

**FILOGEOGRAFÍA MITOCONDRIAL DEL MONO CAPUCHINO (*CEBUS CAPUCINUS*;  
CEBIDAE; PRIMATES) EN COLOMBIA Y CENTRO AMÉRICA CON ESPECIAL ÉNFASIS  
EN LA POBLACIÓN DE LA ISLA ROATÁN (HONDURAS)**



**INGRID PAOLA ALFONSO ZABALA**

**TRABAJO DE GRADO**

**Presentado como requisito para obtener el título de**

**BIÓLOGA**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Bogotá, D.C., COLOMBIA**

**Enero 2024**

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, a Dios, que a pesar de las dificultades me ha permitido llegar hasta donde estoy.

Al profesor Manuel Ruíz García por haberme acompañado en esta labor y brindado su ayuda siempre que precisé.

A mis amigas, que más que compañeras de laboratorio hicieron muy ameno cada día de trabajo con la mejor disposición y alegría; además de haber sido un gran apoyo en mi proceso, Jessica, Elizabeth y María Paula.

A la profesora Myreya Pinedo, que siempre estuvo dispuesta a resolver cualquier duda y brindarme ánimos cuando lo necesitaba.

A mi hermanita Sofi, que siempre fue mi apoyo y polo a tierra.

A mi madre y mi abuela, que todo este esfuerzo es por y para ellas, por haber sido luz en la oscuridad y mi más grande motivación.

A la señora Amanda y don Miguel, por haberme abierto las puertas de su casa y corazón para poder culminar esta etapa de aprendizaje.

Finalmente, a mi padre, que, aunque ya no esté aquí físicamente siempre fue un motor para poder seguir adelante y ser su orgullo.

## RESUMEN

Este estudio se centró en el análisis genético de *Cebus capucinus*, comparando muestras de individuos de la Isla Roatán en Honduras con ejemplares de Colombia y Centroamérica, usando los genes mitocondriales *mtCOI* y *mtCOII*. El objetivo era determinar el origen de las poblaciones insulares de Roatán y la diversidad de acervos genéticos en Colombia y Centroamérica, además de identificar el origen geográfico de ejemplares decomisados en Colombia. Se analizaron 144 ejemplares para el gen *mtCOI* y 61 para la combinación *mtCOI* y *mtCOII*, revelando una considerable diversidad genética en Colombia y una posible ruta de colonización desde Suramérica hacia el norte. Lo cual indica que los especímenes centroamericanos presentan su origen proveniente de Suramérica. Los resultados sugieren que los especímenes de Roatán fueron introducidos históricamente desde Centroamérica en época muy reciente. Además, se detectaron ejemplares de origen centroamericano entre los confiscados por la Secretaría Distrital de Ambiente de Bogotá (SDA), resaltando la relevancia de estos marcadores en la conservación y el control del tráfico ilegal de especies. Este trabajo subraya la importancia de la diversidad genética y los procesos históricos en la conservación y manejo de *Cebus capucinus*.

Palabras clave: *Cebus capucinus*, análisis genético, Isla Roatán, Honduras, diversidad genética, origen filogeográfico, tráfico ilegal, conservación.

## ABSTRACT

This study focused on the genetic analysis of *Cebus capucinus*, comparing samples from individuals on Roatán Island in Honduras with those from Colombia and Central America, using the mitochondrial genes *mtCOI* and *mtCOII*. The goal was to determine the origin of the Roatán island populations and the diversity of genetic pools in Colombia and Central America, as well as to identify the geographical origin of specimens seized in Colombia. A total of 144 specimens were analyzed for the *mtCOI* gene and 61 for the *mtCOI* and *mtCOII* combination, revealing significant genetic diversity in Colombia and a possible colonization route from South America northwards. This indicates that the Central American specimens originate from South America. The results suggest that the Roatán specimens were historically introduced from Central America in a very recent era. In addition, specimens of Central American origin were detected among those confiscated by the District Environmental Secretariat of Bogotá (SDA), highlighting the importance of these markers in conservation and the control of illegal species trafficking. This work emphasizes the importance of genetic diversity and historical processes in the conservation and management of *Cebus capucinus*.

Keywords: *Cebus capucinus*, genetic analysis, Roatán Island, Honduras, genetic diversity, phylogeographic origin, illegal trafficking, conservation.

## INTRODUCCIÓN

La especie *Cebus capucinus*, llamados comúnmente como capuchinus o monos carablanca, son primates de alrededor (2-4 kg) que se distribuyen desde el centro al sur de América desde el nivel del mar hasta los 2000 msnm (Aquino & Encarnación 1994). Hill (1960) realizó una distinción entre los individuos tufted (con penacho) los cuales son los primates robustos en cuanto a mandíbula y extremidades, en donde se encuentra *Cebus (Sapajus) apella* y untufted (sin penacho) que se caracterizan por tener extremidades más largas, también llamados gráciles, en donde se puede encontrar *Cebus albifrons* y *C. capucinus*. La especie *C. capucinus* (Linnaeus, 1758) es una de las especies que mayor rango de distribución cuenta, desde Centroamérica hasta el norte y occidente de Colombia y acoge zonas como el norte de Venezuela y Ecuador (Ruiz-García, et al., 2012a); se extiende desde el norte de Honduras hasta Panamá en Centroamérica, y a lo largo del oeste de los Andes colombianos hasta el noroeste de Ecuador en Sudamérica. En cuanto a Colombia, su rango incluye desde el Urabá Antioqueño, departamentos de Córdoba, Sucre, Bolívar y el suroccidente Atlántico incluyendo el oriente del río Magdalena. Por último, también abarca la isla Gorgona y el alto Valle del Cauca (Ruiz-García, et al., 2012a). Son las únicas especies del género *Cebus* reportadas en Centroamérica (Fedigan et al. 1996). Esta especie se encuentra en el estado de vulnerable de acuerdo con la categoría UICN (2023).

HersHKovitz (1949), clasificó cinco subespecies para *C. capucinus*, las cuales invalidó posteriormente: *C. c. capucinus* (L, 1758) del norte de Colombia; *C. c. curtus* (Bangs, 1905) de la isla Gorgona ubicada en el pacífico colombiano; *C. c. nigripectus* (Elliot, 1903) del Valle del Cauca, Colombia; *C. c. imitator* (Thomas, 1905) de Boquete, Chiriquí, Panamá incluyendo la Isla Coiba y Costa Rica y *C. c. limitaneus* (Hollister, 1914) el cual se ubica en la desembocadura del Río Segovia entre Honduras y Nicaragua y Guatemala; en donde dos se ubican en Centroamérica (*C. c. limitaneus* y *C. c. imitator*) y tres presentes en Suramérica (*C. c. capucinus*, *C. c. nigripectus* y *C. c. curtus*). Hernández-Camacho & Cooper (1976) reconocen a *capucinus* y *curtus* como las únicas subespecies colombianas, Groves (2001) y Coimbra-Filho & Mittermeier (1981) coincidieron en que las subespecies no se consideran reconocidas ya que la gran variabilidad de caracteres dentro de los grupos hacía imposible la asignación a taxón de subespecie. En estudios recientes, Fragazy et al. (2004) avaló dos subespecies centroamericanas, sin embargo,

