



Diferencias interespecíficas y geográficas en los niveles de asimetría fluctuante en las alas de *Erythrodiplax umbrata*, *Macrothemis celeno* y *Pantala flavescens* (Odonata: Libellulidae)

Majela HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ* y Dennis DENIS ÁVILA

Facultad de Biología, Universidad de La Habana, calle 25 e/ I y J, Vedado, Plaza de la Revolución

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

Resumen: Los odonatos, como la mayoría de los insectos, presentan asimetría fluctuante. La distribución de las libélulas cubanas varía entre regiones del país. Sin embargo, no se conoce si esta variación regional se refleja en características morfológicas de especies de amplia distribución, fundamentalmente en indicadores morfológicos sensibles como los niveles de asimetría corporal. El objetivo de este trabajo es la identificación de diferencias interespecíficas en niveles de asimetría fluctuante en las alas de libélulas cubanas y su comparación entre dos regiones del país. Se tomaron 120 fotos de *Macrothemis celeno*, *Erythrodiplax umbrata* y *Pantala flavescens*, se colocaron puntos clave en las alas anteriores y posteriores de ambos lados del cuerpo mediante el programa tpsDig. Para el análisis de la forma se utilizó el registro Procrustes, análisis de componentes principales de forma, análisis de matrices de distancias euclidianas y rejillas de deformación. Se utilizaron las variables tamaño del centroide, distancias entre centroides (cuyas diferencias entre especies y entre regiones fueron probadas por análisis de Montecarlo), y distancias lineales para medir el grado de asimetría. La prueba de Montecarlo reveló diferencias significativas entre *E. umbrata* y *P. flavescens* en el tamaño del centroide para las alas posteriores y entre las poblaciones de las regiones occidental y oriental de *E. umbrata* y *M. celeno*. La sumatoria de las distancias euclidianas como medida de asimetría, mostró diferencias en las alas anteriores de *E. umbrata* entre ambas regiones del país, pero no entre especies. La diferencias encontradas en los niveles de asimetría entre especies y entre regiones podrían ser causa de inestabilidad en el desarrollo, estrés ambiental y reflejarse directamente en procesos

como la selección de la pareja, la agilidad del vuelo y la maniobrabilidad, por lo que describir esta característica en los odonatos cubanos podría complementar los estudios de ecología, biología reproductiva y conductuales realizados hasta la fecha.

Palabras clave: libélulas, morfometría geométrica, puntos clave, venación del ala

Abstract: Interspecific and geographic differences in fluctuating asymmetry levels in wings of *Erythrodiplax umbrata*, *Macrothemis celeno* and *Pantala flavescens* (Odonata: Libellulidae). Dragonflies and damselflies show fluctuating asymmetry like the majority of insects. The distribution of the Cuban dragonflies varies among country regions. However, it remains unknown if this regional variation is reflected in the morphological characteristics of species with wide distribution, mainly over sensitive morphological indexes like the levels of corporal asymmetry. For this reason the objective of this work is the identification of interspecific differences in the levels of fluctuating asymmetry in wings of Cuban dragonflies and their comparison between two country regions. Digital pictures of *Macrothemis celeno*, *Erythrodiplax umbrata* and *Pantala flavescens* (120) were taken. The landmarks were placed in fore and hind wings of both sides of the body, using the program tpsDig. Procrustes superimposition methods, shape principal components analysis, analysis of euclidean distances matrix and Thin Plate Spline were used for shape analysis. Centroid size, distances between centroids (the differences among species and regions they were proven by Montecarlo analysis), and lineal distances were employed to measure the degree of

asymmetry. The Montecarlo test revealed significant differences between *E. umbrata* and *P. flavescens* for the hind wings and between the populations of *E. umbrata* and *M. celeno* of the western and eastern regions. The sum of lineal distances, used as a measure of asymmetry, showed differences in fore wings of *E. umbrata* among both regions of the country, but not among species. The differences found in the levels of asymmetry among species and regions they could be cause of uncertainty in the development, environmental stress and to be reflected directly in processes like the couple's selection, the agility of the flight and the maneuverability, for that to describe this characteristic in the Cuban dragonflies could supplement the studies of ecology, reproductive biology and behavior carried out until the moment.

Keywords: dragonflies, geometric morphometric, landmarks, wing venation.

Recibido el 20 de febrero de 2015; aceptado el 27 de noviembre de 2015. Editor asociado: Daryl D. Cruz Flores

INTRODUCCIÓN

La simetría es una característica de todos los seres vivos superiores (Baguña *et al.*, 2002). Sin embargo, existen numerosos elementos de estrés inherentes (genéticos) o extrínsecos (ambientales) que pueden influir en los mecanismos del desarrollo ontogenético responsables de la simetría de las estructuras biológicas (Palmer, 1994). De ahí que, el nivel de desviación de este patrón, o sea, las asimetrías en el fenotipo, pueden ser indicadores sensibles de la calidad genética o del hábitat.

En las poblaciones naturales pueden existir tres tipos de asimetrías: antisimetría, asimetría direccional y asimetría fluctuante (AF). Según Van Valen (1962) la asimetría fluctuante se define como las diferencias no direccionales entre los lados derecho e izquierdo del cuerpo en los rasgos pareados bilaterales.

Numerosos trabajos han utilizado la asimetría fluctuante para medir la imprecisión de los sistemas de desarrollo y como un indicador de la condición individual en una gran variedad de contextos biológicos (Klingenberg *et al.*, 2002; Benítez y Parra, 2012). Esta, ha sido empleada para comparar poblaciones que experimentan condiciones

ambientales diferentes (Hume, 2001) o medir las diferencias en la forma de determinadas estructuras con la localidad geográfica (Hoffmann y Shirriffs, 2002).

Los primeros estudios de asimetrías utilizaban medidas lineales y ángulos (Hunt y Simmons, 1998; Cowart y Graham, 1999). Sin embargo, desde hace casi tres décadas se utilizan variables de forma, derivadas de la morfometría geométrica, o una combinación de morfometría tradicional y geométrica (ej.: Klingenberg, 2009; Arambourou *et al.*, 2012; Bravi y Benítez, 2013). Esta última combina el poder y las herramientas flexibles de los estadísticos multivariados, con las relaciones espaciales entre las partes del cuerpo (Bookstein, 1991; Dryden y Mardia, 1998). Estas técnicas hacen uso de las configuraciones espaciales de las coordenadas de puntos morfológicos claves para cuantificar la forma y permiten comparar la variación de forma entre los objetos e investigar cuales lugares del cuerpo reflejan más esta variación (Hassall *et al.*, 2008; Adams *et al.*, 2013).

