



ARTÍCULO ORIGINAL

Utilidad de variables morfométricas estandarizadas del ala para la identificación automatizada de especies y géneros de Libellulidae (Insecta: Odonata) presentes en Cuba

Utility of morphometric standardized variables of wing for automated identification of Cuban species and genus of Libellulidae (Insecta: Odonata)

Majela Hernández Rodríguez

Facultad de Biología, Universidad de La Habana

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

RESUMEN

La clasificación de las especies de odonatos cubanos es difícil debido a la complejidad de la venación de las alas. Estos apéndices se han convertido en herramientas muy útiles en estudios de morfometría geométrica. Por lo cual el objetivo de esta investigación es la evaluación del potencial que tienen las diferencias en forma de las alas para la clasificación numérica y como base para un sistema de identificación automatizada de 14 géneros y 20 especies de la familia Libellulidae para Cuba. Se colocaron puntos claves en las alas anteriores y posteriores. Las configuraciones de puntos clave fueron estandarizadas utilizando el registro Procrustes. Para el análisis taxonómico se utilizaron tres variables de forma y seis lineales, con las cuales fueron realizados análisis discriminantes y árboles de clasificación y regresión (CART). El análisis discriminante logró un 100% de discriminación correcta para ambas alas en 12 especies y 8 géneros. Los árboles CART realizados con las especies mostraron grupos mezclados en los nodos terminales para ambas alas, sin embargo, para los géneros el árbol mostró alta pureza. Los resultados obtenidos en este estudio podrían ser usados para la creación de un programa de clasificación automática para los géneros de Libellulidae que fueron correctamente clasificados con las variables analizadas.

Palabras clave: libélulas, morfometría geométrica, venación del ala, identificación automática

Recibido: 2015-01-20

Aceptado: 2015-07-14

ABSTRACT

The classification of the Cuban Odonata is difficult by the complexity of wing venation. These appendixes have become in very useful tools in studies of

geometric morphometrics. For this reason the objective of this work is the evaluation of the potential of wing shape differences for numeric classification and as a basis for an automated identification system for genera and species of the family Libellulidae in Cuba. Landmarks were placed in the fore and hind wings. The landmarks configurations were standardized using Procrustes registration. For the taxonomy analysis three shape variables and six lineal, were used for discriminants analysis and classification and regression tree analysis (CART). The discriminant analyses get a 100% of correct discrimination for both wings in 12 species and 8 genera. The trees CART showed groups mixed in the terminal nodes for both wings, however, for the genera the classification tree showed high purity. The results obtained in this study may be used for creation of automatic classification program for the Libellulidae genera correctly classified with analyzed variables.

Keywords: dragonflies, geometric morphometric, wing venation, automatic identification

INTRODUCCIÓN

El análisis de las formas de los organismos y las estructuras biológicas han sido de interés científico durante siglos. Esto es comprensible puesto que la forma es uno de los aspectos más visibles del fenotipo de un organismo y proporciona un vínculo directo entre genotipo y ambiente (Klingenberg, 2010). Tradicionalmente, los estudios morfométricos, se concentraban en el manejo estadístico de dimensiones (como las longitudes, anchos, alturas y ángulos). A finales de los años 80 del siglo XX, ocurre el cambio hacia los métodos que "capturan" la geometría de las estructuras morfológicas y preservan esta información espacial a lo largo del análisis. Este sistema de métodos y procedimientos, con base geométrica, para el análisis de las formas a partir de puntos morfológicos claves o de contornos, se ha definido como el campo de la morfometría geométrica (Adams *et al.*, 2004).

La morfometría geométrica, actualmente, ha abierto nuevas perspectivas para la evaluación de caracteres morfológicos en el contexto taxonómico, y complementa los métodos tradicionales, como las descripciones verbales o la morfometría clásica. En estudios con insectos, las alas, por ser estructuras planas, con un sistema de venación estructuralmente complejo y altamente conservado, provee numerosos puntos claves bien definidos morfológicamente. Estos puntos son comúnmente usados en análisis morfológicos (Klingenberg y McIntyre, 1998), y han mostrado proveer información fiable a nivel específico e intraespecífico de varios taxa (Baylac *et al.*, 2003).

En el orden Odonata, la venación de las alas ha sido empleada para diferenciar las especies (Trapero y Naranjo, 2003; Garrison *et al.*, 2006, 2010). Además, existen antecedentes de estudios conductuales

(Jennions, 1998), variación geográfica (Hassall *et al.*, 2008), de comparaciones entre poblaciones (Sadeghi *et al.*, 2009), evolución (Resende *et al.*, 2011), defensa territorial (Vega-Sánchez *et al.*, 2011) y alometría (Otomuro *et al.*, 2013), donde las herramientas que brinda la morfometría geométrica han sido de gran utilidad.

En Cuba se han registrado 85 taxa infragenéricos de Odonata, siendo la familia Libellulidae la mejor representada, con un 53% del total de especies (Trapero, 2011). De los insectos cubanos, este orden es uno de los más conocidos desde el punto de vista sistemático, sin embargo, las claves existentes para la identificación de los adultos se basan; entre otras características, en la venación de las alas, cuya complejidad dificulta la clasificación de las especies. Además, existen especies como *Orthemis discolor* y *O. ferruginea* Fabricius, 1775, cuya diferenciación no está aún del todo clara (Garrison *et al.*, 2006) y se requieren de otros estudios evolutivos que no pueden apoyarse únicamente en caracteres morfológicos simples. Este problema se acentúa cuando se emplean especímenes de colecciones, en los cuales aunque pueden usarse los acercamientos moleculares (Lodge y Free-land, 2003), estos se dificultan, además de ser caros y en muchos casos no accesibles. En situaciones como esta ya se ha demostrado que la morfometría geométrica se convierte en una herramienta muy eficiente (ej.: Baylac *et al.*, 2003; Aytekin *et al.*, 2007 y Tofilski, 2008).

La dificultad en las identificaciones de las especies es una de las tantas facetas del llamado "impedimento taxonómico", y obstaculiza, en muchas ocasiones, los estudios de biodiversidad ya que la demanda de identificaciones para la creación de las listas de especies

por localidades es muy superior a las capacidades de la comunidad taxonómica (Gaston y O'Neill, 2004). Una de las soluciones emergentes ante estas dificultades es la automatización de las clasificaciones a través de programas informáticos. Se han realizado numerosos esfuerzos para crear sistemas automáticos de identificación de insectos, basados en el análisis de imágenes. Algunos de estos sistemas utilizan directamente la información de los píxeles (Weeks *et al.*, 1999). Otros un conjunto de rasgos importantes que son extraídos de la imagen (como es el caso de los puntos claves) (Batra, 1988), incluso algunos sistemas incluyen una combinación de ambos procedimientos (Roth *et al.*, 1999). Tofilski (2004) señala que los puntos claves para identificación de especies tienen como ventajas por encima del análisis de imágenes digitales que sus resultados se interpretan y verifican de manera más fácil e intuitiva y que manejan menor volumen de información redundante.