Rylands et al. (2005) reconoce una única subespecie la cual es *C. c. imitator*. En un estudio realizado por Ruiz-García y colaboradores en 2012, se analizaron 121 especímenes de *C. capucinus* de países como Guatemala, Costa Rica y ocho departamentos de Colombia (Antioquia, Chocó, Sucre, Bolívar, Córdoba, Magdalena, Cauca y Valle del Cauca) mediante el uso del gen mitocondrial de la subunidad II del citocromo c oxidasa. Este estudio reveló que la población colombiana de *C. capucinus* presenta altos niveles de diversidad genética. Posteriormente, en 2016, Ruiz-García y Castillo complementaron esta investigación analizando los mismos individuos con un conjunto de microsatélites de ADN nuclear. Los resultados, tanto para el ADN mitocondrial como para los microsatélites, indicaron que no hay diferencias genéticas sustanciales entre las distintas regiones de Colombia, y que los haplogrupos mitocondriales están mezclados en las mismas áreas geográficas. Un trabajo de grado realizado por Ledezma- Jiménez (2010) identificó la existencia de dos subespecies filogenéticas de *capucinus* en Colombia y una sola en Centroamérica la cual corresponde a *C. c. imitator*, dejando sin soporte la existencia de *C. c. limitaneus* como subespecie en Guatemala. Honduras, por su parte, presenta una gran biodiversidad debido a su ubicación topográfica y estar en una zona tropical (SERNA, 2001), sin embargo, es uno de los países del neotrópico que presenta muy poca información sobre el estado de conservación de sus primates silvestres (Pinel- Ramos, 2020) como se menciona anteriormente, se había propuesto la existencia de *C. c. limitaneus*, posterior a esto un estudio realizado por Boubli et al. (2012) determinaron que las poblaciones centroamericanas de subespecies de *Cebus capucinus* que anteriormente incluían a *C. c. limitaneus* fueran reasignadas a una especie separada, *Cebus imitator*; esto basado a estudios moleculares que indicaban una división filogenética entre poblaciones de capuchinos en Suramérica y el oriente de Panamá. Como resultado, *C. c. limitaneus* era ahora considerado un sinónimo junior de la subespecie *Cebus capucinus imitator*. Posterior a esto, Ruiz- García y Castillo (2016) rechazaron el arreglo taxonómico propuesto por Boubli y colaboradores argumentando que los datos mitocondriales mostraban que los haplotipos de los haplogrupos colombiano y centroamericano se encontraban en individuos que pertenecían a las mismas tropas en el centro y norte de Panamá sin presentar diferencias morfológicas. Sugerían que la mezcla de haplogrupos se generó a partir de poblaciones pequeñas sometidas a intensa deriva genética durante la formación del puente terrestre de Panamá y los cambios climáticos en el cuaternario, además que el estudio presentaba un bajo número de muestras lo cual no proporcionaba el soporte suficiente para aceptar tal propuesta, por lo cual no estuvieron de acuerdo con la elevación de *C. imitator* a nivel de especie y sugirieron mantener una clasificación más conservadora. De acuerdo con lo anterior es evidente la falta de claridad y vacíos que

pueden existir sobre la filogenia molecular de esta especie, cabe resaltar que los capuchinos son primates bastantes diversos y a medida que se obtienen más muestras a lo largo de Centroamérica y Latinoamérica es posible que se puedan obtener nuevos taxones. Por lo cual es necesario realizar muestreos amplios y sus respectivos análisis para poder obtener una mayor claridad sobre su taxonomía y origen. Para el presente trabajo se sigue lo propuesto por Ruíz- García & Castillo (2016) en donde se toma *C. c. imitator* como subespecie, para ello se realizaron análisis genéticos de individuos procedentes de la Isla Roatán en Honduras, con el uso de los genes mitocondriales de la subunidad I y II de citocromo c oxidasa, de los cuales el gen *mtCOI* se ha convertido en el código de barras estándar para animales (Hebert, et al., 2003) y el gen *mtCOII* se ha estudiado ampliamente en filogenética de primates neotropicales. Este estudio tiene como objetivos determinar el número de acervos genéticos diferentes presentes en las poblaciones de *Cebus capucinus* distribuidas en Colombia y Centroamérica. Se pretende investigar específicamente si las poblaciones insulares cercanas al continente son resultado de una introducción antropogénica de estos primates en épocas históricas, o si, alternativamente, representan un proceso de colonización natural posiblemente facilitado por conexiones preexistentes entre la isla Roatán y el continente hondureño. Adicionalmente, observar si los perfiles genéticos analizados pueden ser utilizados para establecer el origen geográfico de ejemplares incautados en operativos de control ambiental llevados a cabo por la Secretaría Distrital de Ambiente (SDA) de Colombia.

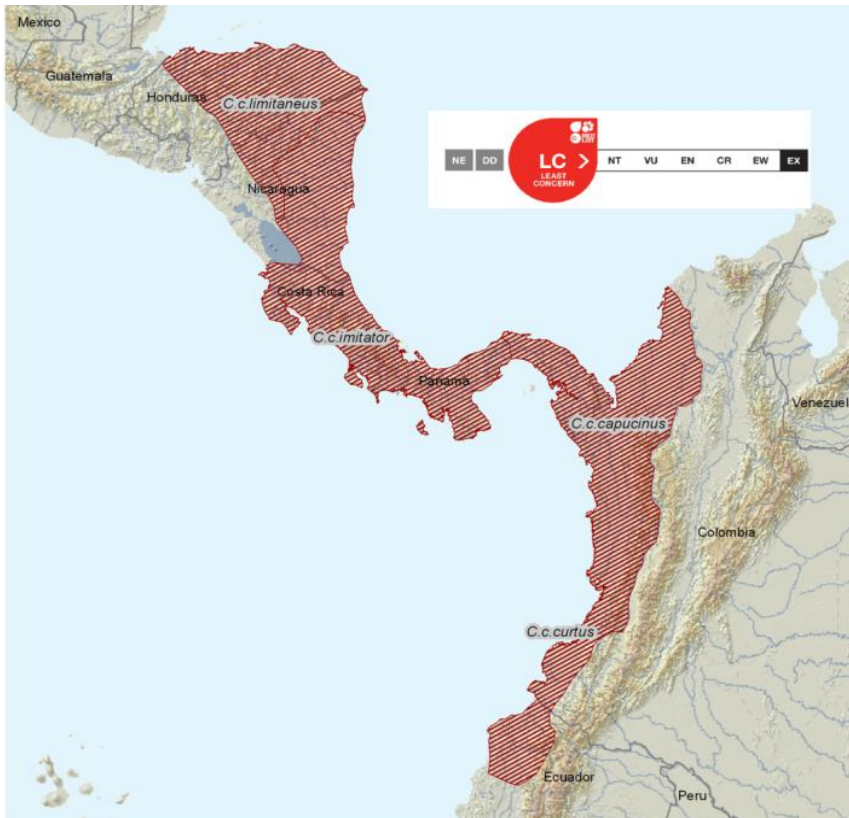
## **MARCO TEÓRICO**

### **ESPECIE DE ESTUDIO Y DISTRIBUCIÓN**

Los capuchinos también llamados comúnmente como mono capuchino de cara blanca, constituye un miembro neotropical del orden Primates, familia Cebidae, género *Cebus* y especie *C. capucinus*. Su área de distribución se extiende desde el norte de Honduras hasta Panamá en Centroamérica, y en Sudamérica, abarca desde el occidente de Colombia en la región andina hasta el noroeste de Ecuador, como se ilustra en la Figura 1, cabe destacar que se ilustra la distribución correspondiente al año 2010, donde *C. c. imitator* se clasifica como una subespecie. En la actualidad, la UICN presenta mapas con distribuciones separadas, elevando la subespecie mencionada con anterioridad al nivel de especie; esto resulta en una separación de su distribución de la especie y subespecies de *C. capucinus*, por tal razón no se ilustra un mapa de fecha actualizada ya que este estudio no acepta a *C. c. imitator* como especie acorde a los estudios realizados por Ruiz- García y Castillo (2016). Esta especie demuestra una amplia plasticidad ecológica, habitando en una variedad de biotopos que incluyen bosques caducifolios maduros, bosques

secundarios, manglares, marismas y bosques de galería (Fragaszy et al. 2004). Exhibe una notable capacidad adaptativa a diferentes tipos de bosques tropicales, atribuida a sus sofisticadas estrategias de forrajeo y a su habilidad para explotar diversos recursos del hábitat. Se caracteriza por una dieta omnívora y una estructura social en la que se congregan en grupos que pueden variar entre 10 y 35 individuos, según Boinski et al. (1999). La estructura reproductiva es predominantemente polígama, con un macho dominante reproductor, acompañado de varios machos subordinados y un grupo de hembras emparentadas. Esta especie también es reconocida por sus avanzadas habilidades en la fabricación y uso de herramientas, conocimiento de plantas medicinales y la emisión de vocalizaciones específicas. Físicamente, se distingue por su pelaje predominantemente negro con regiones blancas o claras en la cara, garganta y pecho. Sin embargo, los individuos de la región centroamericana pueden presentar variaciones en su pelaje, generalmente de tonos marrones oscuros (Fragazy et al. 2004). Aunque Hernández-Camacho y Cooper (1976) y Groves (2001) han realizado estudios morfológicos sugiriendo variaciones en tamaño craneal y estatura entre las subespecies reconocidas por Hershkovitz, la

variabilidad en patrones de pelaje y coloración ha sido considerada demasiado amplia para determinar diferencias subespecíficas de manera conclusiva.



