente potencial para la paternidad múltiple, donde cada camada es fertilizada por distintos machos, se erige como la fuerza evolutiva detrás de la selección estabilizadora de la longitud del gonopodio.

De manera similar, también encontramos que el número de sierras evoluciona principalmente en función de la presencia de superfetación: las especies con esta estrategia reproductiva, independientemente de la presencia o ausencia de placentotrofia, exhiben más sierras en comparación con las especies que no practican la superfetación. Por lo tanto, la presencia de superfetación es lo

que impulsa la diferencia evolutiva entre los regímenes selectivos. Se ha descrito que las sierras son dispositivos de sujeción que pueden ayudar a lograr un tiempo de cópula prolongado en un escenario de cópula forzada (Greven, 2005; Jones et al., 2016). La superfetación implica que la hembra puede llevar el esperma de múltiples machos en su interior (Macías-García y González-Zuarth, 2005; Zúñiga-Vega et al., 2010). Por lo tanto, la superfetación probablemente aumenta la intensidad de la competencia entre machos por las hembras. En este contexto, las sierras pueden ayudar a asegurar la paternidad debido a la transferencia de esperma aumentada como resultado de una cópula prolongada. Además, más tiempo dedicado a la cópula evitaría que otros machos se acerquen a la hembra. Por lo tanto, la superfetación lleva a una tendencia evolutiva hacia una mayor inversión en el número de sierras en las especies estudiadas.

También, es importante considerar que diferentes partes o secciones de la morfología genital masculina pueden experimentar diferentes presiones selectivas (Song y Wenzel, 2008; Simmons et al., 2009). Es posible que mientras algunas estructuras sean evidencia de presiones selectivas que conducen a la diversificación morfológica, otras sirvan para reconocer especies (Wojcieszek y Simmons, 2011). Por ejemplo, en los machos saltamontes de *Schistocerca lineata* la sección inferior del cíngulo puede estar relacionada con la interacción sensorial durante el cortejo, mientras que el epífalo y el cercus se utilizan como órganos de agarre durante el apareamiento coercitivo (Song y Wenzel 2008). Las diferentes

partes de los genitales pueden cambiar debido a diferentes razones. Algunas partes cambian principalmente porque ayudan a los individuos en interacciones de competencia intraespecífica, lo que puede llevar a diferencias en la forma entre poblaciones, mientras que otras cumplen funciones de reconocimiento de especies (Wojcieszek y Simmons 2011). Este último hace referencia a la hipótesis "cerradura-llave" que postula que existe un ajuste mecánico entre los genitales de machos y hembras, similar a una cerradura y una llave, lo que impulsa la coevolución funcional de estos genitales para garantizar un apareamiento exitoso y, al mismo tiempo, reducir la probabilidad de apareamiento entre diferentes poblaciones (Langerhans 2011; Anderson y Langerhans 2015).

En resumen, dado que encontramos que las especies con tanto placentotrofia como superfetación no exhiben las altas tasas de diversificación esperadas, podemos sugerir que algunas estructuras genitales están sujetas a otras formas de selección natural en lugar de selección sexual (conflicto). Sorprendentemente, encontramos que la presencia de superfetación impulsa la evolución de rasgos gonopodiales, como el número de sierras y la longitud relativa de los gonopodios, independientemente de la presencia de placentotrofia. Las especies con superfetación tienen más sierras y gonopodios más largos. Esto sugiere que la superfetación es la estrategia reproductiva que ejerce presión selectiva en la evolución de las estructuras gonopodiales, en lugar de la placentotrofia.

En conclusión, nuestro estudio sobre la evolución de las estructuras de los gonopodios dentro de la familia Poeciliidae ha proporcionado información sobre

cómo algunas estrategias reproductivas influyen en la diversificación morfológica. Si bien nuestras predicciones iniciales no fueron completamente respaldadas, nuestros hallazgos revelan lo contrario de lo esperado, ya que encontramos tasas más altas de diversificación en especies lecitotróficas sin superfetación tanto para la profundidad del gonopodio como para la longitud relativa del gonopodio. A pesar de que las especies con ambas estrategias no exhiben las tasas de diversificación esperadas, la presencia de superfetación surgió como un factor crítico en la evolución de las estructuras gonopodiales, como se demostró mediante el número de sierras y la longitud relativa del gonopodio. Estos resultados sugieren que la competencia reproductiva entre los sexos y entre los machos, desencadenada por la superfetación, juega un papel importante en la formación de estas estructuras. Nuestros hallazgos no solo contribuyen a nuestra comprensión de la evolución de los peces vivíparos, sino que también ofrecen una perspectiva más amplia sobre los mecanismos que impulsan la diversidad genital en el reino animal.

Referencias

- Abrams PA. 1986. Adaptive responses of predators to prey and prey to predators: the failure of the arms-race analogy. *Evolution* **40**: 1229–1247.
- Anderson CM, Langerhans RB. 2015. Origins of female genital diversity: Predation risk and lock-and-key explain rapid divergence during an adaptive radiation. *Evolution* **69**: 2452–2467.
- Arnqvist G. 1997. The evolution of animal genitalia: Distinguishing between hypotheses by single species studies. *Biological Journal of the Linnean Society* **60**: 365–379.

- Arnqvist G, Rowe L. 1995. Sexual conflict and arms races between the sexes: A morphological adaptation for control of mating in a female insect. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **261**: 123–127.
- Arnqvist G, Rowe L. 2005. Sexual conflict in nature In: *Sexual Conflict*. Princeton: Princeton University Press, 1–11.
- Arnqvist G, Thornhill R. 1998. Evolution of animal genitalia: Patterns of phenotypic and genotypic variation and condition dependence of genital and non-genital morphology in water strider (Heteroptera: Gerridae: Insecta). *Genetical Research* **71**: 193–212.
- Beaulieu JM, Jhwueng DC, Boettiger C y O'Meara BC. 2012. Modeling stabilizing selection: Expanding the Ornstein-Uhlenbeck model of adaptive evolution. *Evolution* **66**: 2369–2383.
- Beaulieu JM, O'Meara BC. 2016. OUwie: analysis of evolutionary rates in an OU framework. R Package.
- Chapman T, Bangham J, Rowe L. 2003. Sexual conflict. *Trends in Ecology and Evolution* **18**: 4–6.
- Clark E, Aronson L, Gordon M. 1954. Mating behavior patterns in two sympatric species of xiphophorin fishes : their inheritance and significance in sexual isolation. *Bulletin of the AMNH* **103**: 139–225.
- Constantz GD. 1984. Sperm competition in poeciliid fishes. In: Smith RL, (ed.), *Sperm competition and the evolution of animal mating*. London: Academic Press, 465–485.
- Dawkins R y Krebs JR. 1979. Arms races between and within species. *Proceedings of the Royal Society of London - Biological Sciences* **205**: 489–511.
- Eberhard WG. 1985. *Sexual Selection and Animal Genitalia*. Harvard University Press.
- Eberhard WG. 1996. Selection on Cryptic Female Choice. In: *Female control: Sexual Selection by Cryptic Female Choice*. Princeton, New Jersey: Princeton University Press, 44–79.
- Eberhard WG. 1997. Sexual selection by cryptic female choice in insects and arachnids. In: Choe JC, Crespi BJ, (eds.), *The evolution of mating systems in insects and arachnids*. Cambridge University Press, 32–57.
- Evans JP, Gasparini C, Holwell GI, Ramnarine IW, Pitcher TE, Pilastro A. 2011. Intraspecific evidence from guppies for correlated patterns of male and female genital trait diversification. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **278**: 2611–2620.

