



COMUNICACIÓN BREVE

Valor taxonómico de la forma del ala en seis especies de esfíngidos (Lepidoptera: Sphingidae)

Taxonomic value of wing shape in six species of hawkmoths (Lepidoptera: Sphingidae)

Beatriz Chávez Meriño¹ y Daryl D. Cruz Flores²

¹ Facultad de Biología, Universidad de La Habana

² Instituto de Ecología y Sistemática

Autor para correspondencia:
xiogalveza@hotmail.com

RESUMEN

La morfometría geométrica se ha convertido en una herramienta útil para discriminar especies de diferentes grupos taxonómicos. En insectos, la forma de las alas ha sido utilizada para su identificación a nivel de especie. En este trabajo se caracterizó la forma del contorno del ala de cuatro especies de esfíngidos (Lepidoptera: Sphingidae) utilizando métodos de contornos y se evaluó la capacidad de esta forma para permitir la identificación de las especies. Se tomaron 64 fotografías digitales de las alas de *Agrius cingulata*, *Cocytius duponchel*, *Manduca rustica*, *Protambulix strigilis*, *Pachylia ficus* y *Pseudosphinx tetrio* respectivamente. El contorno de las alas se describió a partir de los coeficientes elípticos de Fourier para 30 armónicos, que fueron reducidos con un Análisis de Componentes Principales y sus puntajes fueron empleados como variables de forma. Para evaluar la posibilidad de emplear la forma del ala para identificar las especies se realizó un análisis de función discriminante lineal y se diseñó una red neural de tipo perceptrón multicapa. Mediante el análisis discriminante, se pudieron clasificar correctamente cuatro especies, al igual que al emplear la red neural.

Palabras clave: polillas, morfometría geométrica, taxonomía, identificación, descriptores elípticos de Fourier

ABSTRACT

*The geometric morphometric has become an useful tool to discriminate against species of different groups. Specifically in insects, the form of the wings can be used for the identification from these organisms to species level. In this work the form of the contour of the wing of six hawkmoths species was characterized using geometric morphometric and the capacity this way was evaluated to identify these species. We take 9, 8, 9, 8 and 17 pictures of the wings of *Agrius cingulata*, *Cocytius duponchel*, *Manduca rustica*, *Protambulix strigilis*, *Pachylia ficus* and *Pseudosphinx tetrio* respectively. The*

Recibido: 2015-12-10

Aceptado: 2016-01-15

contour of the wings was described using from the Elliptic Coefficients of Fourier for 30 harmonic. The standardized matrix and the descriptors were reduced with an analysis of principal components and with the autovalues they were carried out analysis of discriminant function to analyze the possibility to use the form of the wing to differentiate species. Finally a net neural was designed starting from the autovalues. Four species can be identifying by means of the analysis discriminant function and the neural network. These results can be due, partly to that the sample size was limited. It is possible that an increase of sampling effort and re-training the neural network, will result in a better discrimination percentage.

Keywords: Moths, geometric morphometry, taxonomy, identification, Elliptic Fourier descriptors

INTRODUCCIÓN

El estudio de las formas de los organismos ha llamado siempre la atención en la comunidad científica y se ha empleado en diferentes ramas de la Biología como la Ecología, la Evolución, los estudios de reproducción, entre otras. Tradicionalmente, las investigaciones morfométricas se han desarrollado bajo los métodos de la morfometría lineal o clásica, cuyo objetivo es la comparación de las dimensiones de los organismos (Dujardin *et al.*, 2014), y se caracteriza por la utilización de la estadística multivariada en problemas relativos a la forma de los organismos (Marcus, 1990). Sin embargo, estos métodos presentan limitaciones principalmente asociadas a la subjetividad del investigador debido a que, muchas veces es su criterio el que prima para definir una característica; además, carecen de una estadística fuerte que permita analizar los cambios de forma, estandarización de variables y otros criterios que pudieran ser de utilidad para una caracterización morfométrica confiable.