Entre los estudios que incluyen aspectos de la ecología del orden Odonata en Cuba, se encuentran los realizados por Ramos (2002), Trapero (2007), Torres y Trapero (2008) y Torres y Fonseca (2009) sobre la dieta en especies de zigópteros, la frecuencia de ovoposición, la relación entre la conducta reproductiva y factores ecológicos, así como el uso de plantas acuáticas en estadios larvales, respectivamente. La variación en los niveles de asimetría fluctuante en Odonata, se refleja directamente en la selección de la pareja (Beck y Pruitt-Jones (2002), en la agilidad del vuelo y en la maniobrabilidad (Block y Stoks, 2007), por lo que describir esta característica en los odonatos cubanos podría complementar los estudios de biología reproductiva y conductuales realizados hasta la fecha.

Por otra parte, Trapero y Naranjo (2003) reportaron que la distribución de las especies en Cuba varía entre las regiones occidental, central y oriental del país. Sin embargo, se desconoce si esta variación regional se refleja en las características morfológicas de una especie de amplia distribución, sobre todo en indicadores morfológicos tan sensibles como los niveles de asimetría corporal. En especies de odonatos como *Coenagrion puella*, *Calopteryx splendens* y *Anotogaster sieboldii*, se ha demostrado la

presencia de variación geográfica en la forma de las alas (Hassall *et al.*, 2008; Sadeghi *et al.*, 2009; Kiyoshi y Hikidam, 2012), por lo que pudieran existir patrones geográficos no descritos para este grupo de insectos en Cuba.

Por estas razones, en la presente investigación se han planteado como objetivos: la evaluación de las diferencias interespecíficas en los niveles de asimetría fluctuante en las alas de las libélulas cubanas *Erythrodiplax umbrata* (Linnaeus, 1758), *Macrothemis celeno* (Selys, 1857) y *Pantala flavescens* (Fabricius, 1798), especies ampliamente distribuidas en el archipiélago cubano, y su comparación intraespecífica entre poblaciones de las regiones oriental y occidental de Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron fotografías digitales de 120 ejemplares de *E. umbrata*, *M. celeno* y *P. flavescens*, depositados en las colecciones científicas 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 Universidad de Oriente en Santiago de Cuba (Tabla 1).

Los ejemplares se separaron según su procedencia en poblaciones occidentales (provincias Pinar del Río y La Habana) o provincias orientales (Santiago de Cuba y Granma). Se fotografiaron de manera independiente las alas anteriores y posteriores, de cada individuo. Las imágenes con baja nitidez fueron desechadas para evitar errores en la digitalización de los puntos.

Para evaluar la asimetría fluctuante fueron colocados 44 puntos clave (10 en cada ala anterior y 12 en cada ala posterior), en ubicaciones topológicamente conservadas y de localización

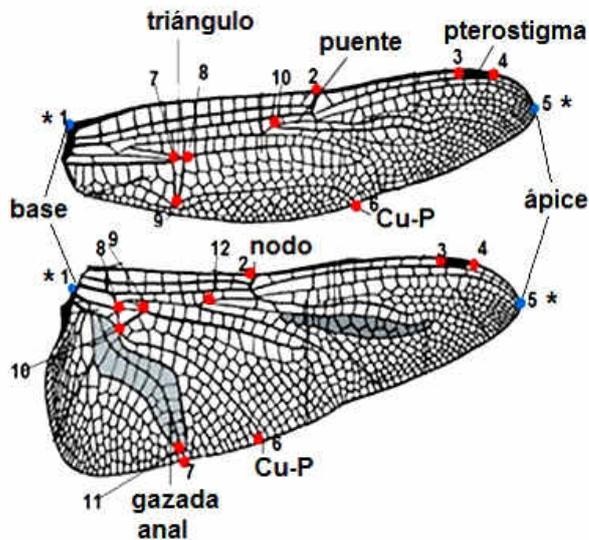


Figura 1. Localización de los puntos clave empleados en la evaluación de las asimetrías en las alas de tres especies de odonatos cubanos (solo se muestra el lado derecho). (* Puntos de Tipo II).

Figure 1. Location of landmarks used in asymmetry assess in wings of three species of Cuban dragonflies (only right side is shown). (*Type II Landmark).

precisa, tomando como referencia la venación de las alas. De estos puntos, según la clasificación de Bookstein (1991), 18 fueron anatómicos (Tipo I), 8 en las alas anteriores (AA) y 10 en las alas posteriores (AP) y 4 fueron geométricos (Tipo II), marcando los extremos de las alas.

Los puntos, siempre que fue posible, se ubicaron en posiciones análogas entre alas (Fig. 1). De esta forma quedaron ubicados en ambas alas los puntos 1 y 5, que marcaron la base y el ápice del ala; el punto 2 que marcó la ubicación del nodo; los puntos 3 y 4 que marcaron el inicio y el final del pterostigma; y el punto 6 que señaló el final de la vena Cu-P. En el ala

Tabla 1. Procedencia y cantidad de fotografías por cada ala, tomadas en individuos de tres especies de odonatos cubanos para la evaluación de la asimetría fluctuante.

Table 1. Source and number of pictures by wing, in individuals of three Cubans species of dragonflies to assess fluctuating asymmetry.

Especie	Región occidental		Región oriental		Total
	Alas anteriores	Alas posteriores	Alas anteriores	Alas posteriores	
<i>Erythrodiplax umbrata</i>	12	12	34	33	91
<i>Macrothemis celeno</i>	11	10	20	17	58
<i>Pantala flavescens</i>	12	12	18	18	60
Total	35	34	72	68	209

posterior, el punto 7 se ubicó en el margen, por debajo del final de la gazada anal que fue marcado con el punto 11. Se ubicaron tres puntos en los vértices del triángulo, para delimitar su ubicación y tamaño (puntos 7, 8 y 9 en el ala anterior y 8, 9 y 10 en el ala posterior). Finalmente, en la intersección del puente se colocó el punto 10 en el ala anterior y el 12 en la posterior.

Los puntos clave fueron digitalizados en el programa tpsDig2 (Rohlf, 2001), por una misma persona, para disminuir el error experimental y las configuraciones resultantes fueron registradas para eliminar las variaciones afines. Para ello, luego de reflejar las configuraciones de puntos en las alas izquierdas (colocarlas en la misma dirección que las alas derechas), se realizó un registro Procrustes, según recomiendan Klingenberg y McIntyre (1998).

Para explorar las variabilidades y diferencias en los datos morfológicos se realizó un análisis de componentes principales de forma (Shape-PCA) con las coordenadas de las configuraciones registradas. Además, se utilizaron los autovectores (AV) resultantes del análisis para identificar las coordenadas y puntos clave de mayor contribución a la variabilidad explicada por cada componente principal.

Para detectar la magnitud de las diferencias absolutas entre las formas de las alas derechas e izquierda, se realizó un Análisis de Matrices de Distancias Euclidianas. Se utilizaron rejillas de deformación obtenidas a partir de la función TPS (*thin-plate spline*) (Zelditch *et al.*, 2004) para visualizar las áreas de mayor asimetría derecha-izquierda entre especies y poblaciones.