- Farr JA. 1980. The effects of juvenile social interaction on growth rate, size and age at maturity, and adult social behavior in *Girardinus metallicus* Poey (Pisces: Poeciliidae). *Zeitschrift Für Tierpsychologie* **52**: 247–268.
- Frías-Alvarez P, Macías García C, Vázquez-Vega LF, Zúñiga-Vega JJ. 2014. Spatial and temporal variation in superfoetation and related life history traits of two viviparous fishes: *Poeciliopsis gracilis* and *P. infans*. *Naturwissenschaften* **101**:1085–1098.
- Furness AI, Pollux BJA, Meredith RW, Springer MS, Reznick DN. 2019. How conflict shapes evolution in poeciliid fishes. *Nature Communications* **10**: 1-12.
- García-Cabello KN, Fuentes-González JA, Saleh-Subaie N, Pienaar J, Zúñiga-Vega JJ. 2022. Increased superfetation precedes the evolution of advanced degrees of placentotrophy in viviparous fishes of the family Poeciliidae. *Biology Letters* **18**: 20220173.
- Gasparini C, Pilastro, Evans JP. 2011. Male genital morphology and its influence on female mating preferences and paternity success in guppies. *PLoS ONE* **6**: 1–5.
- Gavrilets S. 2000. Rapid evolution of reproductive barriers driven by sexual conflict. *Nature* **403**(6772): 886–889.
- Grabowski M, Voje KL, Hansen TF. 2016. Evolutionary modeling and correcting for observation error support a 3/5 brain-body allometry for primates. *Journal of Human Evolution* **94**: 106–116.
- Greven H. 2005. Structural and behavioural traits associated with sperm transfer in Poeciliinae. In: Uribe MC, Grier HJ, (eds.) *Viviparous fishes*. Homestead, FL: New Life Publications, 147–165.
- Hosken DJ, Stockley P. 2004. Sexual selection and genital evolution. *Trends in Ecology and Evolution* **19**: 87–93.
- Hotzy C, Polak M, Rönn JL, Arnqvist G. 2012. Phenotypic engineering unveils the function of genital morphology. *Current Biology* **22**: 2258–2261.
- Huntingford, F.A., Turner, A.K. 1987. Conflict in the animal world. In: Huntingford, F.A., Turner, A.K. (eds.) *Animal Conflict*. Chapman and Hall Animal Behaviour Series. Springer, Dordrecht. 3-12
- Ives AR, Midford PE, Garland T. 2007. Within-species variation and measurement error in phylogenetic comparative methods. *Systematic Biology* **56**: 252–270.

- Jones JC, Fruciano C, Keller A, Schartl M, Meyer A. 2016. Evolution of the elaborate male intromittent organ of Xiphophorus fishes. *Ecology and Evolution* **6**: 7207–7220.
- Kwan L, Cheng YY, Rodd FH, Rowe L. 2013. Sexual conflict and the function of genitalic claws in guppies (*Poecilia reticulata*). *Biology Letters* **9**. 20130267.
- Labra A, Pienaar J, Hansen TF. 2009. Evolution of thermal physiology in liolaemus lizards: Adaptation, phylogenetic inertia, and niche tracking. *American Naturalist* **174**: 204–220.
- Langerhans RB. 2011. Genital evolution in Poeciliid fish. *Ecology and Evolution of Poeciliid Fish* **1**: 228–240.
- Lyons K, Kacev D, Mull CG. 2021. An inconvenient tooth: Evaluating female choice in multiple paternity using an evolutionarily and ecologically important vertebrate clade. *Molecular Ecology* **30**: 1574–1593.
- Macías-García C, González-Zuarth CA. 2005. Reproductive behavior of viviparous fish and intersexual conflict. In: Uribe M, Grier HJ, (eds.) *Viviparous fishes*. Homestead:New Life Publications, 289–302.
- Marsh-Matthews E. 2011. Matrotrophy. In: Evans JP, Pilastro A, Schlupp I, (eds.), *Ecology and Evolution of Poeciliid Fishes*. Chicago: The University of Chicago Press, 18–27.
- Martin RA, Heinen-kay JL, Langerhans RB. 2013. Post-pleistocene radiation of Bahamas mosquitofish (*Gambusia hubbsi*). *Evolution* **68**: 397–411.
- Parker GA. 1979. Sexual Selection and Sexual Conflict. In: Blum MS, Nancy A. Blum, (eds.) *Sexual Selection and Reproductive Competition in Insects*. Academic Press, Inc. 123–166.
- Parker GA, Clutton-Brock TH. 1995. Sexual coercion in animal societies. *Animal Behaviour* **49**: 1345–1365.
- Peden AE. 1972. The function of gonopodial parts and behavioral pattern during copulation by *Gambusia* (Poeciliidae). *Canadian Journal of Zoology* **50**: 955–968.
- Plath M, Makowicz AM, Schlupp I, Tobler M. 2007. Sexual harassment in live-bearing fishes (Poeciliidae): comparing courting and noncourting species. *Behavioural Ecology* **18**: 680–688.

- Pollux B, Pires M, Banet A, Reznick D. 2009. Evolution of placentas in the fish family Poeciliidae: An empirical study of macroevolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **40**: 271–289.
- Pollux B, Meredith R, Springer M, Garland T y Reznick D. 2014. The evolution of the placenta drives a shift in sexual selection in livebearing fish. *Nature* **513**: 233–236.
- R Core Team. 2022. R: A Language and Environment for Statistical Computing.
- Revell LJ. 2009. Size-correction and principal components for interspecific comparative studies. *Evolution* **63**: 3258–3268.
- Revell LJ. 2012. Phytools: an R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution* **3**: 217–223.
- Reynolds JD, Gross MR, Coombs MJ. 1993. Environmental conditions and male morphology determine alternative mating behaviour in Trinidadian guppies. *Animal Behaviour* **45**: 145–152.
- Reznick DN, Travis J, Pollux BJA, Furness AI. 2021. Reproductive mode and conflict shape the evolution of male attributes and rate of speciation in the fish family Poeciliidae. *Frontiers in Ecology and Evolution* **9**: 1–20.
- Reznick DN, Mateos M, Springer MS. 2002. Independent origins and rapid evolution of the placenta in the fish genus Poeciliopsis. *Science* **298**: 1018–1020.
- Rosen DE, Bailey RM. 1963. The Poeciliid Fishes (Cyprinodontiformes), their structure, zoogeography, and systematics. *Bulletin of the American Museum of Natural history* **126**: 1–179.
- Rosen E, Gordon M. 1953. Functional anatomy and evolution of male genitalia in Poeciliid fishes. *Zoologica* **38**: 1–47.
- Rosen DE, Tucker A. 1961. Evolution of Secondary Sexual Characters and Sexual Behavior Patterns in a Family of Viviparous Fishes (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Copeia* **1961**(2): 201-212.
- Sato A, Sato A, Shimoichi A, Karino K. 2011. Copulation Type Affects Parturition in the Guppy. *Zoological Science* **28**: 98–104.
- Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods* **9**: 671–675.

