



UNIVERSIDAD METROPOLITANA DE CIENCIAS DE LA
EDUCACION
FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

Utilización del estudio morfo-geométrico para
comparar especies de escarabajos del género
Ceroglossus (Solier, 1848)

Memoria de título para optar al grado de Licenciada/o en Educación en Biología
y Pedagogía en Biología mención en Ciencias Naturales

Autor(es)

Marcelo Omar Sánchez Rojas
Álvaro Manuel Venegas Leyton

Académico guía

Dr. Carlos Muñoz Ramírez

Santiago de Chile, diciembre de 2023



UNIVERSIDAD METROPOLITANA DE CIENCIAS DE LA
EDUCACION
FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

Utilización del estudio morfo-geométrico para
comparar especies de escarabajos del género
Ceroglossus (Solier, 1848)

Memoria de título para optar al grado de Licenciada/o en Educación en Biología
y Pedagogía en Biología mención en Ciencias Naturales

Autor(es)

Marcelo Omar Sánchez Rojas
Álvaro Manuel Venegas Leyton

Académico guía

Dr. Carlos Muñoz Ramírez

Santiago de Chile, diciembre de 2023

Dedicatoria

Del autor Marcelo Omar Sánchez Rojas

Dedico este trabajo a los pilares fundamentales de mi vida:

A mi madre Marcela Rojas, quien me dio la vida y me brindó mucho amor...

A mi abuela Magdalena, quien participó en mi crianza y me dio un hogar...

A mi tía Guísela, gracias a quien fui capaz de seguir estudiando...

A mi querida Catalina, porque sin tu amor me habría costado mucho más...

A mi difunto abuelo, Miguel, porque me diste todo el amor que mi papá nunca me brindó...

A quienes fueron, son y serán mis amistades...

Y a mis mascotas, Mona, Olivia y Kenai, por su peluda compañía.

Del autor Álvaro Manuel Venegas Leyton

Dedico el presente trabajo a:

Mis padres Jessica Leyton Peñaloza y Carlos Venegas Martínez, que sin su guía y acompañamiento probablemente no haya podido cumplir mis metas.

Mis abuelos, que en muchas ocasiones se preocupaban por mi estado en la carrera y me dieron espacio en sus hogares.

A Valentina, quien siempre me ha apoyado y me animo tanto en la realización de este trabajo cómo a lo largo de toda la carrera.

A mi gata Chloe, que siempre logra hacerme reír cuando intento concentrarme.

A mis amigos, los cuales siempre puedo contar con ellos.

Por último, me gustaría hacer una especial dedicatoria a las personas importantes en mi vida que desafortunadamente ya no se encuentran conmigo:

Mi difunta abuela Lela, quien siempre fue amorosa y tuvo buena disposición conmigo.

La señora Berta, abuela de mi pareja, quien, a pesar de no compartir lazos de sangre, siempre fue muy cercana a mí, siempre interesada en mi estado en la universidad y en escuchar sobre mis gustos.

Agradecimientos

A mi tutor, el Dr. Carlos Muñoz Ramírez; por guiarnos en varios de los aspectos disciplinares que sostienen este trabajo, así como por brindarnos la oportunidad de trabajar en un tema tan apasionante y complejo.

A mi compañero de tesis y amigo, Álvaro Venegas, quien, desde su conocimiento sobre insectos y habilidades científicas, fue capaz de lograr importantes avances en este trabajo.

- Marcelo Sánchez

A mi amigo Marcelo Sánchez, quien, además de ser compañero de tesis, también tuvo que aguantar mi orden obsesivo en formato en otros trabajos a lo largo de la carrera.

- Álvaro Venegas

Al Dr. Hugo Benítez, quien, sin saberlo, nos dio la oportunidad de adentrarnos en la metodología utilizada en esta tesis, la morfometría geométrica. Muchísimas gracias por difundir el acceso al conocimiento.