Como estimadores del nivel de asimetría entre las alas se emplearon tres indicadores: las distancias entre centroides de las alas derecha e izquierda superpuestas, las diferencias en tamaños del centroide y las diferencias en la sumatoria de las distancias lineales entre todos los puntos entre ambos pares de alas.

Para comparar los tamaños del centroide entre especies y en poblaciones de una misma especie entre las regiones oriental y occidental de Cuba, se calcularon los límites de confianza (LC) reales por el método de Montecarlo. Para los tamaños de efecto de cada comparación, se emplearon modelos nulos generados a partir de 10 000 remuestreos aleatorios con reemplazamiento de los datos originales.

Se contrastaron las diferencias entre especies en las distancias entre centroides y en la sumatoria de las distancias lineales. En ambos análisis se utilizó un ANOVA no paramétrico por permutaciones, mediante el empleo de 10 000 permutaciones y el índice de distancia euclidiana. Los análisis fueron realizados con los programas Past 2.14 (Hammer *et al.*, 2001), Statistica 8.0 (Statsoft, 2007) y la herramienta PopTools 3.23 (Hood, 2010) del MS Excel.

RESULTADOS

Análisis entre especies

Una vez registradas las configuraciones, se observó que los puntos que mostraron mayor variabilidad fueron los localizados en la base del ala y el final de la vena Cu-P para las alas anteriores. Para las posteriores, además, se encontró alta variabilidad en el correspondiente al margen del ala coincidente con la gazada anal.

El análisis de componentes principales de forma, mostró que la mayor variación se concentra, para todos los casos en unos pocos componentes. En las alas anteriores el primer componente (CP1) explica un 67,2 % del total de la variación, mientras que en las posteriores explica un 47,7 %. En el primer par de alas se puede observar superposición en las nubes de puntos entre las especies *M. celeno* y *P. flavescens* (Fig. 2A). Los valores mayores de autovectores en el primer componente correspondieron a las coordenadas x de los puntos claves 10 (AV=0,51) y 2 (AV=0,49) respectivamente, mientras que la mayor contribución a la variabilidad explicada por el segundo componente (CP2) fue de las coordenadas x de los puntos claves 6 (AV=-0,67) y 1 (AV=0,41).

Por otra parte, en el análisis de las alas posteriores no se observa superposición en la distribución de puntos entre especies (Fig. 2B). En el CP1 la coordenada x del punto clave 4 (AV=0,42) y las coordenadas x y y de los puntos clave 7 (AV=-0,29; AV=0,38) y 11 (AV=-0,28; AV=0,38) presentaron los mayores valores de autovectores. Mientras que, las coordenadas x de los puntos claves 2 (AV=-0,44), 3 (AV=-0,44) y 12 (AV=-0,45) contribuyeron en mayor cuantía a la variabilidad explicada por el CP2.

Las rejillas de deformación mostraron que la mayor variación entre los consensos de las alas derecha e izquierda en el sentido de la expansión, se encuentra en los puntos correspondientes al inicio y final del

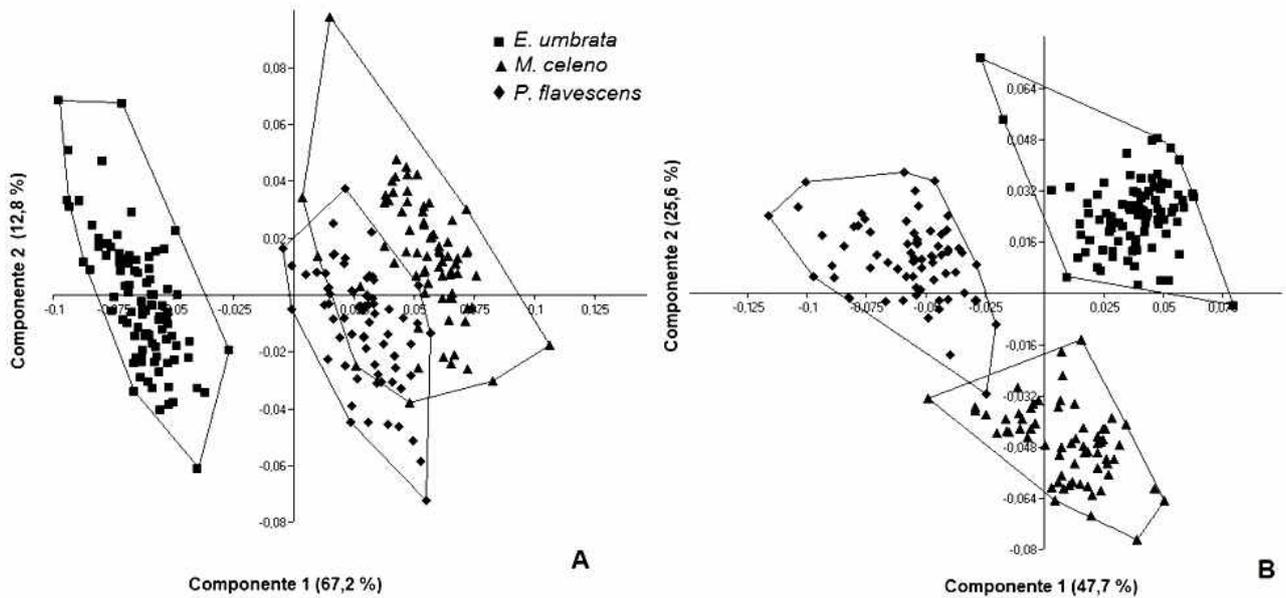


Figura 2. Representación gráfica del análisis de componentes principales (Shape-PCA) de la forma de las alas de 120 individuos cubanos de *Erythrodiplax umbrata*, *Macrothemis celeno* y *Pantala flavescens* (Odonata) en el estudio de la asimetría fluctuante. A) Alas anteriores, B) Alas posteriores.

Figure 2. Graphic representation of Principal Component Analysis (Shape-PCA) of wing shape of 120 Cubans individuals of *Erythrodiplax umbrata*, *Macrothemis celeno* and *Pantala flavescens* (Odonata) in the study of fluctuating asymmetry. A) Fore wing, B) Posterior wing.