Debido a las dificultades mencionadas anteriormente, y gracias al desarrollo de las ciencias de la computación, en las últimas décadas se ha desarrollado lo que hoy se conoce como Morfometría Geométrica, la cual, según Adams *et al.* (2004) es un “sistema de métodos y procedimientos, con base geométrica, para el análisis de los patrones de forma, donde las mediciones usualmente derivan de contornos y puntos morfológicos claves (*landmarks*)”. Estos métodos han abierto nuevas perspectivas para la evaluación de caracteres en el contexto taxonómico, y complementan los métodos tradicionales, como las descripciones verbales o la morfometría clásica (Hernández, 2014).

En Cuba se han desarrollado en los últimos años varias investigaciones que emplean la Morfometría Geométrica como herramienta fundamental. Denis y Olavarrieta (2011) analizaron la isomorfía en los huevos de las especies de la familia Ardeidae. Hernández (2014) evaluó la identificación de las subespecies de

Magnolia cubensis mediante el análisis digital del análisis de las hojas. Hernández y Falcón (2014) analizaron la variabilidad intra e inter específica en la morfología foliar de las especies cubanas de *Morella*. Las dos últimas investigaciones mencionadas utilizaron el método de contornos debido a que este, traducido a variables cuantitativas, ha demostrado ser una herramienta muy útil para la discriminación de especies de diferentes grupos. Sin embargo, en nuestro país no se ha utilizado para la identificación de especies de insectos.

Los esfíngidos (Lepidoptera: Sphingidae) comprenden alrededor de 1200 especies a nivel mundial (Cruz, 2012) y para Cuba se han registrado 59 especies incluidas en 23 géneros. Del total de especies, 11 son endemismos de nuestro país (Barro y Núñez, 2011). Estos insectos son importantes polinizadores en los bosques tropicales y se consideran uno de los grupos principales en este aspecto ecológico (Haber y Frankie, 1989). Las larvas son importantes plagas de cultivos, varios árboles frutales y diversas plantas ornamentales muy comunes en los jardines (Barro y Núñez, 2011).

Hasta el momento la identificación de las especies de esfíngidos es meramente cualitativa, basada en patrones de coloración y descripciones de la forma del ala (Tuttle, 2007). Las especies de géneros como *Manduca* y *Cocytius* son muy similares en estos aspectos, lo que imposibilita muchas veces su correcta identificación. Por estas razones, es necesario el uso de otros caracteres para lograr la identificación correcta de sus especies, y se cree que el análisis cuantitativo del contorno del ala pudiera ser suficiente para permitir una correcta identificación.

Para comprobar lo anterior, en el presente trabajo se proponen como objetivos la caracterización de la forma del contorno del ala de seis especies de esfíngidos utilizando morfometría geométrica y la evaluación de la capacidad de este método para lograr la identificación de las especies de esfíngidos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el estudio se utilizaron ejemplares depositados en la colección del Instituto de Ecología y Sistemática (IES). Para la toma de las fotografías se tuvo en cuenta que los individuos tuvieran en perfecto estado el margen del ala anterior derecha, que fue la parte del cuerpo seleccionada para el estudio de contorno y las imágenes fueron hechas sobre un fondo blanco para aumentar el contraste. La identificación de las especies se realizó a partir de Tuttle (2007). Fueron fotografiados un total de 64 individuos de *Pseudosphinx tetrio* (17), *Agrius cingulata* (13), *Cocytius duponchel* (9), *Pachylia ficus* (9), *Manduca rustica* (8) y *Protambulix strigilis* (8).