A la directora del Departamento de Biología, la Dra. María Catalina Sabando, por el compromiso con los estudiantes de la carrera. También a los/las profesores de la carrera, por su compromiso con la trayectoria educativa de quienes fueron, son y serán docentes de Biología y/o Ciencias.

Finalmente, agradecemos a la comunidad UMCE/Pedagógico; con especial énfasis al estudiantado, que no deja de luchar por mejores condiciones en la educación.

- Marcelo Sánchez y Álvaro Venegas

Tabla de contenidos

DEDICATORIA	II
DEL AUTOR MARCELO OMAR SÁNCHEZ ROJAS.....	II
DEL AUTOR ÁLVARO MANUEL VENEGAS LEYTON.....	III
RESUMEN	VII
INTRODUCCIÓN	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DE INVESTIGACIÓN	2
PROBLEMÁTICA EN LA DELIMITACIÓN DE TAXAS.....	2
MÉTODOS Y CARACTERES DISPONIBLES PARA LA DELIMITACIÓN E IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES.....	3
<i>Morfometría geométrica como posible solución</i>	4
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN Y OBJETIVOS	5
OBJETIVO GENERAL.....	5
<i>Objetivos específicos</i>	5
MARCO TEÓRICO	6
ORDEN COLEOPTERA (LINNAEUS, 1758).....	6
<i>Estructura general externa de coleóptera</i>	8
Cabeza.....	8
Estructura bucal.....	9
Antenas.....	9
Ojos y ocelos.....	10
Tórax.....	10
Protórax.....	11
Pterotórax.....	11
Élitros.....	11
Patas.....	12
Abdomen.....	12
SUBORDEN ADEPHAGA.....	13
<i>Morfología de Adepaga</i>	13
FAMILIA CARABIDAE.....	14
<i>Morfología de Carabidae</i>	14
<i>Glándulas en Carabidae</i>	14
GÉNERO CEROGLOSSUS (SOLIER, 1848).....	15
<i>Diversidad de especies en Ceroglossus</i>	15
<i>Morfología de Ceroglossus</i>	16
<i>Identificación de especies</i>	18
Carenas en antenómeros para la identificación de especies en Ceroglossus.....	18
Diferenciación morfológica para identificación de especies en Ceroglossus.....	19
Observaciones etológicas.....	19
<i>Hábitat, diversidad y ecología de Ceroglossus en Chile</i>	20
<i>El posible Mimetismo Mülleri en Ceroglossus</i>	¡Error! Marcador no definido.
HISTORIA EVOLUTIVA DEL GÉNERO CEROGLOSSUS.....	23
<i>Origen de los primeros clados de Ceroglossus</i>	24
<i>Mutaciones cromosómicas en Ceroglossus</i>	25
MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA.....	27
<i>Forma y tamaño</i>	27