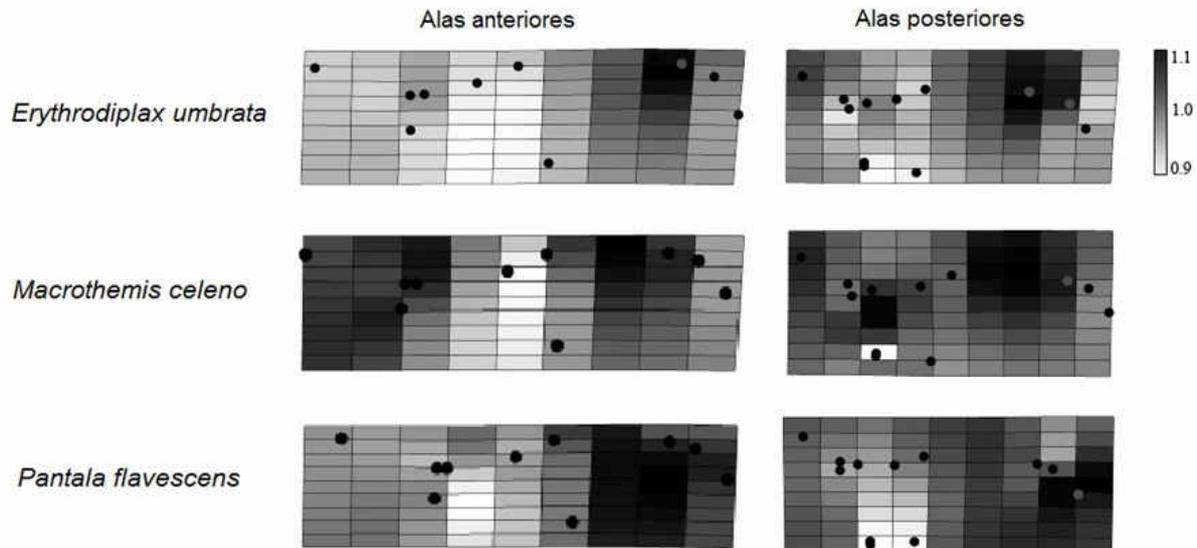


Figura 3. Rejillas de deformación de las configuraciones consensos de puntos clave en las alas de 120 individuos de tres especies de odonatos cubanos, mostrando la ubicación de las áreas con mayores grados de asimetrías entre los lados izquierdo y derecho. En la escala de grises valores de 1 representan que no hay deformación en ese punto, valores mayores que 1 indican expansión y menores que 1 indican compresión. Se empleó como configuración de referencia el consenso del ala derecha.

Figure 3. Deformation grid of consensus configuration of landmarks in wings of 120 individuals in three species of Cubans dragonflies, showing the location of higher asymmetry between left and right wings. Values of 1 in gray scale represent no deformation, values higher than 1 indicate expansion and lesser than 1 indicate compression. Consensus of the right wing was used as reference configuration.

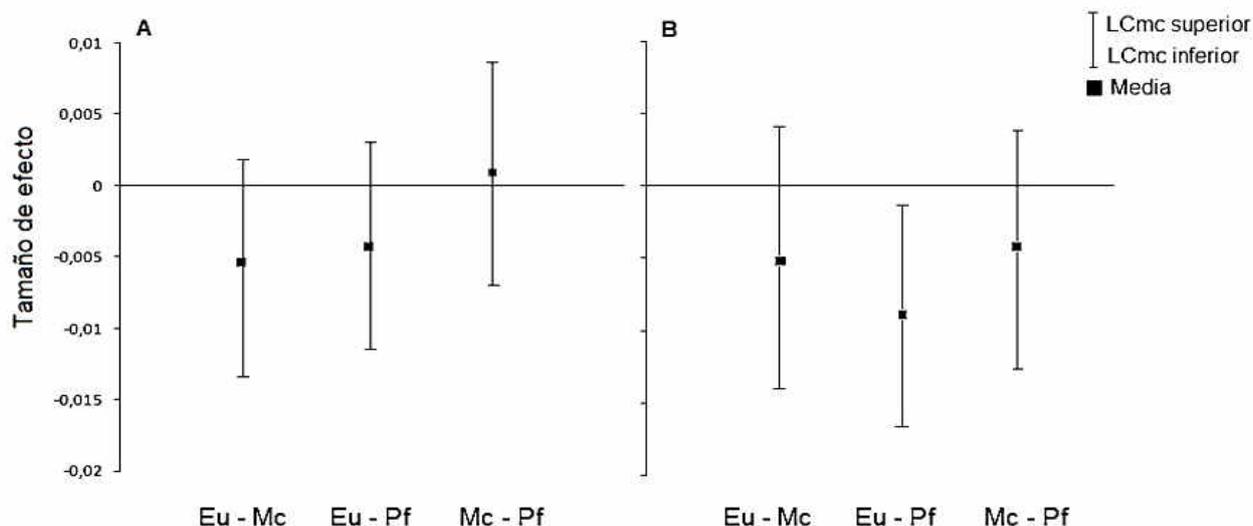


Figura 4. Diferencias en la asimetría según los tamaños de los centroides de las alas derecha e izquierda entre los odonatos cubanos *Erythrodiplax umbrata* (Eu), *Macrothemis celeno* (Mc) y *Pantala flavescens* (Pf) en Cuba (n=120 individuos). A: para las alas anteriores. B: para las alas posteriores.

Figure 4. Differences in asymmetry by centroid size of right and left wings between the Cubans dragonflies *Erythrodiplax umbrata* (Eu), *Macrothemis celeno* (Mc) and *Pantala flavescens* (Pf) in Cuba (n=120 individuals). A: Fore wings. B: Posterior wings. Was employed like reference configuration the consensus of the right wing.

pterostigma. Cabe resaltar que en *M. celeno* se observó una expansión en la región del triángulo (principalmente en las alas anteriores) que no mostraron las otras dos especies evaluadas. Los mayores valores de compresión se encontraron entre la intersección del puente y el nodo en las alas anteriores (fundamentalmente para *E. umbrata* y *M. celeno*) y en la gazada anal y el triángulo en las posteriores (Fig. 3).

El resultado de la prueba de Montecarlo para las alas anteriores no mostró evidencias suficientes que permitan afirmar que existen o no diferencias estadísticas significativas entre ninguna de las tres especies al utilizar el tamaño del centroide como una medida de la asimetría (Fig. 4 A). Sin embargo, para las alas posteriores al comparar a *E. umbrata* y *P. flavescens* se detectaron diferencias estadísticas, las cuales representan el 0.97 % del tamaño máximo del centroide (Fig. 4 B).

Al analizar las diferencias en las sumatorias de las distancias euclidianas entre los puntos clave de las alas derecha e izquierda, no se detectaron diferencias estadísticas significativas en ninguna de las especies. Los valores de probabilidad asociados a estas comparaciones fueron para las alas anteriores de *E. umbrata* (p=0,175), de *M. celeno* (p=0,734) y de *P.*

flavescens (p=0,947), mientras que para las alas posteriores de *E. umbrata* (p=0,088), de *M. celeno* (p=0,467) y para *P. flavescens* el valor obtenido fue p=0,211. Al utilizar estas sumatorias como indicadores de la asimetría, el Permanova mostró que no existen diferencias entre especies para ambos pares de alas. Las comparaciones por pares de especies mostraron los siguientes valores de probabilidad: en las anteriores *E. umbrata* y *M. celeno* (p=0,259), de *E. umbrata* y *P. flavescens* (p=0,161) y de *M. celeno* y *P. flavescens* (p=0,693). En las alas posteriores de *E. umbrata* y *M. celeno* (p=0,359), de *E. umbrata* y *P. flavescens* (p=0,536) y de *M. celeno* y *P.*

Tabla 2. Distancias entre los centroides de las alas derecha e izquierda de las especies de odonatos cubanos *Erythrodiplax umbrata*, *Macrothemis celeno* y *Pantala flavescens* en el estudio de la asimetría fluctuante.