- Simmons LW. 2014. Sexual selection and genital evolution. *Austral entomology* **53**: 1–17.
- Simmons LW, House CM, Hunt J. 2009. Report evolutionary response to sexual selection in male genital morphology. *Current Biology* **19**: 1442–1446.
- Song H, Wenzel JW. 2008. Mosaic pattern of genital divergence in three populations of *Schistocerca lineata* Scudder, 1899 (Orthoptera: Acrididae: Cyrtacanthacridinae). *Biological Journal of the Linnean Society* **94**: 289–301.
- Turner CL. 1937. Reproductive cycles and superfetation in poeciliid fishes. *Biological Bulletin* **72**: 145–164.
- Wang S, Cummings M, Kirkpatrick M. 2015. Coevolution of male courtship and sexual conflict characters in mosquitofish. *Behavioral Ecology* **26**: 1013–1020.
- Watson-Capps J. 2009. Evolution of sexual coercion with respect to sexual selection and sexual conflict theory. In: Muller M, Whrangham R, (eds.) *Sexual Coercion in Primates and Humans Book*. Cambridge, Massachusetts: London, England: Harvard University Press, 23–41.
- Wojcieszek JM, Simmons LW. 2011. Evidence for stabilizing selection and slow divergent evolution of male genitalia in a millipede (*Antichiropus variabilis*). *Evolution* **66**: 1138–1153.
- Wourms JP. 1981. Viviparity: The maternal-fetal relationship in fishes. *Integrative and Comparative Biology* **21**: 473–515.
- Zúñiga-Vega JJ, Macías-García C, Johnson JB. 2010. Hypotheses to explain the evolution of superfetation in viviparous fishes. In: Uribe MC, Grier HJ, (eds.) *Viviparous fishes II*. Florida: New Life Publications, Homestead, 13–30.
- Zúñiga-Vega JJ, Olivera-Tlahuel C, Molina-Moctezuma A. 2017. Superfetation increases total fecundity in a viviparous fish regardless of the ecological context. *Acta Oecologica* **84**: 48–56.
- Zúñiga-Vega J, Reznick DN, Johnson JB. 2007. Habitat predicts reproductive superfetation and body shape in the livebearing fish *Poeciliopsis turrubarensis*. *Oikos* **116**: 995–1005.

CAPÍTULO 5

Discusión general

La coevolución de la placentotrofia y la superfetación ha generado diversas interrogantes, particularmente debido a las variaciones entre especies y poblaciones, así como a los múltiples orígenes independientes en los organismos vivíparos, específicamente en peces vivíparos de la familia Poeciliidae (Reznick et al. 2002; Bassar et al. 2014; Fleuren et al. 2018; Furness et al. 2019). Esta diversidad y surgimiento múltiple proporcionan pruebas de que la transferencia de nutrientes de la madre al embrión de manera activa a lo largo del desarrollo ha experimentado una evolución acelerada, otorgando ventajas adaptativas en distintas condiciones ambientales (Trexler y DeAngelis 2003; Pollux et al. 2009). También proporciona evidencia de que la capacidad de cargar de forma simultánea varias camadas en distintas etapas de desarrollo también proporciona ventajas en términos de adaptación en ciertas circunstancias (Pires et al. 2010; Zúñiga-Vega et al. 2010; Fleuren et al. 2019).

Entre las ventajas, se ha sugerido que la evolución de placentas más elaboradas y niveles más altos de placentotrofia reduce la inversión reproductiva en las hembras, especialmente en las primeras etapas de la gestación, debido al pequeño tamaño de los óvulos maduros antes de la fertilización (Trexler y DeAngelis 2003; Pollux et al. 2009; Uribe y Grier 2011; Fleuren et al. 2019). De manera similar, la superfetación ha demostrado ventajas, como la reducción de la asignación máxima de recursos reproductivos, es decir, la proporción de la masa corporal de la hembra destinada a la reproducción, durante la gestación (Pollux et al. 2009). Esto ocurre porque, en lugar de llevar a cabo la gestación de numerosos embriones en el mismo estadio de desarrollo, que eventualmente alcanzarán un

tamaño considerable antes del nacimiento, la superfetación distribuye esta inversión total en camadas superpuestas más pequeñas en diferentes desarrollo. Como resultado, solo unos pocos embriones, los más avanzados en su desarrollo, alcanzarán un mayor tamaño, mientras que los estadios más tempranos son, en ese momento, más pequeños (Pollux et al. 2009; Zúñiga-Vega et al. 2010; Fleuren et al. 2019).

La presencia de placentas complejas y la habilidad para llevar a cabo la gestación de embriones en múltiples etapas de desarrollo de manera simultánea establecen un escenario de competencia entre machos y hembras en términos de éxito reproductivo, dando lugar a un conflicto de intereses entre los sexos (Furness et al. 2019; Lyons et al. 2021). En primer lugar, las placentas complejas le permiten a las hembras regular y asignar recursos de manera más selectiva, lo que significa que tienen más influencia sobre cuáles embriones reciben más recursos y cuáles menos (Pollux et al. 2014; Furness et al. 2019; Reznick et al. 2021). Pueden lograr esto a través de procesos posteriores a la fertilización, como seleccionar embriones de mejor calidad y abortar embriones de menor calidad, o distribuyendo recursos maternos de manera diferenciada entre los embriones (Haig 1990).

En segundo lugar, la superfetación otorga a las hembras un mayor control sobre la paternidad. En especies donde los machos carecen de características ornamentales y recurren al apareamiento forzado (Magurran 2011), las hembras podrían verse obligadas a gestar embriones de menor

calidad genética. Está demostrado que en especies que tienen superfetación, las copulas forzadas prevalecen (Macías-García y González-Zuarth 2005). La retención y selección del esperma a través de estructuras como las espermatecas refuerzan la influencia de las hembras en la determinación de la paternidad. Además, se ha planteado que la superfetación podría promover la poliandria al disminuir las posibilidades de que un solo macho se convierta en el único progenitor de la descendencia de una hembra, así la competencia por el éxito reproductivo es notable (Haig 1990). Este proceso de competencia por el control de la paternidad fomenta la aparición del conflicto sexual, lo que a su vez desempeña un papel esencial en la diversificación morfológica de las estructuras genitales (Arnqvist y Rowe 2005; Simmons 2014).

En esta tesis, logramos alcanzar exitosamente los objetivos planteados. El enfoque filogenético comparativo que aplicamos, utilizando datos de los niveles de placentotrofia y superfetación en 39 especies de poecílicos, nos permitió identificar un patrón de causalidad entre estas dos estrategias reproductivas. Observamos que las placentas han desarrollado una mayor complejidad como adaptación a los incrementos en el nivel de superfetación (capítulo 2). Nuestros análisis comparativos de las modificaciones morfológicas en hembras de 48 especies revelaron que la presencia de la superfetación por sí sola conduce a una evolución adaptativa convergente hacia cuerpos delgados e hidrodinámicos (capítulo 3). Además, nuestros análisis filogenéticos en los gonopodios de machos de 39 especies de poecílicos demostraron que la superfetación ha favorecido la

evolución de gonopodios más largos y un mayor número de sierras en la punta distal (capítulo 4).