<i>Coordenadas de forma y espacio de variación</i>	28
<i>Posicionamiento de Landmarks</i>	28
<i>Obtención de variables de forma</i>	29
Análisis de Procrustes	29
Matriz de covarianza y Análisis de Componentes Principales (PCA).....	30
<i>Análisis estadístico</i>	30
Procrustes ANOVA	30
Análisis de variables canónicas	31
<i>Interfaz gráfica</i>	31
Grillas de deformación.....	31
Gráfico de componentes principales y elipses	31
INVESTIGACIONES CON MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA EN EL GÉNERO <i>CEROGLOSSUS</i>	31
<i>Landmarks</i>	¡Error! Marcador no definido.
CONCEPTUALIZACIÓN FILOGENÉTICA	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
<i>análisis filogenéticos</i>	¡Error! Marcador no definido.
<i>árboles filogenéticos</i>	¡Error! Marcador no definido.
<i>Métodos para la construcción de árboles filogenéticos</i>	34
máxima Parsimonia.....	34
técnicas paramétricas.	34
modelos de cambio evolutivo.	35
máxima Verosimilitud.....	37
inferencia Bayesiana.....	38
USO DE CARACTERES DE FORMA EN ESTUDIOS EVOLUTIVOS	38
MARCO METODOLÓGICO	39
DISEÑO GENERAL DE INVESTIGACIÓN.	39
<i>Identificación de sexo</i>	40
<i>Código de identificación</i>	40
<i>Secuencias utilizadas y alineamiento del gen COI</i>	41
<i>Definición de la muestra de individuos</i>	41
Definición de la muestra para morfometría geométrica.	47
Definición de la muestra para árbol filogenético.	48
METODOLOGÍA CONSTRUCCIÓN DE ÁRBOL FILOGENÉTICO.	52
<i>Determinación de modelo de sustitución de nucleótidos</i>	53
<i>construcción del árbol filogenético</i>	54
RESULTADOS	55
MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA	55
<i>Procrustes ANOVA</i>	55
<i>Análisis de componentes principales</i>	56
PCA hembras	56
<i>Ceroglossus buqueti</i>	56
<i>Ceroglossus chilensis</i>	57
<i>Ceroglossus magellanicus</i>	57
<i>Ceroglossus darwini</i>	57
Variación por PC	59
PCA machos.....	61
<i>Ceroglossus buqueti</i>	61
<i>Ceroglossus chilensis</i>	61
<i>Ceroglossus magellanicus</i>	61
<i>Ceroglossus darwini</i>	62
Variación por PC en machos.....	62
<i>Análisis de variables canónicas</i>	64

ANÁLISIS FILOGENÉTICO	68
DISCUSIÓN.....	71
LIMITACIONES DE LAS MUESTRAS UTILIZADAS	71
ANÁLISIS MORFO-GEOMÉTRICO REALIZADO.....	72
<i>Caracteres utilizados</i>	72
<i>Posibles diferencias de forma en las especies estudiadas</i>	72
<i>Utilización del análisis de variables canónicas</i>	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
ANÁLISIS FILOGENÉTICO REALIZADO	72
<i>Limitaciones de la metodología realizada</i>	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
CONCLUSIONES	72
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73

Resumen

Los peorros son unos coloridos escarabajos terrestres del género *Ceroglossus* (Solier), comprenden actualmente 10 especies descritas, así como con variadas subespecies descritas a lo largo de más de un siglo. Debido a la convergencia simpátrica que presentan, y la influencia de la localidad en su fenotipo, resulta complejo determinar la posición filogenética entre especies dentro de un grupo, su clasificación a nivel de especie, y la identificación de especies de hembras. Actualmente, la clasificación de especies dentro del género y sus relaciones filogenéticas dependen de contados estudios filogenéticos, y el histórico análisis morfológico tradicional. Considerando lo anterior, surge una necesidad de disponer de más métodos y caracteres para estudios sistemáticos en *Ceroglossus*. El propósito de este trabajo es evaluar a la morfometría geométrica como alternativa para lidiar con tal necesidad, utilizándola para

comparar a las especies *C. buqueti* (Laporte, 1834), *C. chilensis* (Eschscholtz, 1829), *C. darwini* (Hope, 1837), y *C. magellanicus* (Gehin, 1885)

Palabras clave: Coleóptero, Adephaga, Ceroglossus, peorro, morfogeométrico, morfológico, landmarks, filogenia, Procrustes, Procrustes ANOVA, PCA, VCA.

Introducción

El género *Ceroglossus* (Solier), de nombre común “peorro” debido a su capacidad de expulsar un líquido de olor desagradable por el ano ante amenazas a modo de defensa, es el único género representante de la tribu *Ceroglossini* de la subfamilia *Carabinae* (Toussaint et al., 2021). Son nativos del extremo sur del continente americano, pudiendo encontrarse en bosques templados, y húmedos, normalmente por la noche (Jiroux, 2006). Se diferencian del resto de géneros de carábidos principalmente por la presencia de los antenómeros (o artejos) II y III cilíndricos (Martínez, 2005) siendo el segundo antenómero fuertemente acortado y el tercero más alargado (Jiroux, 2006), como también por presentar variados patrones de coloración (Jiroux, 2006). Esta última característica presenta un amplio rango de polimorfismo dentro de cada una de las especies, característica que se encuentra relacionada a factores ecológicos y/o ambientales, no siendo representativa para identificar sus diferentes grupos (López-López, et al. 2021).