Table 2. Distances between centroids of right and left wings of Cuban dragonflies species *Erythrodiplax umbrata*, *Macrothemis celeno* and *Pantala flavescens* in the study of fluctuating asymmetry.

Especie	Alas anteriores (Media ± ES)	Alas posteriores (Media ± ES)
<i>E. umbrata</i>	1,22 ± 0,24	0,13 ± 0,04
<i>M. celeno</i>	0,71 ± 0,09	0,37 ± 0,23
<i>P. flavescens</i>	0,82 ± 0,09	0,93 ± 0,28

flavescens ($p=0,708$).

Al calcular las distancias entre los centroides de las alas derecha e izquierda en las tres especies analizadas, en las alas anteriores el mayor valor correspondió a *E. umbrata* y en las posteriores a *P. flavescens* (Tabla 2). No obstante, el PermutANOVA indicó que estas diferencias entre especies no son estadísticamente significativas, tanto en las alas anteriores ($p=0,165$) como en las posteriores ($p=0,246$).

Análisis entre regiones

En el análisis de la asimetría fluctuante entre poblaciones de las regiones occidental y oriental de Cuba, el primer componente del análisis de componentes principales en las alas anteriores, incluyó un 67,4 % de la variación y en las posteriores un 47,4 %. Además, se encontró superposición de las nubes de puntos de ambas alas para una misma especie. Las contribuciones de los autovectores a cada componente principal se comportaron de igual forma que en el análisis por especie y

correspondieron a los mismos puntos clave para ambos pares de alas.

Las rejillas de deformación mostraron que, en las alas anteriores, los puntos que más difieren entre los consensos de las alas derecha e izquierda, son los localizados al inicio y final de pterostigma y vértices del triángulo. Sin embargo, en las alas posteriores la deformación fue mayor en ambos sentidos y los puntos correspondientes al final de la gazada anal y margen del ala coincidente con la gazada anal, también presentaron una distorsión elevada. Para *E. umbrata* la región occidental mostró mayor deformación, mientras que en *M. celeno* se observó mayor deformación en la oriental. Para *P. flavescens*, las dos regiones del país mostraron un comportamiento similar (Fig. 5).

Al analizar las diferencias en el tamaño del centroide para las alas anteriores, la prueba de Montecarlo no mostró evidencias suficientes que permitan afirmar que existen diferencias estadísticas significativas entre las dos regiones (Fig. 6 A). Por el contrario, en las alas posteriores las especies *E.*

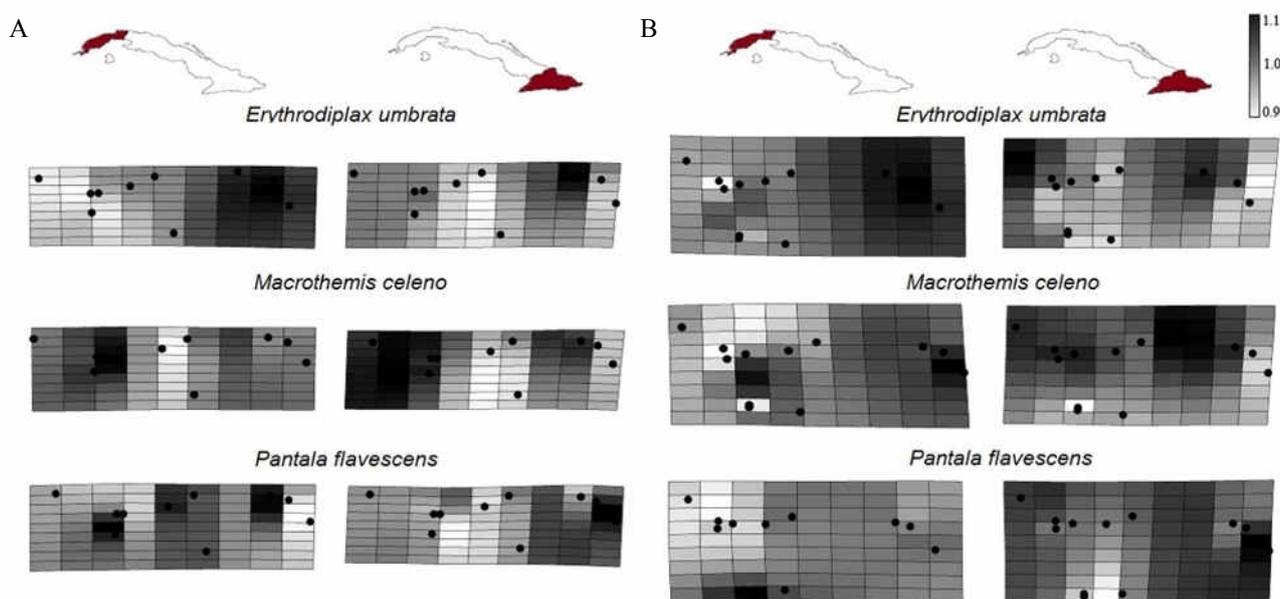


Figura 5. Ubicación de las áreas de mayor grado de asimetría entre las alas izquierda y derecha (tomada como configuración de referencia), en poblaciones de tres especies de odonatos en las regiones occidental y oriental de Cuba. A) Alas anteriores ($n=107$), B) Alas posteriores ($n=102$). En la escala de grises valores de 1 representan que no hay deformación en ese punto, valores mayores que 1 indican expansión y menores que 1 indican compresión. Se empleó como configuración de referencia el consenso del ala derecha.

Figure 5. Location of the higher asymmetry areas between left and right wings (used as reference configuration), in three dragonflies populations in western and eastern regions of Cuba. A) Fore wings ($n=107$), B) Posterior wings ($n=102$). In the gray scale values of 1 represent no deformation, higher than 1 indicate expansion and lesser than 1 indicate compression. Was employed like reference configuration the consensus of the right wing.