**Figura 1. Distribución de *Cebus capucinus*. Mapa tomado de Lista roja de especies amenazadas IUCN (2010).**

## IMPORTANCIA ECOLÓGICA

La relevancia ecológica de las poblaciones de *Cebus capucinus* y sus subespecies, denominadas en términos comunes como mono cariblanco, constituye un área de investigación multifacética, particularmente en su función como agentes de dispersión de semillas. Esta actividad representa un mecanismo vital para la regeneración forestal, contribuyendo sustancialmente al mantenimiento de la biodiversidad y la funcionalidad de los ecosistemas arbóreos (referencias incluyen Chapman and Fedigan, 1990; Emmons, 1990; Esslinger, 1966; Esslinger, 1979; Grzimek and Gold, 2004; Nowak, 1991; Semple et al., 2002). La capacidad de esta especie para habitar y prosperar en entornos alterados o en recuperación destaca su papel en el ciclo de nutrientes como consumidores primarios y en el reciclaje de materia orgánica (Estrada & Coates-Estrada, 1993). Investigaciones recientes han mostrado la interacción entre la dieta de *Cebus capucinus* y la composición de su microbioma gastrointestinal. Se ha observado que, en condiciones de disminución en la disponibilidad de frutas, estos primates incrementan la ingestión de artrópodos, induciendo cambios adaptativos en su microbioma que facilitan la digestión de estos recursos alimenticios alternativos. Este fenómeno evidencia una adaptabilidad sustancial a las fluctuaciones estacionales de recursos (The ISME Journal, 2020), reforzando la comprensión de su plasticidad ecológica y nutricional.

## SISTEMÁTICA TAXONÓMICA Y FILOGENIA MOLECULAR

Hill (1960) mencionó que la clasificación de las numerosas formas que se encuentran en el género *Cebus*, constituye uno de los grandes interrogantes en la taxonomía de primates desde sus inicios. La causa principal de dicha confusión se debe a su alta variabilidad fenotípica entre capuchinos, incluso entre individuos de la misma población. Esto puede suceder por diversos factores, como lo es la hibridación *ex situ* que puede suceder durante el decomiso y posterior liberación en territorios diferentes o alejados de su población de origen (Rylands et al. 2000). Sin embargo, para poder tener certeza de este tipo de ocurrencias, se hace necesario contar con estudios moleculares y biogeográficos que puedan corroborar si las especies parentales pueden ser conespecíficas o encontrarse en grado de diversificación, en el cual no ha sucedido una verdadera especiación. La filogenia molecular ha contribuido con severas modificaciones e importantes aclaraciones en la sistemática de los primates, por lo cual, este tipo de estudios permite tener una visión más amplia y certera de los lugares de origen de los posibles decomisos que puedan suceder, para así, poder realizar liberaciones acordes a las poblaciones de origen y evitar solapamientos con poblaciones diferentes.

Dentro de este tema, es muy importante resaltar la filogeografía, rama la cual fue introducida en 1987 por John Avise y colaboradores, en donde pudieron percibir que ramas pertenecientes a arboles genealógicos podrían evidenciar patrones geográficos. Este concepto ha evolucionado gracias a estudios moleculares con el ADN mitocondrial, el cual al ser materno clasifica distribuciones espaciales de genotipos creando relaciones matrilineales. De acuerdo con Harrison (1989) el uso combinado de estas herramientas como información geográfica y filética de la distribución de los alelos entre poblaciones relacionadas puede brindar información para poder deducir relaciones geográficas de poblaciones ancestrales como también su origen previo a la divergencia, siendo de igual forma, herramienta de apoyo para eventos macroevolutivos y microevolutivos (Avise, 2000). Es importante resaltar que actualmente la filogeografía hace uso de métodos y herramientas principales tales como la biogeografía, filogenia y genética de poblaciones, para así poder brindar una amplia historia evolutiva de las especies en cuestión.

#### IMPORTANCIA ESTUDIOS GENÉTICOS Y MARCADORES MITOCONDRIALES

Como es mencionado anteriormente, la clasificación taxonómica de individuos pertenecientes a *Cebus capucinus* ha sido compleja por lo cual surge la necesidad de realizar evaluaciones con apoyo de análisis poblaciones que puedan brindar soluciones para esclarecer los vacíos presentes en cuanto a su origen y relaciones. Estas investigaciones son cruciales para entender la diversidad genética y evolución que han podido presenciar a lo largo de la historia, así como apoyar análisis de clasificación taxonómica; además de ser fundamentales para la conservación y manejo ya que al entender la estructura genética de las poblaciones se pueden desarrollar estrategias de conservación, Nieves et al. (2021) destacan la importancia de la variabilidad genética para la conservación y manejo de la especie como también su adaptabilidad y respuesta a diferentes entornos con sus cambios ambientales. En la investigación genética, los marcadores moleculares desempeñan un papel crucial, y estos pueden ser de tipo nuclear o mitocondrial. Los marcadores mitocondriales son especialmente útiles para la reconstrucción filogenética y filogeográfica debido a sus características distintivas, como altas tasas de evolución y ausencia de recombinación. Un aspecto notable es que las células contienen un número elevado de mitocondrias, a menudo cientos, en comparación con un único núcleo celular. Esta abundancia de mitocondrias facilita la extracción y amplificación de ADN mitocondrial. Además, el ADN mitocondrial (mtADN) es considerado una herramienta valiosa para el análisis de historias evolutivas moleculares. Según Moritz et al. (1987), el mtADN evoluciona de manera neutral, lo que significa que sus mutaciones neutrales se acumulan con el tiempo sin ser significativamente afectadas por la selección natural o por

procesos de recombinación durante la meiosis. Este patrón de acumulación neutral permite que los niveles de divergencia reflejen de manera más precisa los tiempos evolutivos reales entre los taxones, como destacan Galtier et al. (2009).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras utilizadas pertenecen al Laboratorio de Genética de Poblaciones y Biología Molecular y evolutiva de la Pontificia Universidad Javeriana, colectadas por el Profesor Manuel Ruiz García y otras proporcionadas por instituciones de control ambiental como lo es la Secretaría Distrital de Ambiente (SDA). Los individuos analizados provienen de la Isla Roatán en Honduras con un total de 144 ejemplares de subespecies de *Cebus capucinus* para el gen mitocondrial *mtCOII* y 61 para la combinación de ambos genes mitocondriales *mtCOI* (648 pares de bases) y *mtCOII* (710 pb). El proceso de extracción del ADN se realizó a partir de muestras de piel y bulbo de pelo.

- El proceso de extracción para las muestras de piel y tejido se elaboró de la siguiente manera: se retiró todo el pelo y se cortó en trozos pequeños de un centímetro cuadrado, posterior, se realizó lavado con SDS (sodio dodecil sulfato) al 20% en tubos eppendorf, se realizó vórtex y se descartó sobrenadante, se repitió el proceso hasta observar que no hubiera espuma producto de los detergentes maceradas con buffer de lisis, el cual está compuesto por detergentes, sales y EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) (Sambrook, Fritsch & Maniatis, 2001). Seguido, se ubicaron en tubo eppendorf y se puso en digestión con 300 µl de buffer de lisis, 20 µl de SDS y 10 µl de proteinasa K, todo a 56°C en equipo baño María; pasado el tiempo y al observar que la muestra se encontraba efectivamente lisada, se procedió a seguir el protocolo de fenol- cloroformo (Sambrook et al., 1989).
- El proceso de extracción para las muestras de pelo se procedió a separar alrededor de 15-20 hebras que presentaran bulbo, fueron lavadas con aproximadamente 40 µl de SDS al 20% y 1 mL de agua en tubos eppendorf, se realizó vórtex y se descartó sobrenadante, se repitió el proceso hasta observar que no hubiera espuma producto de los detergentes. Posterior se realizó el protocolo de extracción de ADN estándar de resina quelante Chelex 10% (Bio-Rad Laboratories, 2000).