A diferencia de otros grupos de carábidos como *Calosoma* (Weber, 1801) o *Carabus* (Linneaus, 1758), *Ceroglossus* no presenta demasiadas especies a pesar de que su divergencia evolutiva fue más temprana (Toussaint et al, 2021). Este género posee actualmente 10 especies descritas: *C. buqueti* (Laporte, 1834), *C. chilensis* (Eschscholtz, 1829), *C. suturalis* (Fabricius, 1775). *C. morpheus* (Rataj, 2011), *C. ochsenii* (Germain, 1895) *C. guerini* (Germain, 1895), *C. darwini* (Hope, 1837), *C. archoides* (Rataj & Godeau, 2010), *C. speciosus* (Gerstaecker, 1858) y *C. magellanicus* (Gehin, 1885) (Okamoto et al., 2001; Muñoz-Ramírez, 2015; López-López et al., 2021). Con el fin de transparentar el uso de las denominaciones, es necesario mencionar que partir de la agrupación basada en caracteres morfológicos de Jiroux (1996), así como los trabajos filogenéticos de Okamoto et al. (2001), Muñoz-Ramírez (2015) y López-López et al. (2021), en este trabajo también se hará uso de la denominación de los 5 grupos monofiléticos de especies dentro del género: Grupo *C. chilensis*, Grupo *C. Suturalis*, Grupo *C. Buqueti*, Grupo *C. Darwini* y Grupo *C. Magellanicus*. Si bien esta denominación no es taxonómica, esta permite brindar mayor claridad a nivel filogenético, debido a la cercanía entre especies dentro de cada grupo.



Planteamiento del problema y justificación de investigación

Problemática en la delimitación de taxas

A partir de la revisión de literatura, una problemática emergente en *Ceroglossus* es la delimitación de taxas. En Muñoz-Ramírez (2015), especímenes identificados como *C. guerini* y *C. ochsenii* (Grupo C. Suturalis), no forman grupos monofiléticos recíprocos, planteándose la posibilidad de que sea una divergencia evolutiva muy temprana, como también de un flujo genético reciente, y sugiere reevaluar su clasificación como potenciales especies separadas. En López-López et al. (2021), los resultados obtenidos en la construcción de árboles filogenéticos del género (con genes ITS1 y COI mitocondriales) difieren en la delimitación de taxa con la utilización de caracteres morfológicos, pues posicionan a *Ceroglossus morpheus*, *Ceroglossus guerini* y *Ceroglossus ochsenii*, como subespecies de *Ceroglossus suturalis*, así como a *Ceroglossus archoides* y *Ceroglossus speciosus*, como subespecies de *Ceroglossus darwini*. El trabajo de Okamoto et al. (2001) evidencia patrones de coloración que convergen en simpatría, además, menciona que los representantes del género parecen “evolucionar silenciosamente”, ya que la gran variedad cromática del género es diferente a su variedad morfológica (la cual es reducida y difícilmente apreciable). Muñoz-Ramírez et al. (2016), obtiene evidencia adicional de la convergencia simpátrica en los patrones de coloración (aunque esta vez bajo la hipótesis de mimetismo mülleriano), donde los resultados obtenidos indican desviación de una distribución aleatoria.

Tanto en López-López et al. (2021) como en Muñoz-Ramírez et al. (2016), se coincide con la idea de elegir los caracteres discriminatorios de manera cuidadosa en *Ceroglossus*, pues la alta variabilidad fenotípica es más dependiente de la localidad que del linaje filogenético.