Para el análisis de los contornos de las alas se utilizó el programa *Adobe Photoshop CS5*, para el preprocesamiento de las imágenes. Estas fueron recortadas para aislar el ala anterior derecha, desaturadas y se ajustó el valor de brillo y contraste a sus valores mínimo y máximo, respectivamente para dejar solo una imagen binaria (en blanco y negro). Para la cuantificación de los contornos se utilizó el programa SHAPE 1.3 (Iwata y Ukai, 2002), que cuenta con cuatro subprogramas: *ChainCoder*, *Chc2Nef*, *PrinComp* y *PrinPrint*. La secuencia de pasos en el procesamiento fue la descrita por Denis (2014) para el estudio de huevos de las aves. De forma resumida: los contornos de las alas fueron descritos por un código de cadena numérico (Freeman, 1974) en el módulo *ChainCoder*. Estas se estandarizaron por la elipse del primer armónico en el módulo *Chc2Nef* (Kuhl y Giardina, 1982) y se calcularon los coeficientes de las funciones de Fourier (DEF) a partir de 30 armónicos. La gran cantidad de datos que este procedimiento produce se redujo por medio de un Análisis de Componentes Principales en el módulo *PrinComp*, según lo propuesto por Rohlf y Archie (1984), y los primeros componentes se emplearon como variables de forma. Estos variables derivadas contienen toda la información de la forma de las alas, como se demuestra por la reconstrucción gráfica de los contornos para cada componente a través de una transformación inversa de Fourier, según el procedimiento de Furuta *et al.* (1995) y empleando el módulo *PrinPrint* (Fig. 1).

Para analizar la posibilidad de emplear la forma del ala para diferenciar las especies de esfíngidos, con los puntajes de los dos primeros componentes principales se realizó un Análisis de Función Discriminante

lineal (AFD). Como método alternativo, se entrenaron 25 redes neurales de tipo perceptrón multicapa y se retuvieron las seis de mejores resultados. Los datos se dividieron, un 60% para el entrenamiento de la red y un 40 % para su validación. Los datos fueron analizados en los programas *Past 2.17* y *Statistica*.

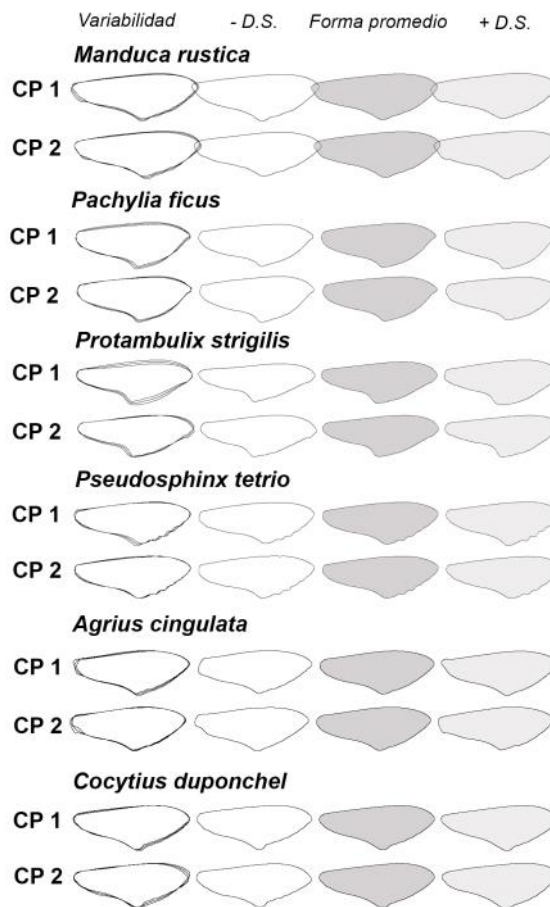


Figura 1. Reconstrucción gráfica del contorno del ala de las seis especies de esfíngidos (Lepidoptera: Sphingidae) estudiadas, por medio de la transformación inversa de los componentes principales obtenidos con los descriptores elípticos de Fourier del contorno. Se muestra la forma media y sus límites de confianza (± 2 D.S. - desviación estándar), para los dos primeros componentes (PC1 y PC2).

Figure 1. Graphic reconstruction of the contour of the wing of six species of hawkmoth (Lepidoptera: Sphingidae), obtained by reversing principal component analysis with elliptic Fourier descriptors. Mean and confidence limits (± 2 S.D. - standard deviation) is shown. PC1: Principal component 1 and PC2: Principal Component 2.