## AMPLIFICACIÓN DE ADN

Se realizaron reacciones en cadena de polimerasa (PCR) para la obtención de los genes amplificados de *mtCOII* y *mtCOI*, esto gracias al uso de termocicladores T100 y T1000 de la marca Bio-Rad. Las PCR se llevaron a un volumen final de 25 µl, compuestas por 2.5 µl de Buffer 10X, 3 µl de MgCL, 1 µl de dNTPs, 1 µl de Taq Polimerasa, 1 µl de cada primer, volumen de ADN variando la concentración adecuada para cada muestra y agua que puede variar en volumen para alcanzar un volumen final de 25 µL. En primer lugar, se usaron los siguientes primers: para el marcador *mtCOI* se usaron el forward primer LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'), y el reverse HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3') (657 pares de bases, bp) (Folmer et al., 1994) bajo la siguiente condición de PCR: 94°C por 5 min, seguido de 39 ciclos de 94°C por 30 s, 44°C por 45 s, 72°C por 45 s, y una extensión final de 72°C por 5 min. En cuanto al marcador COII se usaron los siguientes cebadores o primers L6955 (50-AACCATTTCATAACTTTGTCAA-30) y H7766 (50-CTCTTAATCTTTAACTTAAAAG-30) (Ashley & Vaughn, 1995; Collins & Dubach, 2000), seguido de las condiciones de reacción en termociclador de: 95°C por 5 minutos, 35 ciclos de 45 segundos a 95°C, 30 segundos a 50°C, 30 segundos a 72°C y una extensión final de 72°C por 5 minutos.

## ELECTROFORESIS, VISUALIZACIÓN Y SECUENCIACIÓN

Las amplificaciones se revisaron en geles de agarosa al 2%, los cuales fueron visualizados en un transiluminador de rayos UV. Para el proceso de secuenciación, se enviaron los amplificados con sus respectivos primers a la Universidad de los Andes, en donde las secuencias obtenidas pasaron por proceso de alineamiento y posterior manejo de programas como el software RAxML v.7.6.6 (Stamataki, 2006; Stamatakis et al., 2008) para realizar análisis de árboles filogenéticos de máxima verosimilitud.

## RESULTADOS

En este estudio se generaron dos árboles filogenéticos basados en la metodología de máxima verosimilitud. El análisis del marcador mitocondrial *mtCOII* reveló la existencia de al menos cuatro acervos genéticos distintos, como se ilustra en la Figura 2. El primer acervo, con un soporte de bootstrap del 82%, incluye muestras de Córdoba (183, 184), Sucre (31), Antioquia (92, 96), Cauca (28) y Valle del Cauca (67), así como dos individuos del parque Jaime Duque, ubicado en las cercanías de Bogotá (JAIMEDUQUE17 y JAIMEDUQUE7). El segundo acervo genético está representado por un único espécimen del Valle del Cauca (Cali68). El tercer acervo, con un respaldo del 100%, se subdivide en cuatro subgrupos. El primero agrupa individuos de Córdoba (61, PUERTOLIBERTADOR), Antioquia (91, 101, 103), Valle del Cauca (13), Sucre (52), un ejemplar del parque Jaime Duque (Nassar6) y tres ejemplares incautados por la SDA (23, 538 y 77). El segundo subgrupo incluye muestras del Chocó (2696, 42) y Valle del Cauca (45559). El tercero y el cuarto subgrupos constan de ejemplares de Panamá (5, 7) y de Antioquia (107) con Valle del Cauca (9, 12, 15), respectivamente. El cuarto acervo genético, con un soporte del 100%, abarca una amplia distribución geográfica en Colombia, incluyendo ejemplares de Risaralda (25, 26), Antioquia (106, 102, 100, 97, 93, 95, 108, 90, 88, 99, 104, 94, 89, 98, 3, 4, 003, 2), Córdoba (185, 186, 110, 109), Bolívar (75), Magdalena (56), Cauca (33), Valle del Cauca (10) y Sucre, además de 4 especímenes decomisados por la SDA (75, 18, 61, 76).

En contraste, los especímenes centroamericanos exhiben mayor homogeneidad genética, como se demuestra en la Figura 2. Se identificó un único acervo genético (72%) que se divide en varios subgrupos. El más extenso incluye muestras de Costa Rica (173, 170, 168, 167, 166, 165, 162, 161, 160, 159, 158, 157, 156, 153, 152, 150, 149, 148, 147, 146, 145, 138, 114, 178, 177, 119, 118, 116, 115, 111, 113, 117), Panamá (04, 1), Guatemala (13, 12, 11, 87), Nicaragua (17, 18) y la Isla Roatán en Honduras (10, 11, 16 y 19). Por otro lado, también existe un pequeño subgrupo (90%) integrado por 3 ejemplares de la Isla Roatán (14, 21, 22), junto a dos subgrupos más, uno conformado por individuos provenientes de Costa Rica (151, 171, 172) y Panamá (2, 6, 8) (74%), donde también se incluyen dos especímenes incautados por la SDA (49, 2023-03); se usó como grupo externo especies del género *Aotus*.

En el análisis del segundo árbol filogenético, generado mediante la combinación de los marcadores mitocondriales *mtCOI* y *mtCOII*, se incluyeron un menor número de muestras, lo cual resultó en una resolución reducida en cuanto a la diferenciación interna de los grupos, como se ilustra en la Figura 3. Se identificaron tres conjuntos genéticos, consistentes con los descritos en el análisis previo. Sin

embargo, es importante destacar que el espécimen Cali68 no se incluyó en este análisis, ya que no se contaba con datos para ambos genes.

El análisis del conglomerado centroamericano reveló una notable homogeneidad genética, estimada en un 88%, aunque se identificaron menos subgrupos en comparación con el análisis del primer árbol filogenético. Dentro de este clúster, se identificó un subgrupo menor compuesto por tres individuos de la Isla Roatán (14, 21, 22), respaldados por un soporte genético del 86%. Globalmente, este segundo análisis filogenético proporcionó resultados congruentes con los del primer estudio. Sin embargo, la menor cantidad de muestras incluidas en este segundo árbol limitó la capacidad de distinguir subagrupaciones más detalladas dentro de la población centroamericana. En este árbol se usó como outgroup especies del género *Saimiri*.