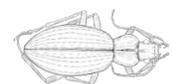


Métodos y caracteres disponibles para la delimitación e identificación taxonómica de especímenes

Los trabajos para la clasificación e identificación de individuos del género *Ceroglossus* utilizan métodos filogenéticos, ya sea con caracteres morfológicos homólogos, como también caracteres moleculares. La clave entomológica elaborada por Jiroux (2006) utiliza caracteres morfológicos, tales como la presencia, forma y ubicación de carenas entre los antenmeros (V, VI, VII y VIII) de los machos, así como dimensiones (tamaño, largo, ancho, caracteres dicotómicos) del abdomen, élitros, tórax y patas; esto permitió clasificar a todas las especies y subespecies del género, y actualmente es la única clave de identificación que existe en este género. Otra forma de clasificación e identificación utiliza el análisis de forma y curvatura del órgano copulador de los machos llamado edeago (Jiroux, 2006). Dentro de las herramientas moleculares, se pueden construir árboles filogenéticos de genes mitocondriales (como COI e ITS1), así como redes de haplotipos basadas en polimorfismos genéticos. Dentro de los estudios filogenéticos con genes, se encuentran los hechos por Okamoto et al. (2001), Muñoz-Ramírez (2016) y López-López et al (2021), donde en este último se realizan redes de haplotipos.

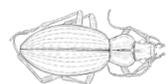
Si bien las clasificaciones y descripciones realizadas por Jiroux (2006) en general son válidas, lo cierto es que la clave entomológica proporcionada en el mismo trabajo no es del todo clara. Por ejemplo, dentro de esa clave, realiza una descripción general de la especie *Ceroglossus chilensis*, donde le describe primeramente como grande en tamaño (de 22 a 30cm), y luego a partir de adjetivos de forma, pero sin cuantificarlos (Jiroux, 2006, p. 37). Si bien utiliza variados caracteres, son principalmente las quillas de las antenas los que permiten diferenciar de manera menos ambigua una especie de otra. Incluso, si llegaran a utilizarse medidas cuantitativas morfométricas como ángulos o líneas, esto también limita su estudio.

En el trabajo filogenético de López-López et al. (2021) recomienda que las clasificaciones e identificaciones de taxa se hagan con la mayor cantidad de caracteres posible. Una forma de integrar tal afirmación puede ser integrar el análisis basado en morfología con el análisis filogenético. Esto permite validar la necesidad de evaluar el uso de nuevas estrategias que permitan dar cuenta de caracteres con valor filogenético en las especies del género *Ceroglossus*, sin recurrir a estructuras exclusivas de un sexo u otro. En este contexto, el uso de análisis morfogeométrico puede postularse como una posible solución.



Morfometría geométrica como posible solución

La morfometría geométrica es una técnica que permite el estudio cuantitativo multivariado de la forma, al evaluar las propiedades geométricas que resultan tras eliminar el efecto del tamaño, la traslación y rotación de objetos (Benitez & Püschel, 2014). Esta metodología se diferencia de la morfometría tradicional al no utilizar medidas lineales basadas en ángulos para el estudio morfológico, sino que variaciones locales de hitos punteados en estructuras de interés (que de aquí en adelante llamaremos landmarks) (Benitez & Püschel, 2014). Pueden ser utilizadas en animales para comparar la morfología en base a figuras geométricas entre distintas especies, entre sexos u otras unidades taxonómicas operativas, siempre y cuando se utilicen landmarks en puntos esenciales del animal y éstos se repitan en el mismo orden en todos los individuos (Zelditch et al, 2004). La idea de la utilización de este tipo de análisis se valida en su uso dentro de la biología y otras ciencias, existiendo líneas de investigación completas que se especializan en ella para distintos fines; los cuales tienen valor en el estudio taxonómico, evolutivo, ecológico, médico e incluso antropológico (Benitez & Püschel, 2014).