RESULTADOS

El análisis de función discriminante logró un porcentaje de 95,3 % de clasificación correcta, utilizando todos los componentes que dieron significativos (Lambda de Wilks: 0,0004; $F_{(55,230)} = 18,78$; $p < 0,001$). La matriz de confusión (Tabla 1) mostró 100 % de clasificación correcta para *C. duponchel*, *P. ficus*, *P. strigilis* y *P. tetrio*. Dos individuos de *M. rustica* fueron confundidos con *A. cingulata* y uno de esta especie fue incorrectamente clasificado como *C. duponchel*. Por esta causa, *A. cingulata* tuvo un 84,6% de clasificación correcta y *C. duponchel* de 88,9 %.

La forma de estructuras como las alas en insectos puede estar determinada por factores como el tipo de habitat en el que estas se encuentran (Hernández, 2012). Si bien especies como *P. tetrio* pueden ser encontrados en un gran número de hábitats, otros

como *P. strigilis* son más abundantes en habitats costeros. Las diferencias entre hábitats como los ejemplos mencionados anteriormente, podrían arrojar diferencias en la forma de las alas suficientes como para distinguirlas.

La búsqueda de la red neural más eficiente dio como resultado un perceptrón formado por 11 neuronas de entrada, 14 neuronas en la capa oculta y 6 neuronas de salida. El algoritmo de optimización usado fue BFGS31 y la función de error fue la entropía cruzada, y las funciones de activación logística en la capa oculta y Softmax en la capa de salida. Este procedimiento sacrificó un poco de potencia, al disminuir el tamaño de muestra efectiva pero aún así, fue suficiente para discriminar la mayoría de las especies (Tabla 2). Obtuvo, de manera general, un 100 % de clasificación correcta con los datos de entrenamiento y un 84,6 % con los datos de validación. Fue capaz de clasificar

Tabla 1: Resultado del Análisis Discriminante para diferenciar seis especies de esfíngidos (Lepidoptera: Sphingidae) empleando como variables de forma los 11 componentes principales efectivos obtenidos con los coeficientes elípticos de Fourier para 30 armónicos.

Table 1: Discriminant analysis, using variables such as the first 11 principal components resulting from the reduction of the standardized dimensional matrix elliptic Fourier coefficients for 30 harmonics in six species of hawkmoth (Lepidoptera: Sphingidae).

Especie	Porcentaje de clasificación correcta	AC	CD	MR	PF	PS	PT
<i>Agrius cingulata</i> (AC)	84,6	11	0	2	0	0	0
<i>Cocytius duponchel</i> (CD)	88,9	1	8	0	0	0	0
<i>Manduca rustica</i> (MR)	100,0	0	0	8	0	0	0
<i>Pachylia ficus</i> (PF)	100,0	0	0	0	9	0	0
<i>Protambulyx strigilis</i> (PS)	100,0	0	0	0	0	9	0
<i>Pseudosphinx tetrio</i> (PT)	100,0	0	0	0	0	0	17
Total	95,4	12	8	10	9	9	17

Tabla 2: Resultados de la clasificación de los individuos de la muestra de validación empleando la red neural entrenada para identificar seis especies de esfíngidos (Lepidoptera: Sphingidae) por los contornos de las alas.

Tabla 2: Results of the classification of individuals of the validation sample using the neural network trained to identify six species of hawkmoth (Lepidoptera: Sphingidae) by the contours of the wings.

Especie	Porcentaje de clasificación correcta	AC	CD	MR	PF	PS	PT
<i>Agrius cingulata</i> (AC)	84,6	11	0	2	0	0	0
<i>Cocytius duponchel</i> (CD)	88,9	1	8	0	0	0	0
<i>Manduca rustica</i> (MR)	100,0	0	0	8	0	0	0
<i>Pachylia ficus</i> (PF)	100,0	0	0	0	9	0	0
<i>Protambulyx strigilis</i> (PS)	100,0	0	0	0	0	9	0
<i>Pseudosphinx tetrio</i> (PT)	100,0	0	0	0	0	0	17
Total	95,4	12	8	10	9	9	17

correctamente todos los individuos en la muestra de validación de *P. ficus*, *P. strigilis* y *P. tetrio*. De las especies *A. cingulata* y *C. duponchel* clasificó incorrectamente un individuo, y de *M. rustica* clasificó incorrectamente dos (de la muestra empleada para su validación).