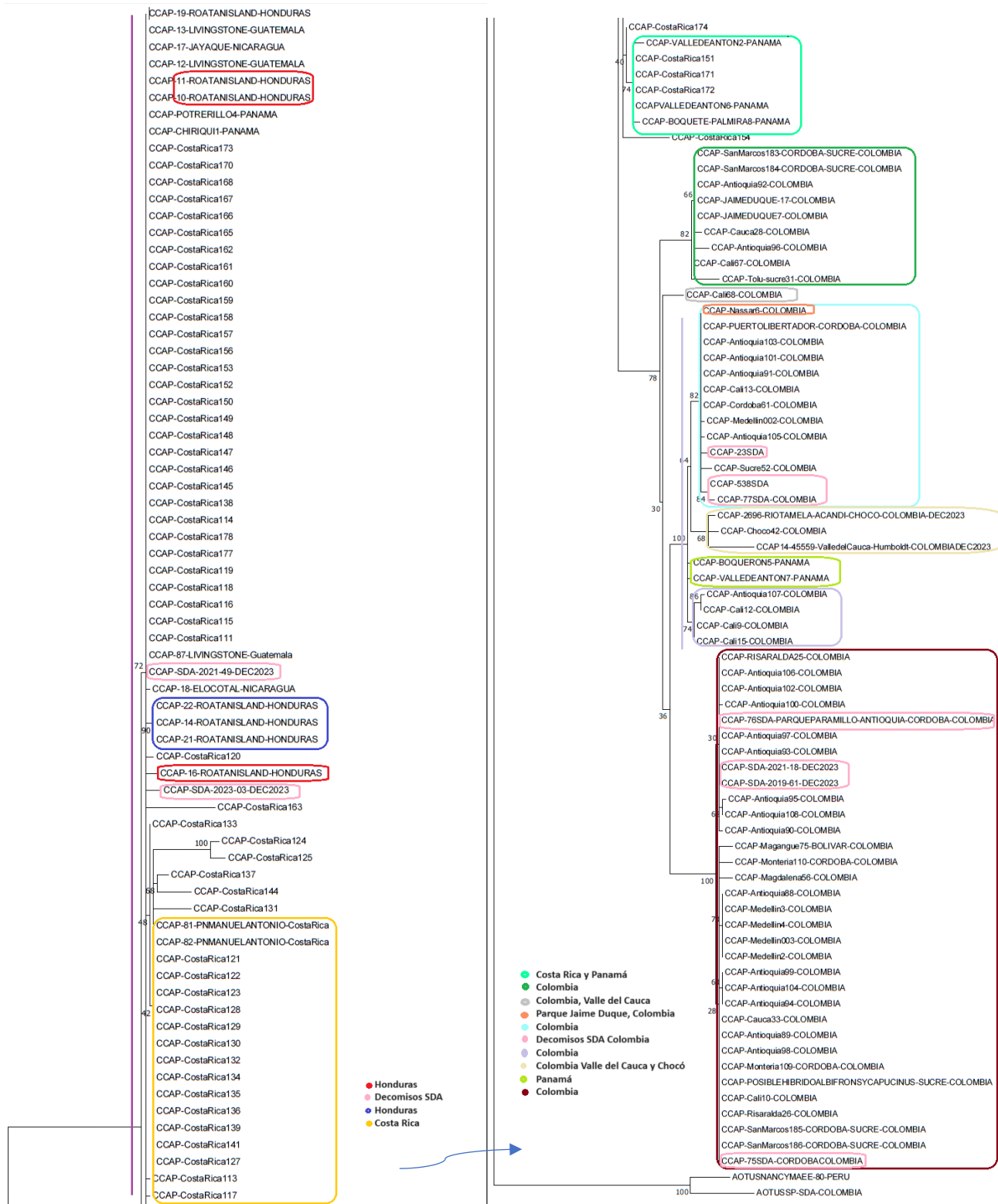
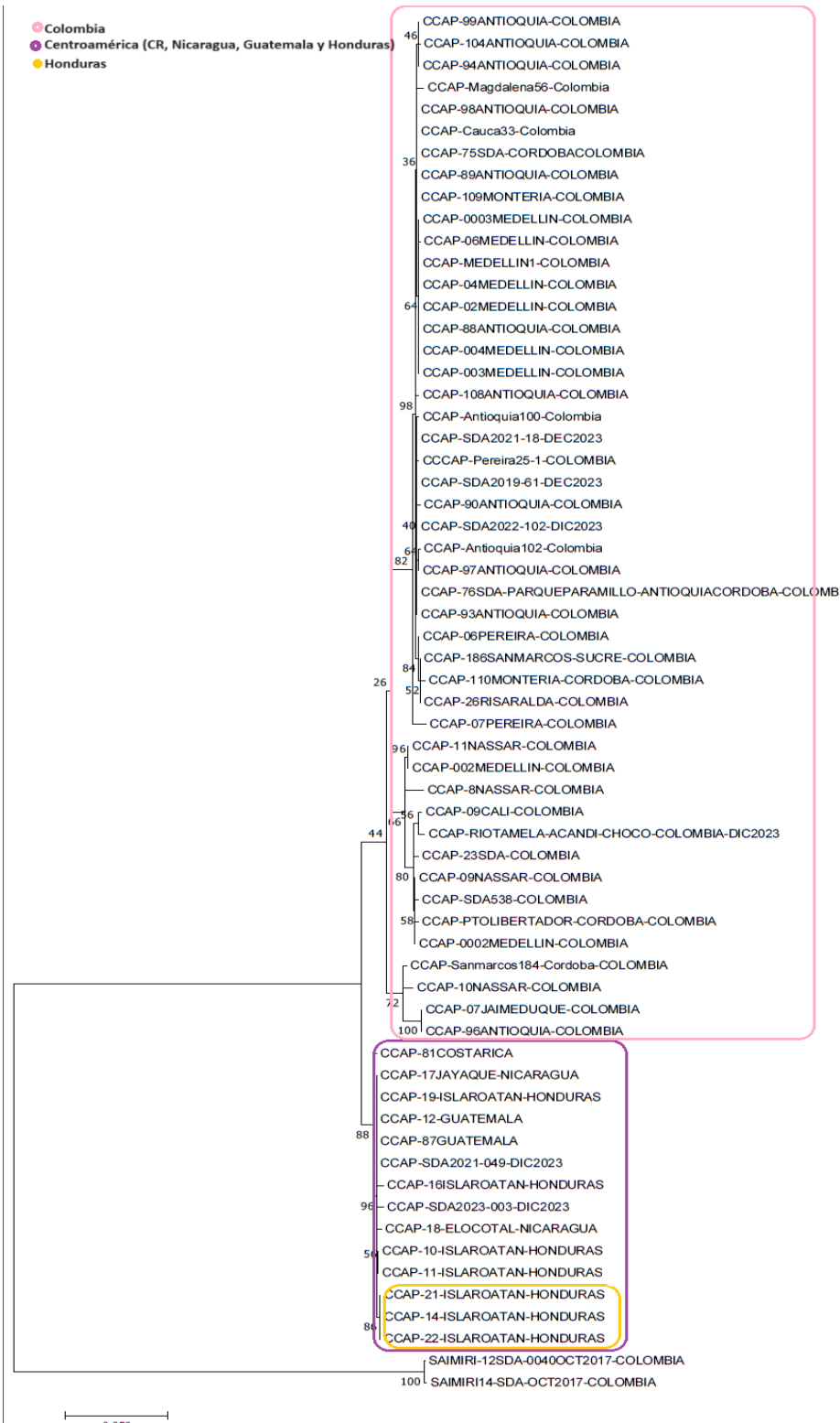


Figura 2. Árbol de máxima verosimilitud con análisis de 144 ejemplares para el gen mitocondrial *mtCOII*, muestreados a lo largo de Centroamérica y Colombia. En donde se detectan 4 acervos genéticos distintos para Colombia y un único acervo genético para los individuos de Centroamérica.



**Figura 3.** Árbol de máxima verosimilitud con análisis de 61 ejemplares para una combinación de dos genes *mtCOI* y *mtCOII*. El cual corrobora información evidenciada en el análisis del árbol anterior, siendo de soporte para los resultados obtenidos.