Pregunta de investigación y objetivos

A partir de las problemáticas y necesidades propuestas en la investigación taxonómica y evolutiva de *Ceroglossus*, así como la posible alternativa del uso de morfometría geométrica, surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Qué aspectos del análisis morfo-geométrico pueden evidenciar respecto a las relaciones filogenéticas y/o permitir la identificación en especies del género *Ceroglossus* en Chile?

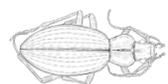
Objetivo general

Considerando las ventajas metodológicas que proporciona el análisis por morfometría geométrica y la necesidad de disponer de nuevas alternativas para el estudio taxonómico y evolutivo de *Ceroglossus*, se propone el siguiente objetivo general:

Evaluar el uso de análisis de morfometría geométrica en la delimitación filogenética de las especies *Ceroglossus chilensis*, *Ceroglossus buqueti*, *Ceroglossus darwini* y *Ceroglossus magellanicus*

Objetivos específicos.

1. Analizar la forma geométrica de imágenes en vista ventral de machos y hembras de las especies estudiadas mediante la determinación de landmarks ubicados anatómicamente y la utilización de software de análisis morfo-geométrico.
2. Realizar un análisis filogenético complementario a partir de la construcción de un árbol filogenético, con el uso de datos de genes *COI* para las especies *Ceroglossus chilensis*, *Ceroglossus buqueti*, *Ceroglossus darwini* y *Ceroglossus magellanicus* para referenciar la separación taxonómica de cada individuo.
3. Comparar y relacionar el análisis filogenético y morfo-geométrico realizado para las especies *Ceroglossus buqueti*, *Ceroglossus chilensis*, *Ceroglossus darwini* y *Ceroglossus magellanicus*, a partir de un análisis descriptivo de los resultados.

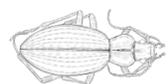
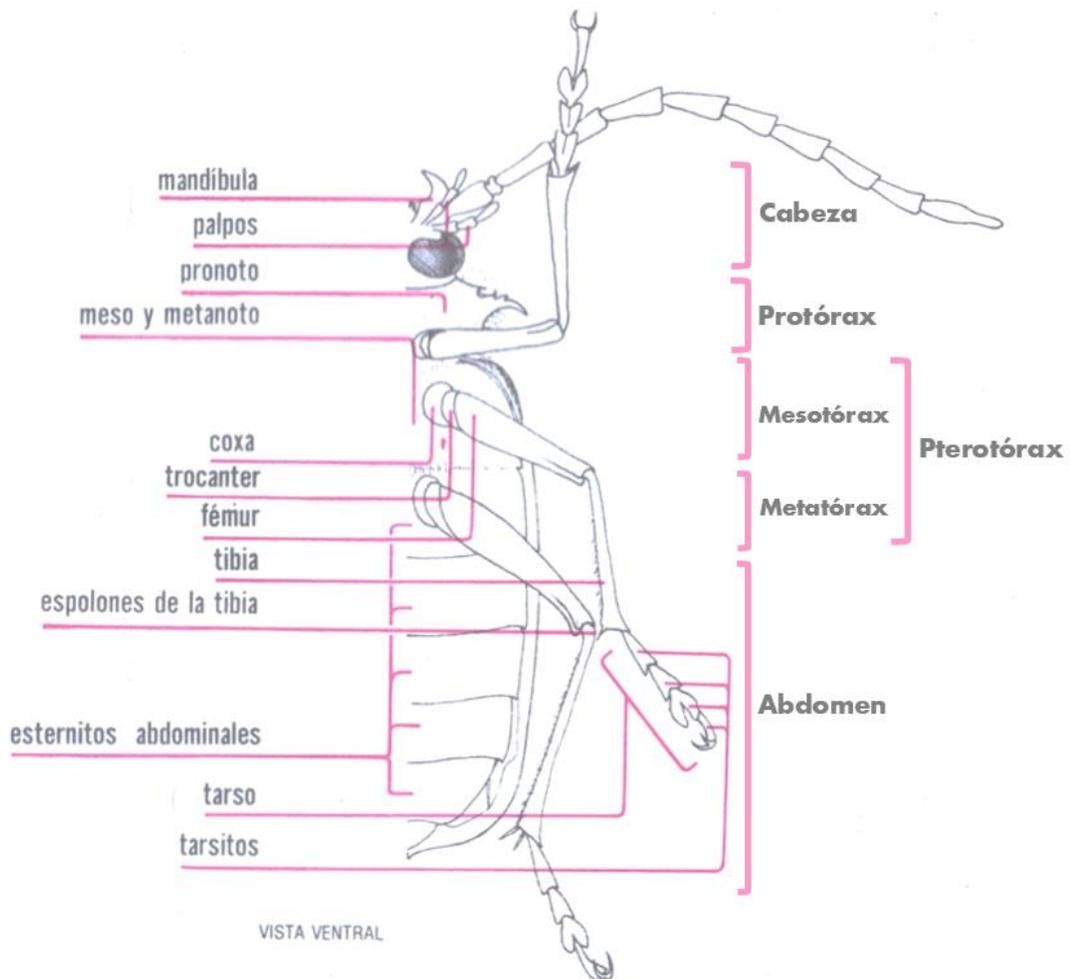