Coevolución de superfetación y placentotrofia: evidencia de una secuencia evolutiva en peces poecílicos

En el capítulo 2 de esta tesis, se llevó a cabo un análisis detallado de la coevolución de la superfetación y la placentotrofia en los peces poecílicos. La hipótesis que planteamos sostiene que la evolución de placentas más complejas es necesaria para regular de manera diferencial los recursos transferidos a embriones en distintas etapas de desarrollo; por lo tanto, los niveles de complejidad placentaria deben aumentar primero para facilitar la gestación de un mayor número de camadas simultáneas. Nuestra hipótesis se fundamenta en la idea de que los requerimientos nutricionales y los momentos de transferencia de nutrientes difieren entre embriones en diferentes etapas de desarrollo (Macfarlane y Bowers 1995). Para regular eficazmente esta distribución diferencial de recursos, es probable que se requieran tejidos placentarios más desarrollados, que incluyan un mayor número de vesículas y microvellosidades (Thompson et al. 2000; Olivera-Tlahuel et al. 2019). Además, sabemos que un aumento en el número de camadas simultáneas impone una mayor demanda de nutrientes y oxígeno a las hembras (Boehlert et al. 1991). Entonces, nuestra predicción se basó en la idea de que el aumento en los niveles de placentotrofia mediante placentas más complejas debería posibilitar que las hembras suministren cantidades mayores de nutrientes y oxígeno, asegurando de esta manera las necesidades de todos los embriones en todas las etapas de su desarrollo.

Aunque investigaciones anteriores han demostrado que a medida que aumenta la complejidad placentaria, medida a través del índice de matrotrofia, también se incrementa la probabilidad de tener superfetación (Pollux et al. 2014), en estos estudios previos, las estrategias fueron consideradas como variables categóricas, mostrando únicamente la relación entre la presencia o ausencia de ambas características. Sin embargo, sus resultados no lograron establecer con claridad cuál de las dos estrategias evolutivas precedió a la otra (Furness et al. 2021). Nosotros consideramos ambas estrategias reproductivas como variables continuas en lugar de categóricas, lo que nos permitió una comprensión más precisa de su relación evolutiva.

Los resultados obtenidos en este capítulo fueron sorprendentes y contrarios a las predicciones iniciales. Encontramos que la evolución de un mayor número de crías de manera simultánea, es decir, la superfetación, precede a la evolución de un mayor grado de placentotrofia (García-Cabello et al. 2022). Este hallazgo plantea implicaciones significativas en la coevolución de estas estrategias en los peces poecílidos. Estos resultados sugieren que la complejidad placentaria se desarrolló como una consecuencia indirecta de las fuerzas evolutivas que impulsaron la aparición de múltiples crías en desarrollo simultáneo. Esta coadaptación entre la superfetación y la placentotrofia podría haber evolucionado para optimizar la nutrición y regulación de embriones en diversas etapas de desarrollo, brindando ventajas adaptativas y de supervivencia a las especies con ambas características.

Los resultados contrastantes que obtuvimos sugieren que la superfetación podría estar bajo fuertes presiones de selección natural (por ejemplo en ríos donde el flujo es más rápido o en sitios con alta depredación que favorecen hembras con cuerpos relativamente delgados) y, los cambios en la placentotrofia pueden estar sujetos a cambios en el nivel de superfetación y no a presiones ambientales externas. Es decir, la selección natural afecta a la superfetación y probablemente menos a la placentotrofia.

Los resultados de este estudio son consistentes con investigaciones previas que examinaron la relación entre la placentotrofia y factores ambientales como altitud, temperatura, la estacionalidad, la precipitación y la depredación en peces vivíparos (Furness et al. 2021). Lo que indica que a nivel macroevolutivo, no hay fuerzas selectivas claras asociadas a factores ambientales específicos que tuvieran un impacto significativo en la variación de los niveles de transferencia materna entre especies las especies. Así nuestros resultados, desde un enfoque macroevolutivo, respaldan la idea de que la placentotrofia avanzada se ha visto favorecida por la previa evolución de camadas simultaneas. También otros estudios a nivel de poblaciones (escala microevolutiva) han indicado que la evolución hacia un mayor grado de superfetación es probablemente una respuesta a condiciones ambientales específicas, como la presencia de corrientes de agua rápidas o un mayor riesgo de depredación (Gorini-Pacheco et al. 2018; Hagmayer et al. 2020). Esto se debe a que la superfetación, al reducir

la distención del abdomen de las hembras gestantes, les permite mantener cuerpos más hidrodinámicos y un tener un desempeño de natación más eficaz eficaz (Zúñiga-Vega et al. 2007; Fleuren et al. 2019). Estos hallazgos insinúan que la selección natural ha tenido un impacto significativo en la capacidad de gestar múltiples camadas de forma simultánea.

En resumen, el capítulo 2 de esta tesis contribuye a la comprensión de la relación y coevolución entre la superfetación y la placentotrofia en peces poecílicos. Aunque aquí aportamos información relevante, es esencial considerar explorar otros aspectos fisiológicos que describan la relación entre la placentotrofia y la superfetación para entender con claridad cómo es que las placentas que tienen más microvellosidades, más vesículas y más vasos sanguíneos (Kwan et al. 2015; Olivera-Tlahuel et al. 2019) permiten la regulación de un mayor número de camadas simultaneas. Para comprender completamente cómo la placentotrofia y la superfetación afectan a la reproducción en esta familia de peces, sería valioso investigar la transferencia diferencial de aminoácidos y minerales como el calcio a embriones en diferentes etapas de desarrollo.

Influencia de la superfetación en la morfología de peces vivíparos

La implementación de análisis comparativos nos permitió evaluar, en el capítulo 3, la relación entre las estrategias reproductivas (placentotrofia y superfetación) y la morfología corporal en peces vivíparos. Propusimos que estas estrategias influyen en la evolución de cuerpos delgados e hidrodinámicos debido a la reducción de la inversión reproductiva asociada a la gestación interna de los embriones. También exploramos la posibilidad de que, en ausencia de estas estrategias, se produzca

una evolución hacia cuerpos más robustos que, debido a la alta inversión reproductiva, requieran desarrollar estructuras posteriores de mayor tamaño para nadar de manera eficiente.

Nuestros resultados revelaron que las hembras con placentotrofía y superfetación poseen cuerpos más delgados e hidrodinámicos. Sorprendentemente, encontramos que la sola presencia de superfetación estaba asociada con cuerpos delgados e hidrodinámicos, independientemente de la presencia de placentotrofía. En contraste, las especies sin superfetación mostraron cuerpos robustos y profundos. Sin embargo, no detectamos efectos de estas dos estrategias reproductivas en las estructuras posteriores relacionadas con la natación, como la aleta caudal y el pedúnculo caudal. Esto podría deberse a la complejidad de la biomecánica de la locomoción en peces y a su asociación con las condiciones ambientales, como el flujo del agua y las tasas de depredación elevadas (Lighthill 1975; Langerhans y Reznick 2010).

Se ha demostrado que varios factores influyen en la locomoción de los peces, y parece que el tamaño de las estructuras posteriores está más relacionado con el flujo del agua (Lighthill 1975; Langerhans y Reznick 2010) y la presión de depredación (Langerhans y DeWitt 2004) que con la inversión reproductiva o la complejidad placentaria, como habíamos asumido previamente. El pedúnculo y la aleta caudal son rasgos morfológicos cruciales que están vinculados con el tipo de natación inestable de los poecílidos (Fisher et al. 2000; Langerhans 2009). La

natación inestable se refiere a movimientos complejos en la locomoción, que incluyen cambios en la velocidad o dirección, como arranques rápidos, giros bruscos, frenados, nados en ráfagas y cambios en la dirección de la natación (Langerhans 2009). Estos movimientos son comunes durante las interacciones sociales, como el cortejo y los enfrentamientos, y también para escapar de depredadores, capturar presas que intentan huir y desplazarse en entornos desafiantes (Weihs 1973; Domenici y Blake 1997). Se ha demostrado que las hembras de *Poecilia reticulata* que tienen un abdomen más distendido, pero con pedúnculos caudales más profundos y cabezas más pequeñas, habitan en sitios con flujo rápido de agua (Hendry et al. 2006). Esto sugiere que, a pesar de tener un abdomen distendido que aumenta la superficie de contacto con el agua y reduce el rendimiento de nado (Plaut 2002), tener un pedúnculo profundo podría contribuir a una mejor propulsión y una menor resistencia en ambientes de flujo rápido.