A partir de estos antecedentes, en la presente investigación, se ha planteado como objetivo la evaluación del potencial que tienen las diferencias en la forma de las alas para la clasificación numérica y como base para un sistema de identificación automatizada de algunos géneros y especies de la familia Libellulidae en Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron fotografías de ejemplares de la familia Libellulidae depositados en las colecciones de la Facultad de Biología de la Universidad de La Habana, del Instituto de Ecología y Sistemática, de la Facultad de Ciencias Naturales y del Museo Charles Ramsden de La Torre, estos dos últimos de la Universidad de Oriente en Santiago de Cuba. Se incluyeron 14 géneros y 20 especies, lo que representa un 40% del total reportado para esta familia en Cuba.

Las especies empleadas fueron: *Brachymesia herbida* Gundlach, 1888 (B.her) (n=4), *Cannaphila insularis funerea* Carpenter, 1897 (C.ins) (n=9), *Crocothemis servilia* Drury, 1770 (C.ser) (n=6), *Dythemis rufinervis* Burmeister, 1839 (D.ruf) (n=6), *Erythemis plebeja* Burmeister, 1839 (E.ple) (n=6), *Erythemis vesiculosa* Fabricius 1775 (E.ves) (n=8), *Erythrodiplax fervida* Erichson, 1948 (E.fer) (n=7), *Erythrodiplax umbrata* Linnaeus, 1758 (E.umb) (n=14), *Libellula needhami* Westfall, 1943 (L.nee) (n=2), *Macrothemis celeno* Selys, 1857 (M.cel) (n=9), *Miathyria marcella* Selys,

1857 (M.mar) (n=4), *Micrathyria didyma* Selys, 1857 (M.did) (n=3), *Micrathyria dissocians* Calvert, 1906 (M.dis) (n=2), *Orthemis discolor* (O.dis) (n=4), *Orthemis ferruginea* Fabricius, 1775 (O.fer) (n=14), *Pantala flavescens* Fabricius, 1798 (P fla) (n=7), *Pantala hymenaea* Say, 1839 (P.hym) (n=3), *Scapanea frontalis* Burmeister, 1839 (S.fro) (n=4), *Tramea abdominalis* Rambur, 1842 (T.abd) (n=11) y *Tramea onusta* Hagen, 1861 (T.onu) (n=7). Entre paréntesis se especifica la abreviatura empleada para cada especie.

Para el análisis de la forma se ubicaron 23 puntos claves, 11 en las alas anteriores (AA) y 12 en las posteriores (AP) (Fig. 1), todos en el lado derecho para evitar el posible efecto de las asimetrías (Hernández y Denis, en prep.). Estos puntos fueron seleccionados teniendo en cuenta los caracteres utilizados en las claves de Trapero y Naranjo (2004) para la identificación de las especies estudiadas. De estos, 21 fueron de Tipo I o anatómicos, en los cuales la homología es apoyada por evidencias locales (10 en AA y 11 en AP) y 2 fueron de Tipo II o matemáticos (los extremos del ala), donde la homología es apoyada por la geometría, o sea, no son funcionalmente equivalentes. Estos se ubicaron en la base y ápice del ala, en el nodo, al inicio y final del pterostigma, al final de la vena R4+5, al final de la Cu-P, en los vértices del triángulo y en la intersección del puente. En las alas posteriores se

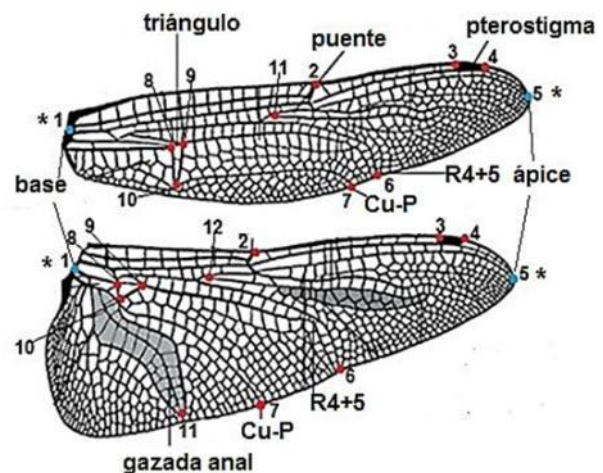


Figura 1. Puntos claves colocados en las alas anteriores y posteriores de 20 especies de la familia Libellulidae presentes en Cuba, empleadas en el análisis del valor taxonómico de la forma del ala. (*) Puntos de Tipo II o matemáticos.

Figure 1. Location of landmarks in the fore and hind wings of 20 species of Libellulidae, present in Cuba, used in the analysis of taxonomic value of wing shape. (*Type II Landmark).

ubicó, además, un punto al final de la gazada anal (Fig. 1). Las coordenadas de los puntos se obtuvieron en el programa *tpsDig* (Rohlf, 2006), por una misma persona, para disminuir el error experimental.

A los datos obtenidos se les realizó una superposición Procrustes generalizada, según recomienda Bookstein (1991). Este procedimiento re-escala y rota las configuraciones de puntos hasta lograr su máxima superposición hasta que se minimicen las medias procrustes (el promedio de las distancias euclidianas entre parejas de puntos claves homólogos). Se calculó el tamaño del centroide y la sumatoria total de las distancias euclidianas entre puntos (Sde). Esta última con el objetivo de detectar diferencias absolutas en las formas de las alas, a partir del cálculo de todas las distancias entre los puntos de las configuraciones. Como medida de dispersión se tomó el área del polígono convexo mínimo (Pc) de la configuración registrada. El Pc es la figura geométrica mínima que, formada con los puntos más externos, encierra todos los demás puntos de modo que todos son o vértices o quedan encerrados.

Además, se tomaron las siguientes variables morfológicas lineales sobre las configuraciones registradas, que se expresaron como índices relativos (entre paréntesis las siglas y los puntos claves entre los cuales se toman las medidas):

índice largo del pterostigma/largo del ala (ILp-La) (distancia 3-4/ distancia 1-5)

índice ancho del ala/largo del ala (IAa-La) (distancia 2-7/ distancia 1-5)

índice distancia de la base al nodo /distancia del nodo al ápice (Ibna) (distancia 1-2/ distancia 2-5)

índice distancia Cu-P-R4+5/ largo del ala (Iven) (distancia 6-7/ distancia 1-5)

índice lado interno del triángulo/ lado superior del triángulo (Itriang) (distancia 8-10/ distancia 8-9)

índice distancia base-gazada anal /distancia nodo-final R4+5 (IAb) (distancia 1-11/ distancia 2-6)

Se calcularon los valores medios por especie para cada variable. La similitud entre las especies fue evaluada por la distancia entre ellas en el espacio de ordenamiento de un escalado multidimensional no métrico. Con todas las variables se realizaron análisis discriminantes lineales, por especie y por género, que sirvieron para determinar cuáles especies pueden separarse con mayor facilidad, por estos caracteres

cuantitativos. Con las especies y géneros que mostraron mejor potencial de discriminación, se confeccionaron árboles de clasificación mediante el algoritmo CART propuesto por Breiman *et al.* (1984). En este se utilizaron todas las variables medidas como predictoras y como variables dependientes la especie (variable categórica nominal con 20 clases) y el género (variable categórica nominal con 14 clases). Se utilizó como criterio de división el índice de Gini e iguales probabilidades *a priori* para todas las variables.