Marco teórico

Orden Coleoptera (Linneaus, 1758)

Los coleópteros (Coleoptera), comúnmente llamados escarabajos, son un orden dentro del grupo monofilético Insecta, el grupo más exitoso y con más especies de todo el phylum Arthropoda, el grupo más diversificado del reino Animalia (Rodrigues, Arece, Olivares, & Roque, 2019). Los insectos poseen 39 órdenes, entre ellos destacan los famosos *himenópteros* (Hymenoptera), orden donde se encuentran las hormigas (familia Formicidae), avispas (Familia Vespidae) y abejas (Familia Apidae). También destaca el orden Blattodea, que incluye a las cucarachas. Sin embargo, el orden que más destaca entre todos los grupos son los coleópteros, siendo el linaje más numeroso, con cerca de 392.415 taxa descritos, un tercio de todas las especies de Insecta (Zhang, 2013). Debido a sus características y diversas modificaciones físicas, son de los grupos más diversos en el reino Animal, habiendo coleópteros prácticamente en todos los rincones del mundo ocupando diferentes ecosistemas.

A



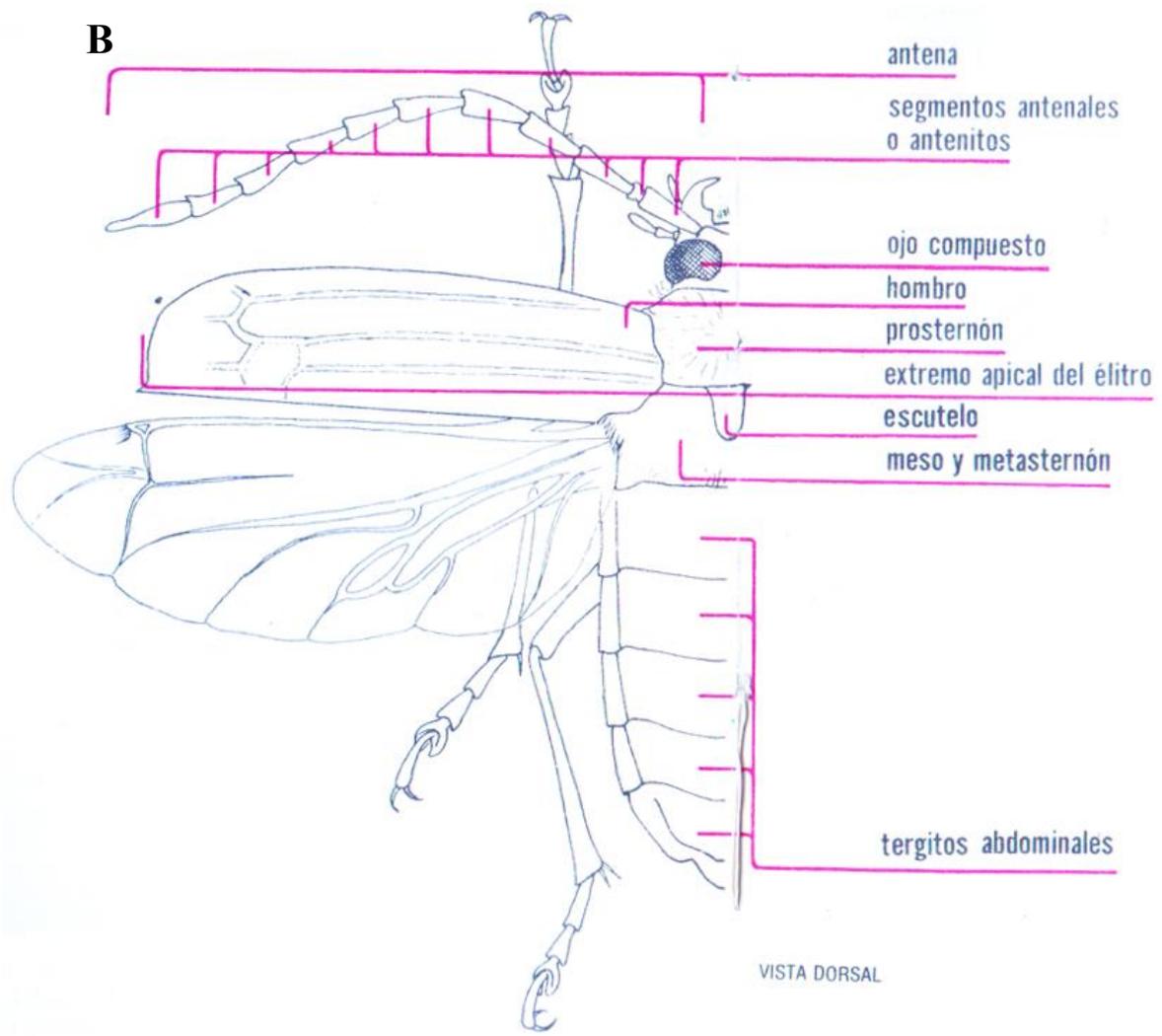
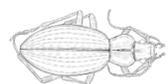


Figura n°1: Morfología general de coleoptera en vista ventral (A) y dorsal (B) integrando sus partes principales; cabeza, tórax y abdomen. Figura obtenida de Peña, L. (1975).