Por otro lado, la aleta caudal es la región del cuerpo que genera la fuerza propulsora en casi todos los peces (Lauder y Tytell 2005). Se ha observado que los cuerpos con regiones caudales más grandes pueden desplazar un mayor volumen de agua durante el nado, especialmente en movimientos asociados a la natación inestable (Lighthill 1971; Webb 1984). Escapar de un depredador es la conducta del nado inestable más clara, esta representa un inicio rápido del nado o cambio de dirección (Domenici y Blake 1997). Se comprobó con *Gambusia affinis* que las poblaciones expuestas a la depredación tienden a desarrollar aletas caudales más grandes (Langerhans 2009).

En resumen, este capítulo demuestra que las estrategias reproductivas han tenido un papel significativo en la morfología corporal de peces vivíparos. Nuestros resultados indican que la placentotrofía no parece influir en la evolución morfológica. Sin embargo, está claro que la superfetación parece ser un factor clave en la evolución de formas corporales delgadas e hidrodinámicas, con implicaciones importantes para comprender cómo distintas estrategias reproductivas han impulsado la convergencia evolutiva en la morfología de estos peces.

La superfetación impulsa la evolución de los gonopodios

En el capítulo 4, usamos un método filogenético comparativo para comparar tasas de cambio evolutivo y diversificación en gonopodios bajo distintos regímenes de superfetación y placentotrofía. Así evaluamos cómo la diversificación de estas estructuras en la familia Poeciliidae se relaciona con las estrategias reproductivas. Nuestra hipótesis proponía que las especies con ambas estrategias reproductivas mostrarían tasas de diversificación morfológica más altas en las estructuras del gonopodio. Esto, debido a la competencia entre los sexos por el éxito reproductivo y el conflicto que se establece por la presencia de placentotrofía y superfetación (Pollux et al. 2014; Reznick et al. 2021). Se ha demostrado que el conflicto es una de las razones más significativas para la diversificación morfológica genital (Arnqvist y Rowe 2005; Langerhans 2011; Simmons 2014). Por lo tanto, formulamos la predicción de que las estructuras en la punta distal, como las sierras, espinas y ganchos, en los gonopodios de machos pertenecientes a especies con placentotrofía y superfetación habrían experimentado una mayor

diversificación en comparación con los machos de especies lecitotróficas y sin superfetación.

La morfología del gonopodio desempeña diversas funciones (Langerhans 2011). Se ha propuesto que en algunas especies de poecílicos, los ganchos, las sierras y las espinas pueden tener un papel crucial en la competencia sexual, la fertilización y la prevención de la cópula por parte de otros machos, ya que causan lesiones en las hembras o facilitan una transferencia eficaz del esperma (Clark et al. 1954; Greven 2005). Las sierras, en particular, ayudan al macho a sujetar a la hembra durante períodos más prolongados, evitando así la inseminación por parte de otros machos (Rosen y Gordon 1953; Clark et al. 1954). Por otro lado, la longitud del gonopodio también puede influir en la capacidad del macho para transferir el esperma; un gonopodio más largo puede alcanzar áreas más profundas en el tracto genital de la hembra, lo que aumenta las posibilidades de fertilizar los óvulos disponibles (Constantz 1984).

Nuestros resultados mostraron lo contrario a lo esperado, ya que tanto para la profundidad como para el largo relativo del gonopodio encontramos mayores tasas de diversificación en especies lecitotróficas sin superfetación. Este resultado inesperado sugiere que los machos de las especies lecitotróficas podrían no participar únicamente en el comportamiento de cortejo, sino también en copulaciones forzadas (Plath et al. 2007), lo que lleva a una diversificación impulsada por el conflicto sexual. De hecho se ha reportado que los machos de poecílicos exhiben marcadas diferencias en su comportamiento de apareamiento (Farr 1980; Bisazza 1993). Esta diversidad en las tácticas de apareamiento y los

rasgos del gonopodio crea una nueva perspectiva sobre el conflicto sexual en estas especies.

Por otro lado, Langerhans (2011), Pollux (2014) y Reznick y colaboradores (2021) concluyeron que las especies con gonopodios cortos suelen mostrar comportamiento de cortejo y, a menudo, son lecitotróficas sin superfetación, mientras que las especies con gonopodios más largos, a menudo carentes de ornamentos que manifiestan conductas coercitivas, son especies placentotróficas con superfetación. Por lo tanto, tener un gonopodio largo podría ayudar en la consecución de copulaciones exitosas incluso sin la aceptación de la hembra, ya que los machos con gonopodios más largos pueden acercarse a las hembras y transferir esperma sin acercarse demasiado a ellas (Evans et al., 2011; Langerhans, 2011). Estos mismos autores atribuyen la relación del gonopodio a la presencia de placentas complejas, sin embargo, nuestros resultados evidencian que la longitud del gonopodio está principalmente vinculada a la presencia de superfetación, sin importar el régimen de placentotrofia. Este patrón se hace especialmente evidente en especies que presentan superfetación, tanto en aquellas con características lecitotróficas como en las placentotróficas, ya que tienden a desarrollar gonopodios de mayor longitud en comparación con las especies lecitotróficas que carecen de superfetación. En síntesis, la superfetación, con su capacidad para propiciar la paternidad múltiple donde cada camada es fecundada por diferentes machos (Macías-García y González-Zuarth 2005; Zúñiga-Vega et al. 2010),

se presenta como la fuerza evolutiva subyacente que impulsa la selección direccional de la longitud del gonopodio.

Los análisis comparativos revelaron también que el número de sierras evoluciona en función de la presencia de superfetación. Estos resultados son intrigantes, ya que, aunque nuestra predicción de una evolución divergente en las estructuras gonopodiales no fue completamente respaldada, observamos una clara diferencia entre las especies con y sin superfetación, independientemente del régimen de la placentotrofia. La superfetación conduce a una tendencia evolutiva hacia una mayor inversión en el número de sierras en las especies. Dado que la superfetación concede a las hembras el control de la paternidad e incrementa la probabilidad de paternidad múltiple, tiene sentido que los machos desarrollen un mayor número de sierras que les ayude a asegurar la paternidad a partir de cópulas prolongadas, gracias a la función de sujeción las sierras (Jones et al. 2016). Además, una cópula más extensa desalentaría a otros machos de aproximarse a la hembra. Nuestros resultados denotan una vez más el importante papel de la superfetación al impulsar la diferencia evolutiva entre los regímenes selectivos de superfetación.