Los datos fueron analizados utilizando el programa Statistica 8.0 y la herramienta (*add-ins*) XLSTAT (2009) del MSEXcel.

RESULTADOS

De las variables analizadas Sde, ILp-La, IAa-La y Ibna se comportaron de manera similar para ambas alas al tener en cuenta las especies que presentaron los valores mínimo y máximo para cada variable. En Sde los menores valores correspondieron a las dos especies del género *Tramea* y los mayores a *E. fervida* (AA) y a *D. rufinervis* (AP). En ILp-La *M. marcella* presentó el valor mínimo y el máximo *E. umbrata*, seguida por *L. needhami*. En el caso de IAa-La el valor menor se encontró en *C. insularis funerea*, la cual presenta ambos pares de alas estrechas y el mayor, en las especies de *Erythrodiplax*, que, de manera general, presentan alas más anchas y menos largas que el resto de las especies analizadas. Finalmente, para Ibna el valor más pequeño perteneció a *E. umbrata* y los mayores a *M. marcella* (AA) y *M. celeno* (AP). En las alas del par anterior Itriang alcanzó un valor mínimo en los individuos de *L. needhami*, los cuales presentan triángulos anchos y máximo en los de *Tramea* cuyos triángulos son alargados. Sin embargo, en las alas del par posterior se comporta de manera inversa, siendo *C. insularis funerea* con triángulos alargados y *E. fervida* con triángulos cortos, las que mostraron los valores menor y mayor respectivamente.

En el escalado multidimensional no métrico algunas especies mostraron un comportamiento similar en cuanto a la posición que ocuparon en el gráfico, tanto al analizar las variables de las alas anteriores, las posteriores, como ambas. Las especies más distantes, considerando la información de ambos pares de alas, fueron *T. abdominalis* de *C. insularis*, *L. needhami*, *M. celeno*, *M. didyma* y *M. dissocians*. Por lo general, las especies congénicas se localizaron cerca en la nube de puntos (Fig. 2).

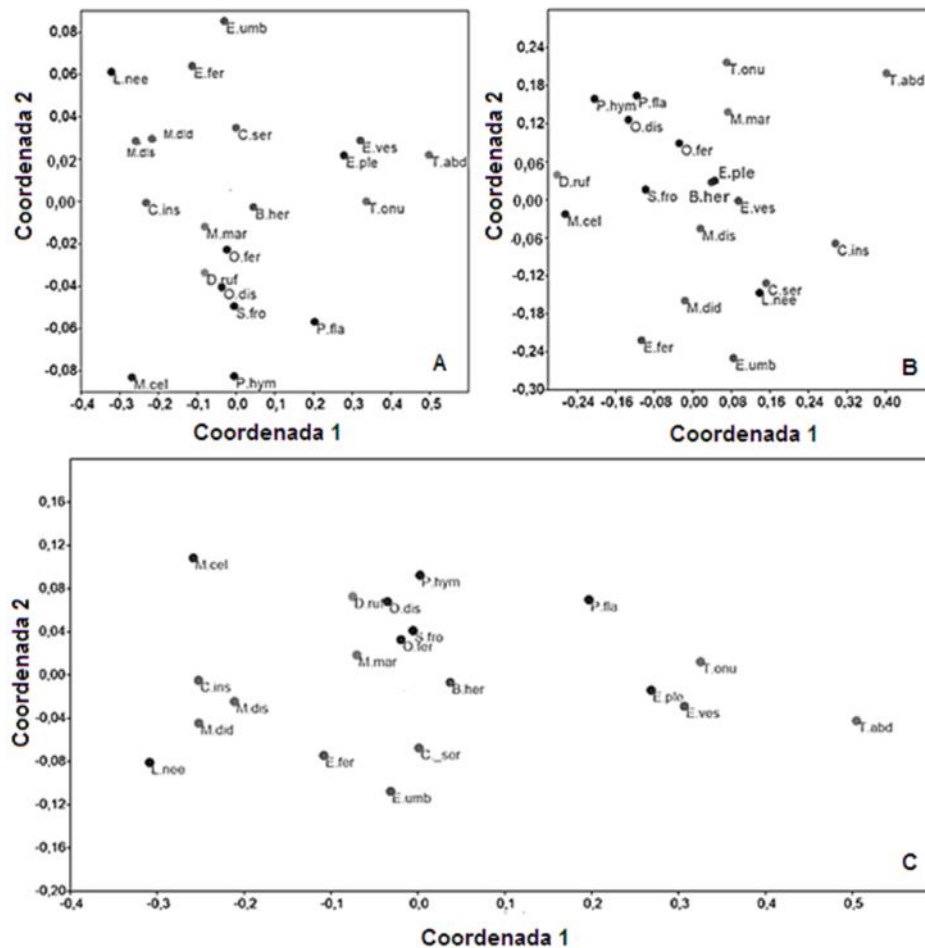


Figura 2. Plano de ordenamiento del Escalado multidimensional no métrico utilizando nueve variables de forma de las alas anteriores (A), posteriores (B) y ambas alas (C), de 20 especies de la familia Libellulidae presentes en Cuba.

Figure 2. Graphic representation of Non Metric Multidimensional Scaling using nine shape variables of the fore (A), hind (B) and both wings (C) of 20 species of Libellulidae, present in Cuba.

Siglas / Abbreviations: *Brachymesia herbida* (B.her), *Cannaphila insularis funerea* (C.ins), *Crocothemis servilia* (C.ser), *Dythemis rufinervis* (D.ruf), *Erythemis plebeja* (E.ple), *Erythemis vesiculosa* (E.ves), *Erythrodiplax fervida* (E.fer), *Erythrodiplax umbrata* (E.umb), *Libellula needhami* (L.nee), *Macrothemis celeno* (M.cel), *Miathyria marcella* (M.mar), *Micrathyria didyma* (M.did), *Micrathyria dissocians* (M.dis), *Orthemis discolor* (O.dis), *Orthemis ferruginea* (O.fer), *Pantala flavescens* (P fla), *Pantala hymenaea* (P.hym), *Scapanea frontalis* (S.fro), *Tramea abdominalis* (T.abd) y *Tramea onusta* (T.onu).