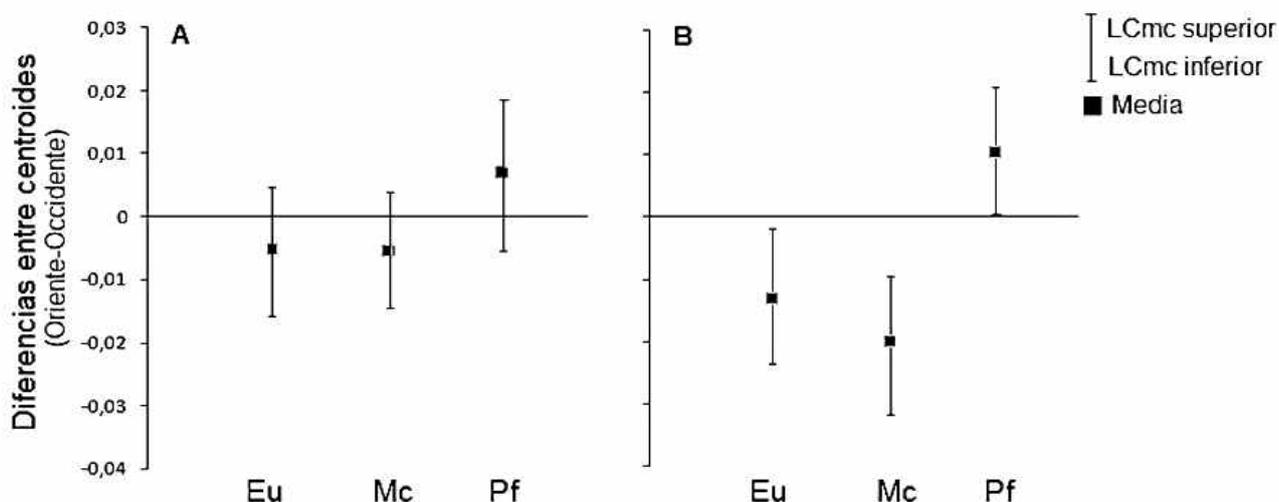


Figura 6. Diferencias en el grado de asimetría fluctuante entre poblaciones de las regiones occidental y oriental en 107 individuos de las especies de odonatos cubanos *Erythrodiplax umbrata* (Eu), *Macrothemis celeno* (Mc) y *Pantala flavescens* (Pf) según el tamaño del centroide. A: alas anteriores. B: alas posteriores.

Figure 6. Differences in the fluctuating asymmetry between western and eastern populations, using 107 individuals of three species of Cuban dragonflies *Erythrodiplax umbrata* (Eu), *Macrothemis celeno* (Mc) and *Pantala flavescens* (Pf) accord to centroid size. A: Fore wings. B: Posterior wings.

umbrata y *M. celeno* si presentaron diferencias entre occidente y oriente (Fig. 6 B).

El análisis de la asimetría, según la sumatoria de las distancias euclidianas, efectuado con el Permanova, arrojó diferencias estadísticas significativas entre las dos regiones estudiadas en las alas anteriores de *E. umbrata* ($p=0,030$), pero no en *M. celeno* ($p=0,225$) y *P. flavescens* ($p=0,536$). En las alas posteriores no se encontraron diferencias entre regiones en ninguna de las especies, *E. umbrata* ($p=0,489$), *M. celeno* ($p=0,69$) y *P. flavescens* ($p=0,631$).

DISCUSIÓN

El análisis de componentes principales mostró, en el primer par de alas, superposición en las nubes de puntos entre las especies *M. celeno* y *P. flavescens*, lo que sugiere que la forma de las alas anteriores de estas especies es más similar y diferente a la de *E. umbrata*. En el análisis por regiones se encontró también superposición entre los polígonos convexos de ambas regiones para una misma especie, lo que puede ser indicador de que para una misma especie no hay diferencias entre las regiones. Los valores mayores de autovectores en ambos componentes para las alas anteriores correspondieron a las coordenadas x de los puntos claves 10, 2, 6 y 1, lo que

indica que la mayor variación entre especies se debe al corrimiento de estos puntos a lo largo del ala. En las posteriores contribuyeron la coordenada x de los puntos clave 4, 2, 3 y 12 y las coordenadas x y y de los puntos claves 7 y 11. Esto sugiere que las principales diferencias entre especies en las alas posteriores están dadas, en primer lugar, por los cambios de posición tanto en sentido horizontal como vertical de los puntos claves de la gaza anal, y en segundo, por el corrimiento de estos puntos a lo largo del ala, como ocurre con las alas anteriores.

Por otra parte, se observaron también diferencias entre las alas anteriores y posteriores, tanto para las especies como para las regiones. Estas diferencias de forma pueden tener un origen embrionario. En el desarrollo de los odonatos, durante la extensión de la banda germinativa, ocurren varios procesos morfogenéticos. Uno de ellos es la formación de los discos imaginales, los cuales permanecen indiferenciados hasta el estadio de larva y son precursores de estructuras externas como patas, antenas o alas. Algunos autores como Klingenberg *et al.* (1998) plantean que los dos pares de alas en los insectos pueden ser considerados como modelos independientes pues estos se desarrollan de discos imaginales separados. Además, que las diferencias sistemáticas de las alas en ambos lados del cuerpo,

podrían estar basadas en diferencias en la identidad posicional entre los discos de las alas derechas e izquierdas.

Las rejillas de deformación correspondientes al análisis por especie, mostraron variación tanto en la región pre-nodal como la post-nodal en ambos pares de alas. Estos resultados coinciden en parte, con los de Sadeghi *et al.* (2009) quienes plantean que, al parecer, la mitad posterior del ala (desde el nodo hasta el ápice), desempeña un papel más importante que la anterior en la diferenciación de las especies. El análisis por regiones reveló una mayor variación pre-nodal, en correspondencia con lo encontrado por Klingenberg y McIntyre (1998). En ambos casos, la zona central del ala fue bastante homogénea. Estudios realizados por Hassall *et al.* (2008) en otras especies como *Coenagrion puella*, difieren de estos resultados, al encontrar estos autores que la mayor variación se concentraba en la zona central del ala, lo cual atribuyeron, a una elongación general de la sección post-nodal.

El tamaño del centroide, como medida de la asimetría entre individuos, mostró como resultado del análisis de Montecarlo significación estadística para la diferencia entre *E. umbrata* y *P. flavescens*. Kark *et al.* (2004) y Stewart y Vodopich (2013) plantean que, al comparar especies diferentes con un mismo rango de distribución, se espera que estas difieran en los patrones de estrés que experimentan, en dependencia de su fisiología, ambiente e historia de vida. Estos rasgos influyen directamente sobre el tamaño, variación y escala espacial del ambiente que ellas perciben, lo cual podría explicar las diferencias en el grado de asimetría encontrado. La sumatoria de las distancias euclidianas no mostró diferencias entre las alas derecha e izquierda y tampoco entre especies, por tanto, esta variable no presenta altos niveles de asimetría fluctuante, ni estos niveles varían entre las especies analizadas.