Es importante considerar que diferentes segmentos o secciones de la morfología genital masculina pueden estar sometidos a diversas presiones selectivas. La razón detrás de esta divergencia selectiva puede deberse a que cada una de estas estructuras cumple funciones específicas durante el proceso de apareamiento y reproducción. Por ejemplo, en los machos saltamontes de *Schistocerca lineata* la sección inferior del cingulo puede estar relacionada con la

interacción sensorial durante el cortejo, mientras que el epífalo y el cercus se utilizan como órganos de agarre durante el apareamiento coercitivo (Song y Wenzel 2008). Las diferentes partes de los genitales pueden cambiar debido a diferentes razones. Algunas partes cambian principalmente porque ayudan a los individuos en interacciones de competencia intraespecífica, lo que puede llevar a diferencias en la forma entre poblaciones, mientras que otras cumplen funciones de reconocimiento de especies (Wojcieszek y Simmons 2011). Este último hace referencia a la hipótesis "cerradura-llave" que postula que existe un ajuste mecánico entre los genitales de machos y hembras, similar a una cerradura y una llave, lo que impulsa la coevolución funcional de estos genitales para garantizar un apareamiento exitoso y, al mismo tiempo, reducir la probabilidad de apareamiento entre diferentes poblaciones (Langerhans 2011; Anderson y Langerhans 2015). Al final, parece que la evolución divergente de los genitales suele ser el resultado de la selección sexual, el conflicto sexual o la pleiotropía, y estas fuerzas evolutivas pueden dar lugar a diferencias significativas en la forma y función de los genitales entre especies relacionadas (Arnqvist 1997; Arnqvist and Thornhill 1998).

En resumen, en el Capítulo 4, observamos un resultado opuesto de nuestras expectativas iniciales. En lugar de encontrar tasas de diversificación elevadas en las estructuras de los gonopodios de especies que presentan tanto placentotrofia como superfetación, hemos descubierto

que la profundidad y la longitud del gonopodio experimentan tasas de diversificación más altas en especies lecitotróficas sin superfetación.

Además, hemos hecho un hallazgo sorprendente: el largo del gonopodio y el número de sierras evolucionan hacia óptimos distintos en función de la superfetación. Este fenómeno está relacionado con la paternidad múltiple y la competencia por la fertilización, lo que destaca el papel crucial de la superfetación en la evolución de los rasgos gonopodiales. En pocas palabras, hemos descubierto de manera sorprendente que la presencia de superfetación ejerce una presión selectiva sobre estas estructuras, en contraste con la placentotrofia.

Direcciones futuras

La relación entre la placentotrofia y la superfetación requiere una exploración más exhaustiva desde múltiples perspectivas. Sería particularmente interesante investigar las bases fisiológicas que subyacen en la conexión entre estas dos estrategias. Durante el proceso de gestación, el metabolismo de las hembras se modifica, y es probable que el momento en que se transfieren los nutrientes a los embriones difiera entre las especies con y sin superfetación. Esta diferencia en el momento de la transferencia de nutrientes podría ser un aspecto importante a considerar.

Además, es fundamental tener en cuenta siempre el medio acuático como otro factor involucrado en la asignación de recursos. Durante la gestación, la eficiencia de natación se ve afectada, lo que influye en la cantidad de oxígeno necesario para la hembra (Webb y Brett 1972; Boehlert et al. 1991). Es importante considerar cómo se asigna este oxígeno, tanto a las células asociadas a los músculos implicados en el movimiento durante el nado como al desarrollo de los embriones.

Por otro lado, el panorama que esta tesis nos mostró en cuanto a la importancia de la superfetación plantea interrogantes sobre una de las ventajas que hemos sugerido: la paternidad múltiple. Parece que el potencial conflicto asociado con la superfetación se basa en la idea de que las hembras superfetadoras copulan con varios machos, lo que podría resultar en descendencia de múltiples padres. Sería interesante investigar y comparar si las especies con superfetación realmente muestran una mayor

incidencia de paternidad múltiple en comparación con las especies no superfetadoras.

También, hemos planteado que la placentotrofia se adapta a la superfetación, y que es la superfetación la que está sometida a fuertes presiones de selección natural. Sin duda esto debe explorarse con más detalle para conocer cuáles son las presiones de selección natural involucradas en la evolución de un mayor número de camadas simultáneas. Aunque ya tenemos conocimiento de que la velocidad del agua influye en el cambio hacia mayores niveles de superfetación (Zúñiga-Vega et al. 2007, 2017; Frías-Alvarez y Zúñiga-Vega 2016). También, se ha sugerido que la superfetación responde de manera más pronunciada a la intensidad alta de depredación, al menos en algunas especies, como *Phalloceros harpagos* (Gorini-Pacheco et al. 2018). Por otro lado, se ha demostrado que la superfetación reduce los cambios en la carga reproductiva durante la gestación, manteniendo un cuerpo más esbelto tanto al inicio como al final de la gestación (Fleuren et al. 2019). Sin embargo, quedan preguntas que pueden resolverse a nivel de poblaciones, ya que las presiones ambientales dependen en gran medida de la distribución de las especies, por lo que sería relevante llevar a cabo estudios comparativos para analizar cómo la superfetación varía y responde en diferentes hábitats y regiones geográficas.

En este trabajo, hemos abordado brevemente las funciones de las diferentes estructuras de los gonopodios, y algunos autores han propuesto sugerencias generales sobre estas funciones (Langerhans, 2011). Sin embargo, en su mayoría, estas sugerencias hacen referencia a los daños ocasionados en

las hembras o al aumento en la duración de las copulas. Aunque la hipótesis de la llave-cerradura sugiere que estas estructuras funcionan en el reconocimiento entre machos y hembras de la misma especie, también plantea la posibilidad de que se produzcan daños o desgarros en el gonoporo de las hembras (Langerhans 2011; Anderson y Langerhans 2015). Por lo tanto, este escenario abre la puerta a la exploración de otras posibles funciones de cada una de las estructuras del gonopodio. Es crucial considerar que las diversas estructuras que componen el gonopodio pueden evolucionar de manera diferente debido a las distintas funciones que desempeñan. Por ejemplo, podríamos investigar si existe alguna relación entre estas estructuras y el mantenimiento del equilibrio durante la natación o la lateralización durante las copulas.

Además de lo mencionado anteriormente, se ha investigado ampliamente la respuesta de las hembras a las copulas forzadas, considerando aspectos como los costos físicos, metabólicos y el aumento en el riesgo de depredación (Clark et al. 1954; Constantz 1984; Magurran 2011). Sin embargo, resultaría de gran interés explorar los posibles costos asociados para los machos en este contexto. Es decir, si existen especies en las que tanto las conductas de cortejo como las copulas forzadas son comunes, sería posible analizar las diferencias en términos de comportamiento y fisiología entre ambas estrategias.

Esto nos lleva a otro punto importante que merece exploración. Se ha propuesto que en especies que poseen adornos y estructuras

destinadas a llamar la atención de las hembras, el cortejo es la estrategia predominante, y no suelen recurrir al acoso o las copulas furtivas, mientras que las que las especies que no tienen coloraciones brillantes o adornos, exclusivamente realizan copulas furtivas (Pollux et al. 2014; Reznick et al. 2021). Sin embargo, en este trabajo se abrió la posibilidad de que esto no sea totalmente cierto, pues como sugerimos anteriormente, es probable que en las especies con adornos (lecitotróficas) algunos machos lleven a cabo copulas furtivas. Del mismo modo, en las especies sin adornos (placentotróficas), algunos machos pueden emplear el cortejo como táctica.

Esto cuestiona la suposición de que la frecuencia relativa de machos que acosan y cortejan sea constante dentro de las especies. Si encontráramos variaciones en esta frecuencia, podríamos comprender por qué no observamos una mayor diversificación en las estructuras del gonopodio en las especies placentotróficas con superfetación.