## DISCUSIÓN

De acuerdo con el análisis para los árboles de máxima verosimilitud para el gen *mtCOII*, se compararon individuos colombianos con los centroamericanos, en donde se evidencian 4 acervos genéticos en Colombia diferenciados de los provenientes de Centroamérica, también conocidos como pool genético es el conjunto de genes y alelos que están presentes en las poblaciones para los departamentos colombianos lo cual indica la existencia de grupos diferenciados entre Honduras y Colombia lo que puede sugerir que en Colombia se encuentran los grupos originales que dan origen a los grupos centroamericanos, en donde, para el primer acervo genético con un Bootstrap de 82% se obtienen animales provenientes de varios departamentos de Colombia con dos ejemplares del parque Jaime Duque que hacen pertenencia a esto, lo que quiere decir que si se llegara a hacer una reintroducción futura el territorio colombiano es el lugar de origen. En el tercer acervo genético se obtienen individuos de Panamá lo cual puede sugerir que en este país hay animales altamente relacionados con uno de los acervos genéticos detectado en Colombia, esto puede ser explicado por eventos geológicos de aproximadamente 4 Ma, el proceso observado se alinea con un evento de vicarianza asociado al levantamiento orogénico de los Andes durante las épocas del Mioceno y Plioceno tardío, tal como se describe en Estrada et al. (2005). Este fenómeno geológico coincidió temporalmente con la formación del Istmo de Panamá con niveles del mar aproximadamente 100m por debajo del nivel actual, que se estima ocurrió aproximadamente entre 3.8 y 3.5 millones de años atrás (Ma). La emergencia de este istmo funcionó como un corredor biogeográfico crucial, facilitando el intercambio de especies entre Suramérica y Centroamérica. Este puente terrestre permitió el flujo genético desde Colombia hacia Panamá, y de allí hacia otras regiones de Centroamérica, según lo reportado en las investigaciones de Schneider et al. (2000) y Ford (2005). El cuarto acervo genético que presentamos se encuentra ampliamente distribuido por el área de Colombia, en donde habita naturalmente esta especie, aquí pudimos obtener 4 animales decomisados por la autoridad ambiental SDA, lo que podría ayudar a dar un soporte de origen para las posteriores reintroducciones realizadas por esta entidad. Las poblaciones de *Cebus capucinus* en Colombia han experimentado una mayor exposición a la fragmentación del hábitat y a los efectos subsiguientes de la deriva genética. Estudios indican que las poblaciones más divergentes surgieron aproximadamente entre 0.3 y 0.5 millones de años atrás. Este período de divergencia parece coincidir con la glaciación de Kansas-Mindel, que tuvo lugar entre 0.43 y 0.58 millones de años atrás, seguido de una segunda fase de expansión hace alrededor de 10,000 años. Posteriormente, se observa otra divergencia genética en el rango de 0.30 a 0.10 millones de años, la cual se alinea temporalmente con el

interglaciario de Yarmouthian (0.20-0.38 Ma). Durante este último periodo, un incremento en las precipitaciones favoreció la expansión de los bosques tropicales, facilitando así la diferenciación dentro de ciertas poblaciones, particularmente en las regiones del Chocó y Cauca (Ledezma- Jiménez, 2010).

En cuanto a los ejemplares de Centroamérica se evidencia claramente la homogeneidad presente, lo que sugiere que fue un grupo que se conformó más recientemente en el tiempo a partir de algún grupo de Colombia. El mayor subgrupo del único acervo genético (72%) presenta 4 individuos provenientes de la Isla Roatán (10, 11, 16, 19), lo cual puede sugerir que muchos de los ejemplares de *C. capucinus* que habitan en la isla, fueron introducidos de manera reciente en la historia, esto puede deberse a labores antropogénicas como el caso del tráfico ilegal. Sin embargo, se evidencia un pequeño subgrupo (90%) que se encuentra integrado por 3 ejemplares de la misma isla (14, 21, 22) que podrían haberse originado por alguna introducción más antigua, esto puede deberse a la conexión que hubo entre los países hace aproximadamente 0.8Ma en donde ocurrió un evento de descenso de las aguas marítimas que permitió el paso por el tapón del Darién desde Colombia a Panamá y entre Honduras y Guatemala, dando paso a eventos de dispersión de Suramérica a Centroamérica (Rylands et al. 2005; Ford., 2005). Es probable que, en respuesta a los eventos geológicos y climáticos previamente mencionados, se haya desarrollado una considerable diversificación genética en el continente. Esta diversificación podría haber alcanzado su punto álgido con la formación final de la porción norte de la gran cordillera, lo cual facilitó mecanismos de especiación y diferenciación entre las formas de primates de Centroamérica y Suramérica, según indican Lehman & Feagle (2006) y Garber & Estrada (2008), incrementando a su vez el aislamiento de parte del occidente de Colombia y Ecuador, actualmente departamentos del Magdalena, Cauca y Chocó; este fenómeno geográfico y evolutivo pudo haber sido un factor determinante en la variabilidad genética observada en estas regiones. Por otro lado, las colonizaciones insulares por parte de estos animales, son un misterio ya que no se evidencian eventos geológicos que puedan determinar exactamente conexiones entre la Isla Roatán con su país continente, pero cabe resaltar que las poblaciones indígenas precolombinas que habitaban los bosques tropicales de Guatemala, sureste de México y Belize coexistieron con diversas especies de primates no humanos, lo cual quedó evidenciado en su arte precolonial; diversas expresiones artísticas como la cerámica, esculturas en piedra, trabajos en hueso y jeroglíficos reflejan esta relación, según se documenta en estudios de Baker (1992, 2014), Braakhuis (1987), Coe (1977), Danien (2005), Grube y Nahm (1994), Mock (1997), South (2005). De acuerdo con el estudio anterior, se enfocaron en identificar las especies de monos representadas en la cerámica del período clásico maya, particularmente aquellas que habitaban en las tierras bajas de la región maya.

Hallazgos arqueológicos en Buenavista Belize, revelaron la presencia de individuos pertenecientes a *Cebus capucinus*, lo cual podría sugerir la hipótesis de posibles introducciones de esta especie por parte de estas poblaciones cercanas a la Isla Roatán en expediciones u otras labores de paso. Esto soporta los registros no confirmados de la subespecie *Cebus capucinus imitator* en las regiones sur y occidental de Belice, específicamente en el bosque Chiquibul, situado en las Montañas Maya, así como en el este de Guatemala (Rylands et al., 2005). Además, se ha reportado la presencia de *Cebus capucinus limitaneus* en Centroamérica, con una posible superposición parcial de sus poblaciones con *C. c. imitator* en áreas de Belice y Chiquibul. Silva-López et al. (1998) mencionan una presencia potencial de esta subespecie en Guatemala, en la Sierra del Espíritu Santo, cerca de la frontera con Honduras. Estos hallazgos sugieren una distribución geográfica compleja y posiblemente entrelazada de las subespecies de *Cebus capucinus* en esta región, por otro lado, cabe resaltar que la notable diversidad fenotípica observada entre los capuchinos, incluso dentro de una misma población, se manifiesta de manera más pronunciada en ciertas comunidades. Esta variación podría ser exacerbada por procesos de hibridación natural con poblaciones cercanas, así como por la mezcla genética ex situ que ocurre durante el decomiso y la reubicación de individuos lejos de su hábitat original (Rylands et al. 2000) por eso es de suma importancia el conocimiento certero del origen geográfico de los individuos. Se ha registrado que los capuchinos son capaces de hibridarse en cautiverio con especies que coexisten en el mismo hábitat, lo que sugiere la posibilidad de hibridación en condiciones silvestres con poblaciones vecinas. En este contexto, es plausible que ocurra el cruce entre diferentes subespecies morfológicas en la naturaleza, evidenciado por el hallazgo de morfotipos intermedios entre subespecies de *Cebus capucinus* y *Cebus albifrons* de acuerdo con reportes realizados por Hernández-Camacho y Cooper (1976) y Ruiz-García & Castillo (2016).

Los dos subgrupos restantes, conformados por ejemplares de Costa Rica (42%) y Panamá junto a Costa Rica (74%) se obtuvo evidencia de la presencia de dos animales decomisados por parte de la SDA en Bogotá que son de origen centroamericano, esto muestra en gran parte lo fuerte que puede llegar a ser el tráfico ilegal de esta especie a nivel internacional. Las evidencias sugieren que las especies de Suramérica han experimentado una mayor cantidad de eventos de divergencia comparadas con sus contrapartes en Centroamérica. Esto se ve reflejado en los elevados niveles de heterogeneidad y diversidad genética observados. Los análisis indican que las poblaciones más antiguas posiblemente se originaron en Colombia, expandiéndose posteriormente hacia Centroamérica. Este patrón respalda la teoría de que el origen de estas especies se sitúa en el sur occidente colombiano, destacando el papel crucial de las

regiones del Chocó y Darién como refugios durante el pleistoceno, según lo propuesto por Haffer (1982) y Ford (2005).