En el análisis discriminante por género, para las alas anteriores los dos primeros factores incluyeron el 76,2% del total de varianza, mientras que, en las posteriores el 82,3% (Fig. 3 A y B). La matriz de confusión mostró, como promedio, un 98% y un 93% de discriminación correcta para las alas anteriores y posteriores. Presentaron un 100% de discriminación correcta 11 y 8 géneros para las alas anteriores y posteriores respectivamente. Ocho géneros mostraron un 100%

de discriminación correcta para ambas alas (Tabla 1). En el análisis discriminante por especies los dos primeros factores incluyeron el 80,6% del total de la variación en las alas anteriores y el 83,8% en las posteriores. La matriz de confusión mostró 15 especies con 100% de discriminación correcta para las alas anteriores y 14 especies para las posteriores, para un promedio de discriminación correcta de 94% y 90%, respectivamente. Fueron perfectamente discriminadas,

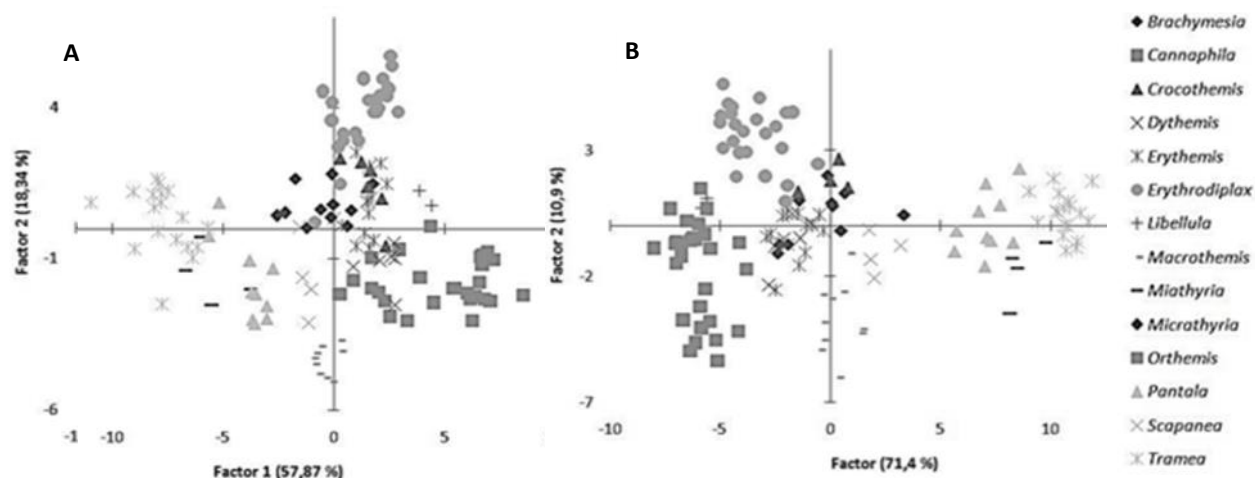


Figura 3. Representación gráfica del análisis discriminante entre 14 géneros de la familia Libellulidae presentes en Cuba, empleando variables de forma de las alas anteriores (A) y posteriores (B).

Figure 3. Graphic representation of discriminant analysis between 14 genera of Libellulidae present in Cuba, using shape variable of fore (A) and hind wings (B).

empleando las variables de ambas alas simultáneamente, 12 de las especies (Tabla 1).

Los árboles de clasificación CART realizados con todas las especies o géneros mostraron grupos mezclados en los nodos terminales para ambas alas. Por esta

razón fueron realizados nuevamente, seleccionando aquellas especies o géneros que presentaron un 100% de discriminación correcta para ambas alas en el análisis discriminante. En el análisis entre las especies, los árboles mostraron mezcla en los nodos terminales, sin

Tabla 1. Número de individuos y porcentaje de discriminación correcta del análisis discriminante entre 14 géneros y 20 especies de la familia Libellulidae presentes en Cuba, a partir de variables de forma de las alas anteriores y posteriores. (*) Géneros o especies con 100% de discriminación correcta en ambas alas.

Table 1. Number of individuals and percentage of correct discrimination in the discriminant analysis between 14 genera and 20 species of Libellulidae present in Cuba, using shape variables of fore and hind wings. (*) Genera or species with 100% of discrimination in both wings.

Género	Alas anteriores		Alas posteriores		Especie	Alas anteriores		Alas posteriores	
	N	% DC	N	% DC		N	% DC	N	% DC
<i>Brachymesia</i>	6	100 %	4	50 %					
<i>Cannaphila</i>*	9	100 %	10	100 %					
<i>Crocothemis</i>*	6	100 %	4	100 %					
<i>Dythemis</i>*	6	100 %	6	100 %					
<i>Erythemis</i>	14	92,8 %	13	93,3 %	<i>E.plebeja</i>	6	66,6 %	6	100 %
<i>Erythrodiplax</i>	21	87,5 %	21	95,8 %	<i>E.vesiculosa</i>*	8	100 %	7	100 %
					<i>E.fervida</i>*	7	100 %	7	100 %
					<i>E.umbrata</i>	14	92,8 %	14	100 %
<i>Libellula</i>*	2	100 %	2	100 %					
<i>Macrothemis</i>	9	100 %	10	90 %	<i>M.didyma</i>*	3	100 %	3	100 %
<i>Miathyria</i>*	4	100 %	4	100 %	<i>M.dissocians</i>	2	100 %	3	66,6 %
<i>Micrathyria</i>	5	100 %	6	83,3 %	<i>O.discolor</i>	4	50 %	4	25,0 %
					<i>O.ferruginea</i>	14	85,7 %	15	86,6 %
					<i>P.flavescens</i>*	7	100 %	7	100 %
					<i>P.hymenaea</i>*	3	100 %	3	100 %
<i>Scapanea</i>*	4	100 %	4	100 %	<i>T.abdominalis</i>	11	90,9 %	11	90,9 %
<i>Tramea</i>*	18	100 %	18	100 %					

embargo, en el de los géneros el árbol de clasificación resultante mostró alta pureza.

En el análisis entre los géneros con las alas anteriores, el árbol generó siete divisiones y ocho nodos terminales, correspondientes a cada uno de los géneros. Este árbol empleó cinco variables (Tabla 2), comenzando

por ILp-La, que permitió, a partir del nodo raíz, formar dos grandes grupos separados: los géneros *Tramea*, *Scapanea*, *Pantala* y *Miathyria* que presentaron valores menores para esta variable y *Libellula*, *Crocothemis*, *Dythemis* y *Cannaphila* con valores mayores. La segunda división utilizó, en el caso del primer grupo, la variable Sde, generando a la derecha un nodo compuesto

Tabla 2. Intervalos de valores de las variables, identificadas por los árboles CART de las alas anteriores y posteriores analizadas independientemente, para clasificar a ocho géneros de la familia Libellulidae, utilizados en el estudio del valor taxonómico de la forma de las alas.

Table 2. Intervals of values of the variables, identified by the tree CART of fore and hind wings analyzed independently, to separate eight genera of Libellulidae, used in the study of taxonomic value of shape wings.