Conclusiones

- En primer lugar, esta tesis identifica una relación causal entre el grado de superfetación y la complejidad de las placentas en peces vivíparos de la familia Poeciliidae. Aquí sugerimos que la complejidad placentaria se desarrolla como consecuencia de las fuerzas evolutivas que impulsan la aparición de múltiples camadas en distinto estadio de desarrollo, optimizando la nutrición y regulación de embriones de diferentes edades.
- En segundo lugar, encontramos que las hembras con placentotrofia y superfetación presentan cuerpos más delgados e hidrodinámicos. Es importante destacar que la presencia de superfetación se relaciona de manera significativa con cuerpos delgados e hidrodinámicos sin importar la presencia o ausencia de placentotrofia avanzada. Esto nos lleva a sugerir que la superfetación desempeña un papel fundamental en la evolución de formas corporales específicas en los peces poecílicos y que las placentas elaboradas no son un factor que favorezca la evolución de cuerpos hidrodinámicos tal como han sugerido otros estudios (Fleuren et al. 2018; Hagmayer et al. 2020).
- En tercer lugar, observamos que la superfetación favorece la evolución de un mayor número de sierras y gonopodios más largos. En un contexto de paternidad múltiple y competencia macho-macho derivada de la superfetación, los gonopodios largos facilitan la cópula furtiva con las hembras y las sierras podrían utilizarse para sujetar y dañar el gonoporo de las hembras.

- En cuarto lugar, si bien en la naturaleza, las estructuras genitales tienden a experimentar tasas altas de diversificación, nosotros identificamos cierta evidencia de que al menos dos características (largo del gonopodio y número de sierras) han diversificado más en las especies lecitotróficas y sin superfetación.
- Como quinto punto, en este trabajo, resalta de manera significativa la importancia de la superfetación como un factor determinante en la evolución de la reproducción y la morfología dentro de la familia Poeciliidae. Asimismo, descubrimos que la placentotrofia no parece ser una fuerza selectiva tan importante en otros rasgos fenotípicos como se ha sugerido en estudios previos (Pollux et al. 2009, 2014; Furness et al. 2019, 2021; Reznick et al. 2021)
- Por último, la conclusión más importante de esta tesis es que nuestros resultados sugieren que la superfetación ejerce un impacto significativo sobre la evolución de la placentotrofia, de la morfología y de los genitales de estas especies de peces vivíparos.

Referencias

- Anderson CM, Langerhans RB. 2015. Origins of female genital diversity: Predation risk and lock-and-key explain rapid divergence during an adaptive radiation. *Evolution* **69**: 2452–2467.
- Arnqvist G. 1997. The evolution of animal genitalia: Distinguishing between hypotheses by single species studies. *Biological Journal of the Linnean Society* **60**: 365–379.
- Arnqvist G, Rowe L. 2005. Sexual conflict in nature In: *Sexual Conflict*. Princeton: Princeton University Press, 1–11.
- Arnqvist G, Thornhill R. 1998. Evolution of animal genitalia: Patterns of phenotypic and genotypic variation and condition dependence of genital and non-genital morphology in water strider (Heteroptera: Gerridae: Insecta). *Genetical Research* **71**: 193–212.
- Bassar RD, Auer SK, Reznick DN. 2014. Why do placentas evolve? A test of the life-history facilitation hypothesis in two clades in the genus *Poeciliopsis* representing two independent origins of placentas. *Functional Ecology* **28**: 999–1010.
- Bisazza A. 1993. Male competition, female mate choice and sexual size dimorphism in poeciliid fishes. *Marine Behaviour and Physiology* **23**: 257–286.
- Boehlert GW, Kusakari M, Yamada J. 1991. Oxygen consumption of gestating female *Sebastes schlegeli*: Estimating the reproductive costs of livebearing. *Environmental Biology of Fishes* **30**: 81–90.
- Clark E, Aronson L, Gordon M. 1954. Mating behavior patterns in two sympatric species of xiphophorin fishes : their inheritance and significance in sexual isolation. *Bulletin of the AMNH* **103**: 139–225.
- Constantz GD. 1984. Sperm competition in poeciliid fishes. In: Smith RL, (ed.), *Sperm competition and the evolution of animal mating*. London: Academic Press, 465–485.
- Domenici P, Blake RW. 1997. Review the kinematics and performance of fish fast-start swimming. *The Journal of Experimental Biology* **1178**: 1165–1178.
- Farr JA. 1980. The effects of juvenile social interaction on growth rate, size and age at maturity, and adult social behavior in *Girardinus metallicus* Poey (Pisces: Poeciliidae). *Zeitschrift Für Tierpsychologie* **52**: 247–268.

- Fisher R, Bellwood DR, Job SD. 2000. Development of swimming abilities in reef fish larvae. *Marine Ecology Progress Series* **202**: 63–173.
- Fleuren M, Van Leeuwen JL, Pollux BJA. 2019. Superfetation reduces the negative effects of pregnancy on the fast-start escape performance in live-bearing fish. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **286**(1916), 20192245.
- Fleuren M, Quicazan-Rubio EM, van Leeuwen JL, Pollux BJA. 2018. Why do placentas evolve? Evidence for a morphological advantage during pregnancy in live-bearing fish. *PLoS ONE* **13**: 1–15.
- Frías-Alvarez P, Zúñiga-Vega JJ. 2016. Superfetation in live-bearing fishes is not always the result of a morphological constraint. *Oecologia* **181**: 645–658.
- Furness AI, Avise JC, Pollux BJA, Reynoso Y, Reznick DN. 2021. The evolution of the placenta in poeciliid fishes. *Current Biology* **31**: 2004-2011.e5.
- Furness AI, Pollux BJA, Meredith RW, Springer MS, Reznick DN. 2019. How conflict shapes evolution in poeciliid fishes. *Nature Communications* **10**:1-12.
- García-Cabello KN, Fuentes-González JA, Saleh-Subaie N, Pienaar J, Zúñiga-Vega JJ. 2022. Increased superfetation precedes the evolution of advanced degrees of placentotrophy in viviparous fishes of the family Poeciliidae. *Biology Letters* **18**: 20220173.
- Ghalambor CK, Reznick DN, Walker JA. 2004. Constraints on adaptive evolution: The functional trade-off between reproduction and fast-start swimming performance in the Trinidadian guppy (*Poecilia reticulata*). *American Naturalist* **164**: 38–50.
- Gorini-Pacheco B, Zandonà E, Mazzoni R. 2018. Predation effects on matrotrophy, superfetation and other life history traits in *Phalloceros harpagos*. *Ecology of Freshwater Fish* **27**: 442–452.
- Greven H. 2005. Structural and behavioural traits associated with sperm transfer in Poeciliinae In: Uribe MC, Grier HJ, (eds.) *Viviparous fishes*. Homestead, FL: New Life Publications, 147–165.
- Hagmayer A, Furness AI, Reznick DN, Dekker ML, Pollux BJA. 2020. Predation risk shapes the degree of placentation in natural populations of live-bearing fish. *Ecology Letters* **23**(5): 831–840.
- Haig D. 1990. Brood reduction and optimal parental investment when offspring differ in quality. *The American Naturalist* **136**(4): 550–556