Para el árbol de máxima verosimilitud de la combinación de los genes mitocondriales *mtCOI* y *mtCOII* muestra una topología que apoya los resultados obtenidos en el primer árbol formulado, como fue mencionado anteriormente en los resultados. El ejemplar Cali68 se pierde, ya que no se obtuvieron el segundo marcador *mtCOI*. Se evidencia que el grupo con los ejemplares centroamericanos continúa siendo muy homogéneo, corroborando el análisis anterior, aunque presenta menos agrupaciones internas, esto debido a que se presenta menos cantidad de datos. Es de importancia resaltar que el pequeño subgrupo de tres ejemplares de la isla Roatán (86%: 14, 21, 22) lo cual sustenta la sugerencia de que pueden ser descendientes de especímenes que ingresaron a la isla hace un cierto tiempo o que podrían proceder de un área de Honduras que posea una pequeña diferenciación genética que no ha sido muestreada hasta el momento, como se mencionó anteriormente. Los diferentes eventos geológicos como antropológicos pueden dar pie a colonizaciones de poblaciones que pueden sufrir procesos de divergencia genética. En contraste a los ejemplares anteriores, los individuos procedentes también de la isla Roatán (10, 11, 16, 19) presentan como fue mostrado en el análisis anterior, una evidencia de haber sido introducidos más reciente en el tiempo.

## CONCLUSIONES

1. En cuanto a la diversidad genética de *C. capucinus* en Colombia, nuestros resultados indicaron la existencia de múltiples acervos genéticos de *Cebus capucinus* en Colombia, los cuales presentan una superposición geográfica significativa. Estos acervos son más antiguos en comparación con aquellos identificados en Centroamérica, sugiriendo un patrón de colonización desde Colombia hacia el norte. En Centroamérica, la mayoría de los individuos pertenecen a un acervo genético único, aunque algunos ejemplares panameños comparten similitudes genéticas con uno de los acervos colombianos. Queda por determinar si esta distribución es resultado de procesos naturales o de intervenciones antropogénicas recientes.
2. Se evidenció que el origen de los ejemplares de la Isla Roatán, después de ser realizado el análisis sugieren que los monos en la isla Roatán probablemente fueron introducidos en épocas históricas. La mayoría de estos ejemplares son genéticamente indistinguibles de los de Centroamérica, lo que implica una posible introducción reciente. Sin embargo, un subgrupo pequeño, con diferencias genéticas menores, podría representar una introducción más antigua, posiblemente

relacionada con actividades humanas como la colonización maya u otros contactos esporádicos hace miles de años. Alternativamente, estos ejemplares podrían originarse de una región no muestreada en Honduras, exhibiendo así una diferenciación genética leve de las poblaciones centroamericanas conocidas hasta la fecha.

3. Los marcadores genéticos utilizados en este estudio demostraron ser efectivos para determinar el origen geográfico de los animales decomisados por la Secretaría Distrital de Ambiente (SDA) o aquellos en zoológicos. De hecho, se ha identificado que al menos dos animales confiscados por la SDA tienen origen centroamericano. Este hallazgo subraya la utilidad de estos marcadores en la gestión de la conservación y el control del tráfico ilegal de especies.

## **RECOMENDACIONES**

Los análisis anteriores muestran la importancia y necesidad de estudiar el mayor número posible de ejemplares de áreas geográficas más diversas posibles, para así poder suplir vacíos de información. Para futuras investigaciones de las subespecies de *Cebus capucinus*, se sugiere realizar análisis de individuos de poblaciones procedentes del Chocó y la isla Gorgona, como también de otras regiones insulares menos abarcadas geográficamente. Esta información podría brindar una mayor claridad en el avance del entendimiento de la historia evolutiva y filogeográfica de esta especie, como también poder soportar análisis taxonómicos precisos.

## REFERENCIAS

- Aquino R, Encarnación F. 1994. Primates of Perú / Los Primates del Perú. Primate Report 40:1–127.
- Ashley MV, Vaughn TA. 1995. Owl monkeys (*Aotus*) are highly divergent in mitochondrial cytochrome c oxidase (COII) sequences. *International Journal of Primatology* 5:793–807.
- Awise, J. C. 2000. *Phylogeography: The History and formation of species*. Harvard University Press. 447p.
- Baker Mary 1992 Capuchin Monkeys (*Cebus capucinus*) and the Ancient Maya. *Ancient Mesoamerica* 3 :219–228 .10.1017/S0956536100000651
- Baker Mary 2014 Revisiting Capuchin Monkeys (*Cebus capucinus*) and the Ancient Maya. *Revue de Primatologie*. Electronic document, <http://primatologie.revues.org/1683>, accessed November 20, 2015.
- Bio- Rad Laboratories. (2000). *Chelex ® 100 and Chelex 20 Chelating Ion Exchange Resin Instruction Manual*.
- Boinski, S. & S, Cropp. 1999. Disparate data sets resolve squirrel monkey (*Saimiri*) taxonomy: Implications for behavioral, ecology and biochemical usage. *International Journal of Primatology*. 20: 237- 256.
- Boubli, J. P., Rylands, A. B., Farias, I. P., Alfaro, M. E., & Alfaro, J. L. (2012). *Cebus Phylogenetic Relationships: A Preliminary Reassessment of the Diversity of the Untufted Capuchin Monkeys*. ResearchGate.[https://www.researchgate.net/publication/277021160\\_Cebus\\_Phylogenetic\\_Relationships\\_A\\_Preliminary\\_Reassessment\\_of\\_the\\_Diversity\\_of\\_the\\_Untufted\\_Capuchin\\_Monkeys](https://www.researchgate.net/publication/277021160_Cebus_Phylogenetic_Relationships_A_Preliminary_Reassessment_of_the_Diversity_of_the_Untufted_Capuchin_Monkeys)
- Braakhuis H. Edwin M. 1987 Artificers of the Days: Functions of the Howler Monkey Gods among the Mayas. *Bijdragen tot de Taal-, Land- en Volkenkunde* 143 (1):25–53. Brill, Leiden. <http://booksandjournals.brillonline.com/content/journals/10.1163/22134379-90003340?crawler=true>, accessed November 20, 2015.10.1163/22134379-90003340.

- Chapman, C., & Fedigan, L. (1990). White-faced capuchins play an important role in seed dispersal, influencing forest regeneration. \*Animal Diversity Web\*. Retrieved from <https://animaldiversity.org>
- Coe Michael D. 1977 Supernatural Patrons of Maya Scribes and Artists. In *Social Process in Maya Prehistory: Studies in Honour of Sir Eric Thompson*, edited by Norman Hammond , pp. 327 -347 . Academic Press, London.
- Coimbra-Filho, A.F. & R.A Mittermeier, 1981. *Ecology and Behavior of Neotropical Primates*. Vol. 1. Academia Brasileira de Ciencias, Rio de Janeiro.
- Collins AC, Dubach JM. 2000a. Phylogenetic relationships of spider monkeys (*Ateles*) based on mitochondrial DNA variation. *International Journal of Primatology* 21:381–420.
- Danien Elin 2005 A Ritual Vessel in a Maya Cave: Chocolate-Loving Monkeys and Humans. *Expedition* 47:48. Electronic document, <http://www.penn.museum/sites/expedition?s=Chocolate-Loving+Monkeys>, accessed November 20, 2015.
- Defler, T. R. 2003. *Primates de Colombia*. Conservación Internacional Colombia.
- Estrada, A.; P, Garber., M, Parvelka & L, Luecke. 2005. *New perspectives in the study of Mesoamerican primates: Distribution, Ecology, Behavior and Conservation (Developments in Primatology: Progress and Prospects)*. Springer (eds). Primera edición. 600p.
- Fedigan L., Rose L. & Morero Ávila R. (1996) Tracking a capuchin monkey (*cebus capucinus*) populations in a regenerating Costa Rican Forest. In: *Adaptive radiations of Neotropical Primates*, pp. 289–307.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 294-299.