Alas anteriores				Alas posteriores						
Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Géneros (% pureza)	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4	Géneros (% pureza)		
Nodo 2 ILp-La 0,052-0,087	Nodo 4 Sde 21,027-21,339	Nodo 6 Itriang 2,348-2,90	<i>Miathyria</i> 100 %	Nodo 2 ILp-La 0,043-0,088	Nodo 4 IAb 1,229-1,407	Nodo 6 Tc 0,876-0,913		<i>Scapanea</i> 100 %		
		Nodo 7 Itriang 2,90-4,933	<i>Tramea</i> 100 %			Nodo 7 Tc 0,913-0,961	Nodo 8 Itriang 0,350-0,482	<i>Tramea</i> 100 %		
	Nodo 5 Sde 21,339-21,420	Nodo 8 Tc 0,714-0,759	<i>Pantala</i> 100 %		Nodo 9 Tc 0,759-0,766	<i>Scapanea</i> 100 %	Nodo 5 IAb 1,407-1,565	Nodo 10 Itriang 1,881-1,917	Nodo 9 Itriang 0,482-0,535	<i>Miathyria</i> 75 % <i>Tramea</i> 25 %
		Nodo 12 ILp-La 0,087-0,101	<i>Dythemis</i> 100 %		Nodo 10 Itriang 1,881-1,917	Nodo 12 Pc 1,881-1,912			<i>Miathyria</i> 47,6% <i>Tramea</i> 26,2 % <i>Pantala</i> 26,2 %	
Nodo 3 ILp-La 0,087-0,129	Nodo 10 Iven 0,079-0,129	Nodo 13 ILp-La 0,101-0,129	<i>Cannaphila</i> 100 %	Nodo 5 IAb 1,407-1,565	Nodo 11 Itriang 1,917-1,949	Nodo 11 Itriang 1,917-1,949	Nodo 13 Pc 1,912-1,917	<i>Miathyria</i> 100 %		
		Nodo 14 Tc 0,744-0,762	<i>Libellula</i> 100 %				Nodo 14 Tc 0,873-0,906	<i>Pantala</i> 100 %		
	Nodo 11 Iven 0,129-0,150	Nodo 15 Tc 0,762-0,806	<i>Crocothemis</i> 100 %	Nodo 3 ILp-La 0,088-0,148	Nodo 16 Ibna 0,748-0,850	Nodo 18 Tc 0,856-0,866		<i>Libellula</i> 100 %		
					Nodo 17 Ibna 0,850-1,021	Nodo 19 Tc 0,866-0,885		<i>Crocothemis</i> 100 %		
					Nodo 20 ILp-La 0,088-0,108			<i>Dythemis</i> 100 %		
				Nodo 21 ILp-La 0,108-0,148			<i>Cannaphila</i> 100 %			

ILp-La: índice largo del pterostigma/largo del ala. **Sde:** sumatoria de distancias euclidianas. **Itriang:** índice lado interno del triángulo/lado superior del triángulo. **Tc:** tamaño del centroide. **Iven:** índice distancia de la vena Cu-P-R4+5/largo del ala. **Iab:** índice ancho de la base/ancho del ala. **Pc:** polígono convexo. **Ibna:** índice distancia de la base al nodo/distancia del nodo al ápice.

ILp-La: index pterostigma length/wing length. **Sde:** sum of Euclidean's distances. **Itriang:** index internal side of triangle/superior side of triangle. **Tc:** centroid size. **Iven:** index distance of vein Cu-P-R4+5/wing length. **Iab:** index wide of the basis/wide of wing. **Pc:** convex hull. **Ibna:** index distance from the basis to the node/distance from the node to the apex.

por los géneros *Tramea* y *Miathyria* y a la izquierda uno compuesto por *Pantala* y *Scapanea*. Por otro lado, el nodo 3 (resultante de la primera división del árbol) utilizó la variable *Iven* para separar a *Dythemis* y *Cannaphila* de *Libellula* y *Crocothemis*. Finalmente, se emplearon las variables *Itriang* para separar a *Miathyria* y *Tramea*, *Tc* para *Pantala* y *Scapanea*, *ILp-La* para *Dythemis* y *Cannaphila* y nuevamente, *Tc* para *Libellula* y *Crocothemis*. En todos los casos se obtuvieron nodos terminales con 100 % de pureza.

Cuando se emplearon las variables de forma de las alas posteriores, el árbol resultante contó con 10 divisiones y 11 nodos terminales. De las nueve variables

Tabla 3. Intervalos de valores de las variables, identificadas por un árbol de clasificación CART de las alas anteriores y posteriores juntas, para separar a ocho géneros de la familia Libellulidae utilizados en el estudio del valor taxonómico de la forma de las alas.

Table 3. Intervals of values of the variables, identified by the classification tree CART of fore and hind wings analyzed together, to separate eight genera of Libellulidae, used in the study of taxonomic value of shape wings.

Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Géneros (% pureza)	
Nodo 2 ILp-La (Post) 0,043-0,090	Nodo 4 Sde (Ant) 21,127-21,332	Nodo 6 Sde (Ant) 21,127-21,297	<i>Tramea</i> 100 %	
		Nodo 7 Sde (Ant) 21,297-21,332	<i>Miathyria</i> 100 %	
	Nodo 5 Sde (Ant) 21,332-21,445	Nodo 8 ILp-La (Post) 0,043-0,069	<i>Pantala</i> 90,9 % <i>Tramea</i> 9,1 %	
		Nodo 9 ILp-La (Post) 0,069-0,090	<i>Scapanea</i> 100 %	
	Nodo 3 ILp-La (Post) 0,090-0,148	Nodo 10 Ibna (Post) 0,748-0,834	Nodo 12 Tc (Post) 0,861-0,868	<i>Libellula</i> 100 %
			Nodo 13 Tc (Post) 0,868-0,885	<i>Crocothemis</i> 100 %
		Nodo 11 Ibna (Post) 0,834-1,021	Nodo 14 Itriang (Post) 0,303-0,410	<i>Cannaphila</i> 100 %
			Nodo 15 Itriang (Post) 0,410-0,537	<i>Dythemis</i> 100 %

ILp-La: índice largo del pterostigma/largo del ala. **Sde:** sumatoria de distancias euclidianas. **Ibna:** índice distancia de la base al nodo/distancia del nodo al ápice. **Tc:** tamaño del centroide. **Itriang:** índice lado interno del triángulo/lado superior del triángulo.

ILp-La: index pterostigma length/wing length. *Sde:* sum of Euclidean's distances. *Ibna:* index distance from the basis to the node/distance from the node to the apex. *Tc:* centroid size. *Itriang:* index internal side of triangle/superior side of triangle.