La forma de las alas en insectos puede estar determinada por factores como el tipo de hábitat en el que estas se encuentran (Hernández, 2012). Si bien especies como *P. tetrio* pueden ser encontrados en un gran número de hábitats, otros como *P. strigilis* son más abundantes en hábitats costeros. La estructura vegetal del hábitat es, según Tuttle (2007), un elemento que puede haber condicionado la forma de las alas de diferentes polillas, debido a que los patrones de vuelo no serían los mismos. Por tanto, la diferenciación de especies a partir de la forma del ala va a ser mejor entre aquellas que viven en hábitats diferentes. *M. rustica*, *A. cingulata* y *C. duponchel* son especies que generalmente, habitan en las mismas formaciones vegetales, lo que podría explicar que la forma alar en ellas sea más semejante y por tanto la discriminación en las especies sea menor. No obstante, es de esperar que al aumentar el número de muestras, se logró una mejor discriminación entre estas especies que la obtenida en esta investigación.

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.
- Adams, D.C., F.J. Rohlf y D.E. Slice (2013) A field comes of age: geometric morphometrics in the 21st century. *Hystrix, It. J. Mamm.* 1-8.
- Barro, A y R. Núñez (2011) Esfingidos y otras polillas afines. En: A. Barro y R. Núñez (eds.): *Lepidópteros de Cuba*. pp. 102-114. Spartacus, Finlandia.
- Baylac, M., C. Villemant y G. Symbolotti (2003) Combining geometric morphometrics with pattern recognition for the investigation of species complexes. *Biological Journal of the Linnean Society.* 80: 89-98.
- Belleza, B.G. y C.G. Demayo (2014) Describing the Wing Shape of three local populations of *Brontispa longissima* Using Elliptic Fourier Analysis. *Annals of Biological Research.* 5 (6):47-56.
- Benítez H. A. y T. A. Püschel (2014) Modelando la Varianza de la Forma: Morfometría Geométrica Aplicaciones en Biología Evolutiva. *Int. J. Morphol.* 32(3): 998-1008.
- Cruz, D. (2012) Diversidad y variación de la composición y abundancia de los ensambles de esfingidos (Lepidoptera: SpHINGIDAE) de un bosque siempreverde mesófilo, Sierra del Rosario, Cuba. Tesis de Diploma. Facultad de Biología, Universidad de La Habana.
- Cruz, D. y A. Barro (2015) Diversidad de los ensambles de esfingidos (Lepidoptera: SpHINGIDAE) de un bosque siempreverde mesófilo, Sierra del Rosario, Cuba. *RCCB.* 4(1): 27-35.
- Denis, D. y U. Olavarrieta (2011) ¿Existe isomorfía en los huevos de las especies de la familia Ardeidae (Aves, Ciconiiformes). *Animal Biodiversity and Conservation.* 34(1): 35-45.
- Dryden, I. L. y K. V. Mardia (1998) *Statistical shape analysis*. Wiley, Nueva York, E.E.U.U. 347 pp.
- Dujardin, J.P., D. Kaba, P. Solano, M. Dupraz, K. D. McCoy y N. Jaramillo-O (2014) Outline-based morphometrics, an overlooked method in arthropod studies?. *Infection, Genetics and Evolution.* 1-10.
- Gaston, K. J. y M. A. O'Neill (2004) Automated species identification: why not? *Phil.Trans. R. Soc. Lond. B.* 359: 655-667.
- Griffin, P. C., S. C. Griffin, C. Waroquiers, L. S. Mills (2005) Mortality by moonlight predation risk and the snowshoe hare. *Behav. Ecol.* 16: 938-944.
- Haber, W. A. y G. W. Frankie (1989) A tropical hawkmoth community: Costa Rica Dry forest. *Sphingidae. Biotropica.* 21(2): 155-172.
- Hernández, M (2012) Asimetría fluctuante y valor taxonómico de la forma del ala en especies cubanas de la familia Libellulidae (Insecta: Odonata). Tesis de Diploma. Facultad de Biología. Universidad de La Habana.
- Hernández, M. (2014) Identificación de las subespecies de *Magnolia cubensis* (Magnoliaceae) mediante análisis digital de imágenes de las hojas. *RCCB.* 3 (2): 53-60.
- Hernández, M. y B. Falcón (2014) Variabilidad inter e intra específica en la morfología foliar de las especies cubanas de *Morella* (Myricaceae). *Biológicas.* 16(1): 43 - 52.
- Jones, R. T., Y. Le Poul, A.C. Whibley, C. Me'rot, *et al.* (2013) Wing shape variation associated with mimicry in butterflies. *Evolution.* 2323-2334.
- Marcus, L (1990) Traditional Morphometrics. En: F.J Rohlf y F. L Bookstein (eds.): *Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop*. pp. 77-123. Ann Arbor, University of Michigan Museum of Zoology Special Publication 2, E.E.U.U.
- Moré, M., S. Benítez-Vieyra, A.N. Sérsic y A. A. Cocucci (2014) Patrones de depósito de polen sobre el cuerpo de los polinizadores en comunidades esfingófilas de Argentina Subtropical. *Darwiniana, nueva serie.* 2(1): 174-196.
- New, T.R (2013) Lepidoptera and invertebrate conservation. En: T.R. NEW (ed): *Lepidoptera and conservation*. pp. 1-15. Oxford: J Wiley & Sons, Ltd.
- Núñez, E (2008) Las especies de SpHINGIDAE de la Reserva Privada Yacutinga, provincia de Misiones, Argentina (Lepidoptera: SpHINGIDAE). *SHILAP Revta. lepid.* 36 (142): 219-226
- Pitarque, A., J. C. Ruiz y J. F. Roy (2000) Las redes neuronales como herramientas estadísticas no paramétricas de clasificación. *Psicothema* 12 (Supl no.2): 459-463.
- Polanco, M. M., R. Prieto, L.F. Galindo, L.A. Lozano y M. Ordóñez (2008) Análisis morfométrico en especies de *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) del grupo repleta de ecosistemas semiáridos colombianos. *Revista Colombiana de Entomología.* 34 (1): 105-109