- Ford, S.M. 2005. The Biogeographic History of Mesoamerican primates. In: Estrada, A.; P.A, Garber.; S.M Palveka & L. Luecke (eds) *New perspectives in the study of Mesoamerican primates*. Springer, New York.
- Fragaszy, D. M., E. Visalberghi & L. Fedigan. 2004 *The Complete Capuchin: The Biology of the Genus Cebus*. Cambridge University Press, Cambridge. 339p.
- Galtier N, Nabholz B, Glemin S & Hurst GDD (2009) *Molecular Ecology* 18: 4541–4550.
- Garber, P. A. & A. Estrada. 2008. *South American Primates: Comparative Perspectives in the Study of Behavior, Ecology, and Conservation*. Ed. Springer. 564p
- Groves, C.P., 2001. *Primate Taxonomy*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC.
- Grube Nikolai, and Werner Nahm 1994 *A Census of Xibalba: A Complete Inventory of Way Characters on Maya Ceramics* . In *The Maya Vase Book: A Corpus of Rollout Photographs of Maya Vases, Volume 4*, edited by Justin Kerr , pp. 686 -715 . Kerr Associates, New York .
- Gutierrez, E. E.,&J. Marinho-Filho.2017. The mammalian fauna's endemic to the Cerrado and the Caatinga. *ZooKeys* 644:105-157. <https://doi.org/10.3897/zookeys.644.10827.figure1>
- Haffer, J. 1982. General aspects of the refuge theory: In: Prance GT. (Ed). *Biological diversification in the tropics*. Columbia University Press, New York. P 6-24.
- Harrison, R.G. 1989. Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. *Trends. Ecol. Evol.* 4: 6-11-
- Hernandez-Camacho, J., & R. W. Cooper.1976. The nonhuman primates of Colombia. *Neotropical Primates: Field Studies and Conservation* (R.W. Thorington Jr. & P. G. Heltne, eds.). National Academy of Sciences, Washington D. C.

- Hill WCO. 1960. Primates. Comparative anatomy and taxonomy IV. Cebidae Part A. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- Ledezma- Jimenez. 2020. Filogeografía entre poblaciones de *Cebus capucinus* (Cebidae: Platyrrhini) en Colombia, Costa Rica y Guatemala. Trabajo de grado para optar a título de Bióloga. Pontificia Universidad Javeriana
- Lehman, S.M. & J.G, Feagle. 2006. Primate Biogeography. Springer, New York. P 1-58.
- Lynch-Alfaro, J. W., J. D. S. E. Silva Jr., & A. B. Rylands. 2012. How different are robust and gracile capuchin monkeys? An argument for the use of *Sapajus* and *Cebus*. *American Journal of Primatology* 74:273-286.  
<https://doi.org/10.1002/ajp.22007>
- Lynch Alfaro JW, Boubli JP, Olson LE, DiFiore A, Wilson B, Gutierrez-Espeleta GA, Alfaro ME. 2012b. Explosive Pleistocene range expansion leads to widespread Amazonian. sympatry between robust and gracile capuchin monkeys. *J Biogeography* 39:272–288
- Mock Shirley Boteler 1997 Monkey Business at Northern River Lagoon: A Coastal-Inland Interaction Sphere in Northern Belize . *Ancient Mesoamerica* 8 :165 -183 .10.1017/S0956536100001668
- Moritz, C. T. E. D., Dowling, T. E., & Brown, W. M. (1987). Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. *Annual review of ecology and systematics*, 18(1), 269-292.
- Nieves, M., et al. (2021). Assessment of genetic variability in captive capuchin monkeys (Primates: Cebidae). *Scientific Reports*, 11(1), 7306
- Nascimento, F. F., Lazar, A., Seuánez, H. N., Bonvicino, C. R. (2015). Reanalysis of the biogeographical hypothesis of range expansion between robust and gracile capuchin monkeys. *Journal of Biogeography*.  
<http://wileyonlinelibrary.com/journal/jbi> doi:10. 1111/jbi. 12448.

- Pinel- Ramos., 2020. Population density estimate for the white-faced capuchin monkey (*Cebus imitator*) in the multiple use area Montaña La Botija, Choluteca, Honduras and a range extension for the species. *Neotropical Primates* 26(1)
- Ruiz-García, M. et al. 2010. Molecular phylogenetics and phylogeography of the white-fronted capuchin (*Cebus albifrons*; Cebidae, Primates) by means of *mtCOII* gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 57:1049-1061. [https:// doi.org/10.1016/j.ympev.2010.09.002](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.09.002)
- Ruiz-García M, Castillo MI, Ledezma A, Leguizamon N, Sanchez R, Chinchilla M, Gutierrez-Espeleta GA. 2012a. Molecular systematics and phylogeography of *Cebus capucinus* (Cebidae, Primates) in Colombia and Costa Rica by means of the mitochondrial COII gene. *Am J Primatol* 74:366–380.
- Ruiz-García, M., M. I. Castillo, N. Lichilin-Ortiz, & M. Pinedo- castro. 2012b. Molecular relationships and classification of several Tufted Capuchin lineages (*Cebus apella*, *Cebus xanthosternos* and *Cebus nigrilus*, Cebidae), by means of mitochondrial cytochrome oxidase ii gene sequences. *Folia Primatologica* 83:100-125. <https://doi.org/10.1159/000342832>
- Ruiz-García, M., Castillo MI. 2016. Genetic structure, spatial patterns and historical demographic evolution of White-Throated capuchin (*Cebus capucinus*, Cebidae, primates) Populations of Colombia and central America by means of DNA microsatellites. Book Title: *Phylogeny, Molecular Population Genetics, Evolutionary Biology and Conservation of the Neotropical Primates*. Edited by M. Ruiz-García and J. M. Shostell (2016). Nova Science Publisher Inc., New York, USA. Book ID: -5975- Chapter 5
- Rylands AB, Mittermeier RA, Rodriguez-Luna E. 1997. Conservation of neotropical primates: threatened species and an analysis of primate diversity by country and region. *Folia Primatologica* 68:134–160.
- Rylands, A., H. Schneider, A. Laungguth., R. A. Mittermeier, C. P. Groves & E. Rodríguez- Luna. 2000. An assessment of the diversity of New World Primates. *Neotropical Primates* 8(2): 61-93.

- Rylands, A. C, Groves., R, Mittermeier., L, Costés- Ortiz & J, H. Hines. 2005. Chapter 2: Taxonomy and distributions of Mesoamerican Primates: Distribution, Ecology, Behavior and Conservation (Developments in Primatology: Progress and Prospects). Springer (eds) Primera edición. 600p.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. & Maniatis, T. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. New York (3rd ed.). New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. doi: [https://doi.org/574.873224\\_1/1989](https://doi.org/574.873224_1/1989)
- Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. V1. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press
- SERNA. 2001. *Estrategia Nacional de Biodiversidad y Plan de Acción*. Dirección General de Biodiversidad y secretaria de Recursos Naturales y Ambientes. 79 pp.
- Schneider, H. 2000. The current status of the New World Monkey Phylogeny. *Annals of Academia Brasileira de Ciencias* 72: 165-172.
- Silva- López, G.; F, García & E. Rodríguez Luna. 1996. The status of *Ateles geoffroyi* and *Alouatta palliata* in disturbed forest areas of Sierra Santa Marta, México. *Primate Conservation* 9:53-61.
- South Katherine E. 2005 *Monkeying Around the Maya Region: A Four-Field Look at Primate Iconography and the Maya*. Master's thesis, Southern Illinois University Carbondale.
- Stamatakis, A., 2006. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22, 2688– 2690.
- Stamatakis, A., Hoover, P., Rougemont, J., 2008. A rapid bootstrap algorithm for the RAxML web-servers. *Syst. Biol.* 75, 758–771.
- QIAGEN. (2020). *DNeasy® Blood & Tissue Kit Handbook*.

The ISME Journal. (2020). Seasonality of the gut microbiota of free-ranging white-faced capuchins in a tropical dry forest. Retrieved from <https://www.nature.com/articles/s41396-020-00770-8>

Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN). (2023). *Cebus capucinus*. Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN. <https://www.iucnredlist.org>