Algunos autores como Pither y Taylor (2000) han detectado en *Calopteryx maculata* diferencias entre localidades en el tamaño del centroide. De las especies analizadas, *E. umbrata* y *M. celeno* mostraron diferencias en los niveles de asimetría entre las regiones occidental y oriental, tanto en la prueba de Montecarlo (tamaño del centroide), como en el Permanova (distancias lineales entre los puntos claves), en el caso de *E. umbrata*. En otra especie del mismo género, *E. bromeliicola*, se han encontrado

diferencias entre poblaciones de oriente y occidente en el tamaño de las alas (Trapero-Quintana y Novelo-Gutiérrez, 2012). Hassall *et al.* (2008) demostraron que pueden ser halladas diferencias entre poblaciones, incluso, cuando son utilizadas solo una proporción relativamente pequeña de intersecciones de venas. Los autores plantean dos posibles explicaciones a estas variaciones. Una de ellas es debido a los colonizadores iniciales (efecto fundador), aunque para los odonatos debido a la complejidad del vuelo es difícil evaluar si los cambios de forma son ventajosos en la dispersión. La segunda hipótesis es debida a estrés térmico, el cual ha sido relacionado con el grado de asimetría fluctuante en varias especies de odonatos (Chang *et al.*, 2007).

Por otra parte, según Hoffman y Shirriffs (2002), existen patrones geográficos en la forma del ala, independientes del tamaño. No se conoce si estos patrones son el resultado de selección y/o migración entre poblaciones que tienen una historia natural inicial diferenciada. Datos mitocondriales pudieran revelar en las especies analizadas en el presente estudio si existe o no una historia evolutiva diferente.

Además de las irregularidades durante la diferenciación de los discos imaginales ya mencionadas, existen factores ambientales que provocan inestabilidad en el desarrollo ontogenético y afectan la simetría de los individuos (Willmore *et al.*, 2005; Tull y Brussard, 2007).

Los odonatos son insectos hemimetábolos, con estado larval (ninfas) acuático. Según Corbet (1999) la elevada diversidad morfológica y conductual de las larvas de Odonata, está relacionada con la gran variedad de microhábitats que presentan los ambientes acuáticos y la interacción entre variables bióticas y abióticas. Además, la calidad de estos puede influir en la simetría de la larva y del adulto. Las larvas de las tres especies analizadas han sido registradas por Trapero (2011) en tres hábitats dulceacuícolas diferentes: léntico permanente, léntico temporal y lótico, por lo que pueden considerarse generalistas. No obstante, el autor ha reportado diferencias en las abundancias de estas especies en cada uno de ellos, siendo *M. celeno* más abundante en el lótico y *P. flavescens* y *E. umbrata* en el léntico temporal. Este último, representado por lagos, charcas, pantanos, lagunas temporales y depósitos menores, presenta características

significativas de contaminación, fundamentalmente orgánica, respecto al lótico (ríos y arroyos). Además, son característicos los cambios de temperatura en este hábitat. Por esta razón pudieran atribuirse las diferencias encontradas en los niveles de asimetría fluctuante entre *E. umbrata* y *P. flavescens* a un desarrollo en un ecosistema con características similares.

La AF está relacionada con estrés químico causado por químicos de origen antropogénico como fertilizantes, químicos industriales, pesticidas, o sustancias naturales como depósitos de metales (Chang *et al.*, 2007). Algunos trabajos han reportado asociación entre la AF y los niveles de contaminantes (Bonn *et al.*, 1996) y resultados negativos como los mostrados por Dobrin y Corkum (1999) son raramente publicados debido al sesgo de publicación (Allchin, 1999). Por otra parte, la presencia de estrés durante la ontogenia pudiera afectar la normalidad de los procesos de desarrollo y ser reflejado en un incremento en la asimetría (Clarke, 1993). Esto daría lugar a que la AF sea mayor en los sitios de alto estrés que en los otros menos contaminados (Dobrin y Corkum, 1999).

En las larvas de los odonatos los cambios de temperaturas de óptimos a extremos pueden causar inestabilidad en el desarrollo. Se ha comprobado que temperaturas entre 25°C y 30°C son favorables para el desarrollo de estos insectos. Sin embargo, temperaturas de 35°C puede hacer que las larvas de peor calidad mueran y las de mejor calidad vivan y muestren más simetría. Estos efectos son significativos para algunos caracteres como longitud del fémur, longitud del cuerpo, de los segmentos II, III y IV de las antenas, o de la base del ala anterior. Además, existe correlación entre la AF en estos caracteres y la mortalidad (Chang *et al.*, 2007).

Los individuos con los cuales se realizó el presente estudio pertenecen a material de colecciones, por lo que se desconoce cuáles son las características del hábitat donde se desarrollaron y si estas se mantienen actualmente. Por esta razón, no puede ser corroborado que tales factores (contaminantes, cambios bruscos de temperatura), así como nutrientes, recursos de comida, parásitos, hayan influido en la asimetría encontrada.

No obstante, vale la pena analizar algunas de las posibles consecuencias que provoca la asimetría en los organismos que la presentan. Estudios de

selección sexual por asimetría fluctuante reportan que existe una correlación positiva entre los procesos de tándem precopulatorio y la simetría de rasgos simples; por lo tanto se interpreta que la hembra selecciona machos con mayor estabilidad en el desarrollo. Beck y Pruitt-Jones (2002), encontraron que la asimetría de las alas anteriores es un factor importante en el éxito de apareamiento del macho de la damisela *Calopteryx maculata*; ya que las hembras tienden a discriminar según las diferencias en la asimetría del ala. Esta asimetría altera la agilidad del vuelo y maniobrabilidad, elementos cruciales en la protección del territorio y ovoposición. De Block y Stoks (2007), encontraron que en machos de *Lestes viridis*, un nivel bajo de AF en las alas posteriores, unido a un tórax más musculoso, producen un mayor éxito en el tándem. Estos resultados están en conflicto con Jennions (1998) quien encontró que en el zigóptero *Platygypha caligata* el éxito de cortejo de machos territoriales está relacionado al tamaño del cuerpo y no a la asimetría fluctuante.

En general entre *M. celeno*, *E. umbrata* y *P. flavescens*, solo las dos últimas mostraron diferencias significativas en el grado medio de asimetría fluctuante, evaluado según el tamaño del centroide. Además, *E. umbrata* y *M. celeno* mostraron diferencias en las magnitudes de la asimetría entre las poblaciones de las regiones occidental y oriental de Cuba. La zona central del ala, en las tres especies analizadas, fue simétrica, concentrándose la mayor variación interespecífica en la región post-nodal. En el análisis de los niveles de asimetría entre poblaciones por región de Cuba, la mayor diferencia se concentró en la región pre-nodal del ala. La diferencias encontradas en los niveles de asimetría entre especies y entre regiones podrían ser causa de inestabilidad en el desarrollo, estrés ambiental y reflejarse directamente en procesos como la selección de la pareja, la agilidad del vuelo y la maniobrabilidad, por lo que describir esta característica en los odonatos cubanos podría complementar los estudios de ecología, biología reproductiva y conductuales realizados hasta la fecha.