- Hendry AP, Kelly ML, Kinnison MT, Reznick DN. 2006. Parallel evolution of the sexes ? Effects of predation and habitat features on the size and shape of wild guppies. *Journal of Evolutionary Biology* **19**: 741–754.
- Jones JC, Fruciano C, Keller A, Scharl M, Meyer A. 2016. Evolution of the elaborate male intromittent organ of Xiphophorus fishes. *Ecology and Evolution* **6**: 7207–7220.
- Kwan L, Fris M, Rodd FH, Rowe L, Tuhela L, Panhuis TM. 2015. An examination of the variation in maternal placentae across the genus *Poeciliopsis* (Poeciliidae). *Journal of Morphology* **276**: 707–720.
- Langerhans RB. 2009. Trade-off between steady and unsteady swimming underlies predator-driven divergence in *Gambusia affinis*. *Journal of Evolutionary Biology* **22**: 1057–1075.
- Langerhans RB. 2011. Genital evolution in Poeciliid fish. *Ecology and Evolution of Poeciliid Fish* **1**: 228–240.
- Langerhans RB, DeWitt TJ. 2004. Shared and unique features of evolutionary diversification. *American Naturalist* **164**: 335–349.
- Langerhans RB, Reznick DN. 2010. Ecology and evolution of swimming performance in fishes: predicting evolution with biomechanics In: Domenici P, (ed.) *Fish Locomotion: An Eco-Ethological Perspective*. Enfeild: Science Publishers, 200–248.
- Lauder, G. V., y Tytell, E. D. 2005. Hydrodynamics of Undulatory Propulsion. In: *Fish Physiology*. Academic Press **23**:425-468.
- Lighthill MJ. 1971. Large-Amplitude Elongated-Body Theory of Fish Locomotion. *Proceedings of the Royal Society of London Biological Sciences* **179**:125-138.
- Lighthill MJ. 1975. *Mathematical biofluidynamics*. Cambridge: Cambridge Press.
- Lyons K, Kacev D, Mull CG. 2021. An inconvenient tooth : Evaluating female choice in multiple paternity using an evolutionarily and ecologically important vertebrate clade. *Molecular Ecology* **30**: 1574–1593.
- Macfarlane R, Bowers M. 1995. Matrotrophic viviparity in the yellowtail rockfish *Sebastes flavidus*. *Journal of Experimental Biology* **198**: 1197–1206.

- Macías-García C, González-Zuarth CA. 2005. Reproductive behavior of viviparous fish and intersexual conflict In: Uribe M, Grier HJ, (eds.) *Viviparous fishes*. Homestead: New Life Publications, 289–302.
- Magurran AE. 2011. Sexual coercion In: Evans JP, Pilastro A, Schlupp I, (eds.) *Ecology and evolution of poeciliid fishes*. Chicago. Ill: The University of Chicago Press, 209–217.
- Olivera-Tlahuel C, Moreno-Mendoza NA, Villagrán-Santa Cruz M, Zúñiga-Vega JJ. 2019. Placental structures and their association with matrotrophy and superfetation in poeciliid fishes. *Acta Zoologica* 100: 167–181.
- Pires MN, Arendt J, Reznick DN. 2010. The evolution of placentas and superfetation in the fish genus *Poecilia* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae: subgenera *Micropoecilia* and *Acanthophaelus*). *Biological Journal of the Linnean Society* 99: 784–796.
- Plath M, Makowicz AM, Schlupp I, Tobler M. 2007. Sexual harassment in live-bearing fishes (Poeciliidae): comparing courting and noncourting species. *Behavioural Ecology* 18: 680–688.
- Plaut I. 2002. Does pregnancy affect swimming performance of female Mosquitofish, *Gambusia affinis*? *Functional Ecology* 16: 290–295.
- Pollux B, Meredith R, Springer M, Garland T, Reznick D. 2014. The evolution of the placenta drives a shift in sexual selection in livebearing fish. *Nature* 513: 233–236.
- Pollux B, Pires M, Banet A, Reznick D. 2009. Evolution of placentas in the fish family Poeciliidae: An empirical study of macroevolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 40: 271–289.
- Reznick DN, Mateos M, Springer MS. 2002. Independent origins and rapid evolution of the placenta in the fish genus *Poeciliopsis*. *Science* 298: 1018-1020.
- Reznick DN, Travis J, Pollux BJA, Furness AI. 2021. Reproductive mode and conflict shape the evolution of male attributes and rate of speciation in the fish family Poeciliidae. *Frontiers in Ecology and Evolution* 9: 1–20.
- Rosen E, Gordon M. 1953. Functional anatomy and evolution of male genitalia in Poeciliid fishes. *Zoologica* 38: 1–47.
- Simmons LW. 2014. Sexual selection and genital evolution. *Austral Entomology* 53: 1–17.

- Song H, Wenzel JW. 2008. Mosaic pattern of genital divergence in three populations of *Schistocerca lineata* Scudder, 1899 (Orthoptera: Acrididae: Cyrtacanthacridinae). *Biological Journal of the Linnean Society* **94**: 289–301.
- Thompson MB, Stewart JR, Speake BK. 2000. Comparison of nutrient transport across the placenta of lizards differing in placental complexity. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology* **127**: 469–479.
- Trexler JC, DeAngelis DL. 2003. Resource Allocation in Offspring Provisioning: An Evaluation of the Conditions Favoring the Evolution of Matrotrophy. *The American Naturalist* **162**: 574–585.
- Uribe MC, Grier HJ. 2011. Oogenesis of microlecithal oocytes in the viviparous teleost *Heterandria formosa*. *Journal of Morphology* **272**: 241–257.
- Webb PW. 1984. Body Form, Locomotion and Foraging in Aquatic Vertebrates. *American Zoologist* **24**: 107–120.
- Weihls D. 1973. The mechanism of rapid starting of slender fish. *Biorheology*. **10**(3):343-50.
- Wojcieszek JM, Simmons LW. 2011. Evidence for stabilizing selection and slow divergent evolution of male genitalia in a millipede (*Antichiropus variabilis*). *Evolution* **66**: 1138–1153.
- Zúñiga-Vega JJ, Macías-García C, Johnson JB. 2010. Hypotheses to explain the evolution of superfetation in viviparous fishes In: Uribe MC, Grier HJ, (eds.) *Viviparous fishes II*. Florida: New Life Publications, Homestead, 13–30.
- Zúñiga-Vega JJ, Olivera-Tlahuel C, Molina-Moctezuma A. 2017. Superfetation increases total fecundity in a viviparous fish regardless of the ecological context. *Acta Oecologica* **84**: 48–56.
- Zúñiga-Vega J, Reznick DN, Johnson JB. 2007. Habitat predicts reproductive superfetation and body shape in the livebearing fish *Poeciliopsis turrubarensis*. *Oikos* **116**: 995–1005.

Artículos

Artículo 1

García-Cabello KN, Fuentes-González JA, Saleh-Subaie N, Pienaar J, Zúñiga-Vega JJ. 2022 Increased superfetation precedes the evolution of advanced degrees of placentotrophy in viviparous fishes of the family Poeciliidae. *Biol. Lett.* **18**, 20220173. (doi:10.1098/rsbl.2022.0173)

Artículo 2

Karla N. García-Cabello, Nabila Saleh-Subaie, Maren G. Callaway y J. Jaime Zúñiga-Vega. Coping with the burden of livebearing: placentotrophy and superfetation promote convergent morphological evolution.

Sometido en *Journal of Evolutionary Biology*. Julio 2023.

Artículo 3

Karla N. García-Cabello, Maren G. Callaway, Jerald B. Johnson y J. Jaime Zúñiga-Vega. Superfetation drives morphological divergence of the gonopodium in poeciliid fishes.

Sometido en *Biological Journal of the Linnean Society*. Septiembre 2023.

Artículo de divulgación

Karla N. García Cabello y Vianey Palomera Hernández. 2023 Peces invasores y cópulas forzadas: consecuencias para las poblaciones nativas. *Boletín de la Sociedad Científica Mexicana de Ecología*, **3** (5) 46-53.

<https://www.flipsnack.com/8D6766CC5A8/scme-volumen-3-n-mero-5-junio-2023.html?p=46>