- Prieto, R y M.M Polanco (2009) Análisis morfométrico de la pigmentación en especies colombianas de *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) del grupo repleta. *Revista Colombiana de Entomología*. 35 (2): 224-229.
- Santos, F.L., M.M Casagrande y O.H.H Mielke (2015) Saturniidae and Sphingidae (Lepidoptera, Bombycoidea) assemblage in Vossoroça, Tijucas do Sul, Paraná, Brazil. *An Acad Bras Cienc*.
- Soto-Vivas, A., J. Liria y E. De Luna (2011) Morfometría geométrica y filogenia en *Rhodniini* (Hemiptera, Reduviidae) de Venezuela. *Acta Zool. Mex. (n.s.)*. 27(1): 87-102.
- Tabugo, S.R., M. A. Torres, L.F. Olowa, M.A. Sabaduquia, *et al.* (2012) Elliptic Fourier analysis in describing Shape of the Mandible of the Larvae of the Coconut Leaf beetle *Brontispa longissima* Gestro, 1885 (Chrysomelidae: Hispinae) collected from Plants with varying Degrees of Damage. *Int. Res. J. Biological Sci.* 1 (8): 19-26.
- Tofilski, A. (2008) Using geometric morphometrics and standard morphometry to discriminate three honey bee subspecies. *Apidologie* 39: 558–563.
- Denis, D. (2014) Aplicación de las funciones elípticas de Fourier a la descripción de la forma de los huevos de las aves. *Revista Biología Tropical*. 62 (4): 1469-1480.
- Tuttle, J. P. (2007) *The hawk moth of North America, a natural history study of the Sphingidae of the United States and Canada*. BW&A Books. The wedge entomological research foundation, 253 pp.



Editor para correspondencia: Dr. Dennis Denis Ávila