REFERENCIAS

- Adams, D.C., F. J. Rohlf, y D.E. Slice. 2013. A field comes of age: Geometric morphometrics in the 21st century. *Hystrix, the Italian Journal of*

- Mammalogy* 24:7-14.
- Allchin, D. 1999. Negative results as positive knowledge, and zeroing in on significant problems. *Marine Ecology Progress Series* 191:301–309.
- Arambourou, H., J. Beisel, P. Branchu y V. Debat. 2012. Patterns of fluctuating asymmetry and shape variation in *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae) exposed to nonylphenol or lead. *PLoS ONE* 7(11):e48844. doi:10.1371/journal.pone.0048844.
- Baguña, J., I. Ruiz-Trillo, J. Paps y M. Riutort. 2002. Origen y evolución de los ejes corporales y la simetría bilateral en animales. Pp: 535-548. En: *Evolución: la base de la Biología* (Ed. M. Soler). Proyecto Sur de Ediciones, S.L.
- Beck, M. L. y S. Pruitt-Jones. 2002. Fluctuating asymmetry, sexual selection, and survivorship in male dark-winged damselflies. *Ethology* 108:779-791.
- Benítez, H. A. y L. E. Parra. 2012. Asimetría Fluctuante: Una herramienta morfo-funcional para medir estabilidad del desarrollo. *International Journal of Morphology* 29(4).
- Bonn, A., M. Gasse, J. Rolff y A. Martens. 1996. Increased fluctuating asymmetry in the damselfly *Coenagrion puella* is correlated with ectoparasitic water mites: implication for fluctuating asymmetry theory. *Oecologia* 108:596–598.
- Bookstein, F. L. 1991. *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. Cambridge Univ. Press, Nueva York. 435 pp.
- Bravi R y H. A. Benítez. 2013. Left-Right asymmetries and shape analysis on *Ceroglossus chilensis* (Coleoptera: Carabidae). *Acta Oecologica* 52:57-62
- Chang, X., B. Zhai, X. Liu y M. Wang. 2007. Effects of temperature stress and pesticide exposure on fluctuating asymmetry and mortality of *Copera annulata* (Selys) (Odonata: Zygoptera) larvae. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 67:120–127.
- Clarke, G. M. 1993. Fluctuating asymmetry of invertebrate populations as a biological indicator of environmental quality. *Environmental Pollution* 82:207–211.
- Corbet, P. S. 1999. *Dragonflies- Behavior and ecology of Odonata*. Comstock Publis hing Associates, Cornell University Press, Ithaca, New York. 829 pp.
- Cowart, N. M. y J. H. Graham. 1999. Within and among individual variation in fluctuating asymmetry of leaves in the fig (*Ficus carica* L.). *International Journal of Plant Sciences* 160 (1):116–121.
- De Block, M. y R. Stoks. 2007. Flight-related body morphology shapes mating success in a damselfly. *Animal Behaviour* 74:1093-1098.
- Dobrin, M. y L. D. Corkum. 1999. Can fluctuating asymmetry in adult burrowing mayflies (*Hexagenia rigida*, Ephemeroptera) be used as a measure of contaminant stress? *Journal of Great Lakes Research* 25(2):339-346.
- Dryden, I. L. y K. V. Mardia. 1998. *Statistical shape analysis*. Wiley, Nueva York, 347 pp.
- Hammer, Ø., Harper, D. A. T., y Ryan, P. D. 2001. PAST-Palaeontological statistics. www.uv.es/~pardomv/pe/2001_1/past/pastprog/past.
- 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.
- Hoffmann, A. A. y J. Shirriffs. 2002. Geographic variation for wing shape in *Drosophila serrata*. *Evolution* 56(5):1068–1073.
- Hood, G. M. 2010. PopTools version 3.2. URL <http://www.cse.csiro.au/poptools>.
- Hume, D. 2001. Environmental monitoring and fluctuating asymmetry. Study design. Doc Science Internal Series 4. Department of Conservation.
- Hunt, J. y L. W. Simmons. 1998. Patterns of fluctuating asymmetry in beetle horns: no evidence for reliable signaling. *Behavioral Ecology* 9(5):465-470.
- Jennions, M. D. 1998. Tibial coloration, fluctuating asymmetry and female choice behaviour in the damselfly *Platycypha caligata*. *Animal Behaviour* 55:1517–1528.
- Kark, S., L. Lens, S. Van Dongen y E. Schmidt. 2004. Asymmetry patterns across the distribution range: does the species matter? *Biological Journal of the Linnean Society* 81:313–324.
- Kiyoshi, T. y T. Hikida. 2012. Geographical Variation in the Wing Morphology of the Golden-ringed Dragonfly *Anotogaster sieboldii* (Selys, 1854)

- (Odonata, Cordulegastridae) Detected by Landmark-based Geometric Morphometrics. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science* 38(2):65–73.
- Klingenberg, C. P. 2009. Morphometric integration and modularity in configurations of landmarks: tools for evaluating a priori hypotheses. *Evolution and Development* 11(4):405–421.
- 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., G. S. McIntyre y S. D. Zaklan. 1998. Left-right asymmetry of fly wings and the evolution of body axes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 265:1255–1259.
- Klingenberg, C. P., M. Barluenga y A. Meyer. 2002. Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. *Evolution* 56(10):1909–1920.
- Palmer, A. R. 1994. Fluctuating asymmetric analysis: A primer. Pp: 335–364. En: *Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications* (Ed. T. A. Markow). Kluwer, Dordrecht, Netherlands.
- Pither, J. y P. D. Taylor. 2000. Directional and fluctuating asymmetry in the black-winged damselfly *Calopteryx maculata* (Beauvois) (Odonata: Calopterygidae). *Canadian Journal of Zoology* 78:1740–1748.
- Ramos, J. M. 2002. Notes on the feeding of three species of odonates of the suborder Zygoptera in Central Cuba. *Argia* 13(4):13–14.
- Rohlf, F. J. 2001. TPSDig2: a program for landmark development and analysis. <http://life.bio.sunysb.edu/morph>.
- Sadeghi, S., Adriaens, D. y Dumont, H. J. 2009. Geometric morphometric analysis of wing shape variation in ten European populations of *Calopteryx splendens* (Harris, 1782) (Zygoptera: Odonata). *Odonatologica* 38(4):343–360.
- 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.
- Statsoft, S. 2007. 2300 East 14 th St. Tulsa, OK, 74104.
- Stewart, S. S. y D.S. Vodopich. 2013. Variation in fluctuating asymmetry among nine damselfly species. *International Journal of Odonatology* 16 (1):67–77.