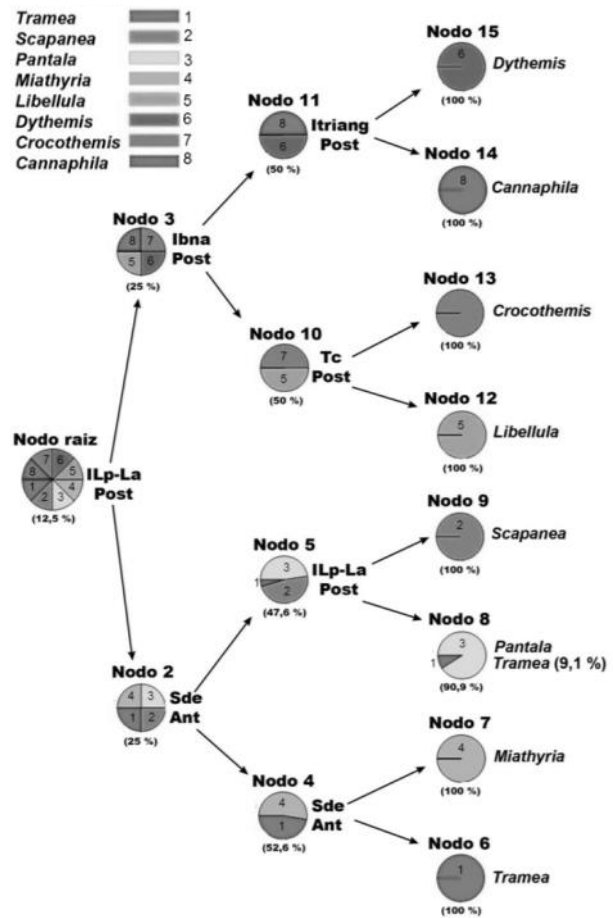


Figura 4. Árbol de clasificación para las alas anteriores y posteriores de ocho géneros de la familia Libellulidae presentes en Cuba, utilizando nueve variables de forma. Tc: tamaño del centroide. Sde: sumatoria de distancias euclidianas. ILp-La: índice largo del pterostigma/largo del ala. IAa-La: índice ancho de ala/largo del ala. Ibna: índice distancia de la base al nodo/distancia del nodo al ápice. Iven: índice distancia de la vena Cu-P-R4+5/largo del ala. Itriang: índice lado interno del triángulo/lado superior del triángulo. Pc: polígono convexo.

Figure 4: Classification tree to fore and hind wings of eight genera of Libellulidae present in Cuba, using nine shape variables. Tc: centroid size. Sde: sum of Euclidean's distances. ILp-La: index pterostigma length/wing length. IAa-La: index wide of the wing/wing length. Ibna: index distance from the basis to the node/distance from the node to the apex. Iven: index distance of vein Cu-P-R4+5/wing length. Itriang: index internal side of triangle/superior side of triangle. Pc: convex hull.

de entrada, fueron utilizadas seis por este árbol de clasificación: ILp-La, IAb, Tc, Pc, Itriang y lbna, mientras que Sde, IAa-La, lven no se incluyeron. El número de variables utilizadas en la clasificación varió entre los géneros (Tabla 2). Fueron definidos utilizando cinco criterios (ILp-La, IAb, Tc, Itriang y Pc), *Tramea*, *Miathyria* y *Pantala*. Quedaron definidos por tres criterios (ILp-La, lab y Tc), *Scapanea*, *Libellula* y *Crocothemis*; mientras que, solo por dos criterios (ILp-La y lbna), *Dythemis* y *Cannaphila*. Los géneros *Scapanea*, *Libellula*, *Crocothemis*, *Dythemis* y *Cannaphila* mostraron nodos terminales con un 100% de pureza. Por otra parte *Tramea*, *Miathyria* y *Pantala* presentaron 100% de pureza en los nodos terminales 8, 13 y 14, pero se mantuvieron mezclados en los nodos terminales 9, 12 y 15.

El árbol de clasificación realizado con las variables de ambas alas generó siete divisiones, ocho nodos terminales y fueron utilizadas cinco variables (Fig. 4, Tabla 3). El nodo raíz utilizó la variable ILp-La (Post) y se formaron dos grupos. A la derecha, un nodo formado por *Tramea*, *Scapanea*, *Pantala* y *Miathyria*. Este se dividió empleando la variable Sde (Ant) para separar de este grupo a *Tramea* y *Miathyria*, los cuales se diferenciaron finalmente, utilizando la misma variable y obteniéndose dos nodos terminales con 100% de pureza. El otro nodo estuvo constituido por *Tramea*, *Scapanea* y *Pantala* que se separaron empleando la variable ILp-La (Post) en un nodo compuesto en su mayor parte por *Pantala*, con un 90,9% de pureza y *Tramea* con un 9,1% de pureza y otro, por *Scapanea* con un 100% de pureza. A la izquierda del nodo raíz se agruparon los géneros *Libellula*, *Dythemis*, *Crocothemis* y *Cannaphila*. Mediante la variable lbna (Post) se separaron por un lado *Libellula* y *Dythemis* y por otro *Crocothemis* y *Cannaphila*. Estos nodos se dividieron nuevamente utilizando las variables Tc (Post) e Itriang (Post) respectivamente y generando cuatro nodos terminales con 100% de pureza.

DISCUSIÓN

Los valores mínimos y máximos para las variables incluidas en el análisis, en general corresponden con las diferencias de forma observadas en las alas de las especies estudiadas. Las variables Sde, ILp-La, IAa-La y lbna se comportaron de manera similar para ambas alas, al analizar las especies que presentaron los valores extremos. Sin embargo, el Itriang se comporta de

manera inversa. Es de esperar que esta variable tenga este comportamiento inverso entre ambos pares de alas, debido a las diferencias que ambas presentan en la forma de esta estructura. El triángulo del ala anterior es alargado transversalmente, mientras que el del ala posterior es alargado longitudinalmente en relación con el ala.

Las especies que fueron discriminadas correctamente, tanto al analizar las alas anteriores como las posteriores, representan el 45% del total reportado para la familia Libellulidae en Cuba. Entre ellas se encuentran especies congénéricas que en las claves de identificación del orden en estado adulto de Trapero y Naranjo (2004) no son clasificadas mediante características de la venación. Ejemplo de ello son las especies *P. flavescens* y *P. hymenaea* las cuales, en la clave, son separadas por diferencias de color de la mancha del ángulo anal; sin embargo, las variables utilizadas en este estudio lograron discriminarlas totalmente. Otras especies como *M. didyma*, *M. dissocians*, *E. plebeja*, *E. vesiculosa*, *E. fervida* y *E. umbrata* son identificadas en la clave por una combinación de características de las alas y el resto del cuerpo. En esta investigación se logró la discriminación utilizando solamente variables que describen la forma del ala anterior para las dos primeras especies y del ala posterior para el resto.

Aquellas especies que no presentaron un 100% de discriminación correcta, son especies muy parecidas en cuanto a las variables analizadas, o pertenecen al mismo género y, por lo tanto, presentan características morfológicas similares. En el primer grupo se encuentran, por ejemplo, *M. celeno* y *S. frontalis*, ambas con un pterostigma mediano, distancia de Cu-P-R4+5 corta y alas posteriores más anchas en la base, aunque no en gran medida. Ejemplos del segundo grupo son *T. abdominalis* y *T. onusta* que se caracterizan por presentar pterostigmas cortos, la distancia de Cu-P-R4+5 es mayor, en las alas del par anterior el triángulo es alargado y las alas posteriores presentan una base bastante ancha. Es de resaltar que las especies del género *Orthemis* fueron las únicas clasificadas erróneamente dentro del mismo género más de una vez. *O. discolor* fue clasificada como *O. ferruginea* dos veces en el análisis con las alas anteriores y tres, en el de las posteriores, mientras que *O. ferruginea* fue clasificada como *O. discolor* una vez para cada análisis. Además, esta última también fue mal identificada como *L. needhami* en ambas alas. Aunque la especie *L. needhami* puede ser diferenciada del género *Orthemis*

con ayuda de la clave dicotómica, no sucede lo mismo con *O. ferruginea* y *O. discolor*. La clasificación de las especies del género *Orthemis* es objeto de controversia. Algunos autores plantean la existencia de, al menos, cinco especies cuya identificación se basa en diferencias de coloración, mientras que otros opinan que realmente es una sola especie (A. Trapero, com. per. 2012). Actualmente se están realizando estudios moleculares con el objetivo de esclarecer tales criterios, aunque no se ha llegado a resultados concretos.

En los tres árboles de clasificación los nodos formados a partir del nodo raíz estuvieron integrados por los mismos géneros. Uno de los nodos por *Tamea*, *Scapanea*, *Pantala* y *Miathyria* y el otro por *Libellula*, *Dythemis*, *Crocothemis* y *Cannaphila*. Una explicación a este fenómeno es que en los tres análisis la variable utilizada para dividir este nodo fue la misma, el índice largo del pterostigma/largo del ala (ILp-La). Por esta razón, era de esperar que géneros con características similares con relación a esta variable se agruparan. En este caso los géneros *Tamea*, *Scapanea*, *Pantala* y *Miathyria* (integrantes del primer grupo) presentan pterostigmas cortos y *Libellula*, *Dythemis*, *Crocothemis* y *Cannaphila* (integrantes del segundo grupo) presentan pterostigmas largos. Los géneros *Scapanea*, *Libellula*, *Crocothemis*, *Dythemis* y *Cannaphila* mostraron un 100% de pureza en los nodos terminales en los tres análisis. Sin embargo, *Tamea*, *Pantala* y *Miathyria* se mantuvieron mezclados en algunos nodos terminales de los árboles de clasificación de las alas posteriores y de ambas alas. Estos géneros presentan semejanzas no solo en el largo del pterostigma, sino también en otras características como, por ejemplo, alas posteriores anchas en la base.

En general, el número de especies (12) y géneros (8) clasificados correctamente mediante la morfología del ala resultó mayor que lo obtenido en estudios similares con otros grupos de insectos (Baylac *et al.*, 2003; Tofilski, 2004; Jirakanjanakit y Dujardin, 2005). No obstante, no se lograron clasificar todas las especies analizadas. Esto puede deberse a que las variables utilizadas son insuficientes o que, realmente, la forma del ala solo es efectiva en la clasificación numérica de un grupo determinado de especies o géneros. Otros de los factores que pudieran afectar la identificación son las posibles diferencias entre sexos en la forma del ala, aspecto que no fue considerado al tomar los datos.

Algunos autores como Outomuro *et al.* (2012a y 2012b), han detectado diferencias en la forma de las alas entre hembras y machos. En los odonatos, la forma del ala se ajusta a los “requerimientos aerodinámicos” del animal, los cuales varían entre sexos. Por ejemplo, en algunas especies donde los machos son territoriales estos tienden a tener alas cortas y anchas, forma que favorece la maniobrabilidad. Las hembras, por otra parte, tienen alas más largas y estrechas, lo que favorece la ovoposición sumergida y les permite una mayor fuerza propulsora necesaria para levantar el peso extra que significan los huevos en su abdomen. El dimorfismo sexual en las alas de los odonatos se ha relacionado también con las diferencias en otros rasgos no relacionados con la forma, como la pigmentación (Svensson y Waller, 2013) o el tamaño (Vega-Sánchez *et al.*, 2011). Este último asociado a estrategias de defensa territorial de los machos de algunas especies. En otros sistemas de apareamiento, como la competencia por escalamiento, también hay dimorfismo sexual en el ala. Incluso en especies con polimorfismo de color femenino también se observan diferencias entre morfos (Mctavish *et al.*, 2012). De las especies estudiadas, *O. ferruginea* (Novelo y González-Soriano, 1984), *S. frontalis* y *M. celeno* son territoriales, mientras que *E. umbrata* presenta polimorfismo de color femenino (Y. Torres, com. per. 2015**). De cualquier forma, los sistemas de identificación automatizada deben incluir suficiente variabilidad para detectar la especie, independientemente del sexo.

Otro posible factor causante de los errores en la clasificación de algunas de las especies pudiera ser el efecto de la alometría. Se conoce que parte de la variación de la forma del ala puede ser causada por las diferencias de tamaño entre individuos (Outomuro *et al.* 2013 y 2012a) y en los odonatos el tamaño del cuerpo puede variar con la época del año o la latitud (Corbet, 1999). En el presente estudio, al trabajarse con ejemplares de colecciones es de esperar que existan diferencias para una misma especie en aspectos como la fecha de recolecta y la localidad de procedencia de los especímenes. Por lo que se recomienda que para estudios futuros se tenga en cuenta tanto el efecto del sexo como de la alometría sobre la forma del ala.

Está claro que la clasificación de las especies no debe basarse nunca en un solo carácter, como la forma,

* Dr. Adrian Trapero Quintana, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Oriente. Contacto: atrapero@cnt.uo.edu.cu.

** Yusdiel Torres-Cambas, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Oriente. Contacto: ytorres@cnt.uo.edu.cu.

sino que debe apoyarse en una combinación de características biológicas que puedan definirla. No obstante, cabe resaltar el valor específico de este análisis, por su aplicación práctica como una alternativa para la identificación de las especies cuando no pueden utilizarse métodos más complejos y costosos o cuando el material del que se dispone se encuentra dañado o incompleto. Las reglas generadas por los árboles de clasificación pueden ser utilizadas como parte de un algoritmo para la creación de un programa de clasificación automática para los géneros de la familia Libellulidae analizados en este estudio. En el caso de los géneros que no mostraron errores en la clasificación, el programa mostrará como resultado el género al cual pertenece el individuo que se desea identificar; mientras que, en aquellos que no presentaron una clasificación absoluta, el resultado sería la posibilidad de que fuese de uno o más géneros. En cualquier caso se restringe el esfuerzo de clasificación.

El uso de estos programas automáticos no se ha generalizado entre los taxonomistas e instituciones donde se realizan habitualmente las identificaciones. Aunque la clasificación automática de especies ofrece enormes potencialidades, se mantiene en una etapa relativamente temprana. Según Gaston y O'Neill (2004) el principal obstáculo para la generalización en la aplicación de este enfoque es, sin duda, más una falta de visión y de empeño, que otro problema. Si bien los retos técnicos son considerables, el progreso que se ha hecho por algunos proyectos con otros grupos de insectos es impresionante (Steinhage, 2000; Gauld *et al.*, 2000; Tofilski, 2004). Las investigaciones futuras con odonatos cubanos deberían incorporar estas nuevas herramientas que contribuirán grandemente al conocimiento de la biología del grupo.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece profundamente a Dennis Denis, quien fungió como tutor de la tesis de licenciatura donde se llevó a cabo este trabajo, y a Adrian Traperero por su asesoría taxonómica.

LITERATURA CITADA

- Adams, D. C., F. J. Rohlf y D. E. Slice (2004) Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Ital. J. Zool.* 71:5-16.
- Aytekin, M., M. Terzo, P. Rasmont y N. Cagatay (2007) Landmark based geometric morphometric analysis of wing shape in *Sibiricobombus* Vogt (Hymenoptera: Apidae: Bombus Latreille). *Ann. soc. entomol. Fr. (n.s.)* 43(1):95-102.
- Batra, S. (1988) Automatic image analysis for rapid identification of Africanized honey bees. Pp: 260-263. En: *Africanized honey bees and bee mites*: (G. R. Needham, Ed.). Series in Entomology and Acarology, Halsted Press, New York.
- Baylac, M., C. Villemant y G. Simbolotti (2003) Combining geometric morphometrics with pattern recognition for the investigation of species complexes. *Biological Journal of the Linnean Society* 80:89-98.
- Bookstein, F. L. (1991) *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. Cambridge Univ. Press, Nueva York. 435 pp.
- Breiman, L., J. H. Friedman, R. Olshen y C. J. Stone (1984) *Classification and Regression Tree*. Wadsworth y Brooks/Cole Advanced Books y Software, Pacific California. 6 pp.
- Corbet, P. S. (1999) *Dragonflies. Behaviour and ecology of Odonata*. Essex, UK:Harley Books. 829 pp.
- Gaston, K. J. y M. A. O'Neill (2004) Automated species identification: why not? *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 359:655-667.
- Gauld, I. D., M. A. O'Neill. y K. J. Gaston (2000) Driving Miss Daisy: the performance of an automated insect identification system. Pp: 303-312. En: *Hymenoptera: evolution, biodiversity and biological control* (A. D. Austin y M. Downton, Eds.). Collingwood, VIC: CSIRO.
- Garrison, R. W., N. von Ellenrieder y J. A. Louton (2006) *Dragonfly genera of the New World. An illustrated and annotated key to the Anisoptera*. Baltimore, The Johns Hopkins University Press. 368 pp.
- Garrison, R. W., N. von Ellenrieder y J. Louton (2010) *Damselfly genera of the New World: An Illustrated and annotated key to the Zygoptera*. Baltimore: The Johns Hopkins University Press. 490 pp.
- Hassall, C., D. J. Thompson y I. F. Harvey (2008) Wings of *Coenagrion puella* vary in shape at the northern range margin (Odonata: Coenagrionidae). *International Journal of Odonatology* 11(1):35-41.
- Jennions, M. D. (1998) Tibial coloration, fluctuating asymmetry and female choice behaviour in the damselfly *Platycypha caligata*. *Anim. Behav.* 55:1517-1528.
- Jirakanjanakit, N. y J. P. Dujardin (2005) Discrimination of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) laboratory lines based on wing geometry. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* 36 (4):858-861.
- Klingenberg, C. P. y G. S. McIntyre (1998) Geometric morphometric of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. *Evolution* 52(5):1363-1375.
- Klingenberg C. P. (2010) Evolution and development of shape: integrating quantitative approaches. *Nat. Rev. Genet.* 11:623-635.
- Lodge, R. J. y J. R. Freeland (2003) The use of odonata museum specimens in questions of molecular evolution. *Odonatologica* 32(4):375-380.

- Mctavish, E.J., G. K. Smith, R. F. Guerrero y E. J. Gering (2012) Variation in flight morphology in a damselfly with female-limited polymorphism. *Evolutionary Ecology Research* 14:1–17.
- Novelo Gutiérrez, R. y E. González Soriano (1984) Reproductive behaviour in *Orthemis ferruginea* (Fabr.) (Odonata: Libellulidae). *Folia Entomol. Mex.* 59:11-24.
- Otomuro, D., D. C. Adams y F. Johansson (2012a) The Evolution of Wing Shape in Ornamented-Winged Damselflies (Calopterygidae, Odonata). *Evol. Biol.* 40(2):300-309.
- Otomuro, D., F. Bokma y F. Johansson (2012b) Hind wing shape evolves faster than front wing shape in *Calopteryx* damselflies. *Evol Biol.* 39(1):116–125.
- Otomuro, D., D. C. Adams y F. Johansson (2013) Wing shape allometry and aerodynamics in calopterygid damselflies: a comparative approach. *Evolutionary Biology*. Disponible en <http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>.
- Resende, D. C., A. Q. Meira, L.A.O Campos y J. Lino – Neto (2011) Hipótesis evolutivas sobre a morfologia das asas de Libellulidae (Insecta, Odonata). *X Congresso de Ecologia do Brasil, Sao Lourenço – MG*, 1-2.
- Rohlf, F. J. (2006) TPSDIG, Version 2.10. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. Disponible en <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>.
- Roth, V., A. Pogoda, V. Steinhage y S. Schroder (1999) Pattern recognition combining feature- and pixel-based classification within a real world application. *DAGM-Symposium* 21:120-129.
- Sadeghi, S., D. Adriaens y H. J. Dumont (2009) Geometric Morphometric analysis of wing shape variation in ten European population of *Calopteryx splendens* (Harris, 1782) (Zygoptera: Odonata). *Odonatologica* 38(4):343-360.
- Steinhage, V. (2000) Automated identification of bee species in biodiversity information systems. *Computer Science for Environmental Protection* 4-6.
- Svensson, E. I. y J. T. Waller (2013) Ecology and Sexual Selection: Evolution of Wing Pigmentation in Calopterygid Damselflies in Relation to Latitude, Sexual Dimorphism, and Speciation. *The American Naturalist*, 182(5). Disponible en <http://dx.doi.org/10.5061/dryad.d8mq37r7>.
- Tofilski, A. (2004) DrawWing, a program for numerical description of insect wings. *Journal of Insect Science* 4:17-21.
- Tofilski, A. (2008) Using geometric morphometrics and standard morphometry to discriminate three honey bee subspecies. *Apidologie* 39:558–563.
- Trapero, A. y C. Naranjo (2003) Revision Of The Order Odonata In Cuba. *Bulletin Of American Odonatology* 7(2):23-40.
- Trapero, A. y C. Naranjo (2004) Clave de identificación para los adultos de las especies del orden Odonata presentes en Cuba. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa (S.E.A)* 35:171–180.
- Trapero, A. (2011) Diversidad y patrón de emergencia en ensambles de Odonata (Arthropoda: Insecta). [Inédito]. Tesis doctoral. Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba. 100 pp.
- Vega-Sánchez, Y., L. Isarrarás-Hernández, P. Castillo-Ayala y L. Mendoza-Cuenca (2011) Morfología alar y territorialidad en *Hetaerina vulnerata*. *Biológicas* 13(1):29-35.
- Weeks P. J. D., M. A. O'Neill, K. J. Gaston y I. D. Gauld (1999) Species-identification of wasps using principal component associative memories. *Image and Vision Computing* 17:861-866.



Editor para correspondencia: Dr. Dennis Denis Ávila