Morfología externa de coleóptera.

Los coleópteros (Coleoptera, del griego, *koleos* y *pteron*, “alas envainadas”) reciben su nombre debido a su principal característica, un par de alas meso-torácicas esclerosadas llamadas élitros, que sirven como una funda o estuche para sus alas membranosas (Bar, 2010). La mayoría de los coleópteros tienen una fuerte esclerotización corporal con reducción generalizada de áreas membranosas expuestas. Anatómicamente, los coleópteros poseen generalmente tres partes (o tagmas): cabeza, tórax y abdomen (Zarazaga, 2015).

Cabeza.

La cabeza en la mayoría de los coleópteros es prognata, es decir, con la estructura bucal apuntando hacia delante, siguiendo el eje longitudinal del cuerpo (De La Cruz, 2006), aunque también existen especies de coleoptera con cabeza opistognata e hipognatas/ortognatas (Figura n°2, B y C) (Zarazaga, 2015). La Figura n°2 C, presenta un modelo de cabeza prognata en Coleoptera. Generalmente, la cabeza del tipo prognata se le atribuye una alimentación carnívora (Moreno & López, 2017).

Según Bar (2010), la cápsula cefálica puede estar completamente libre (Familia Carabidae), estar parcialmente cubierta por el protórax (como en las familias Chrysomelidae y Elateridae), o estar totalmente cubierta por el protórax (Familia Lampyridae).

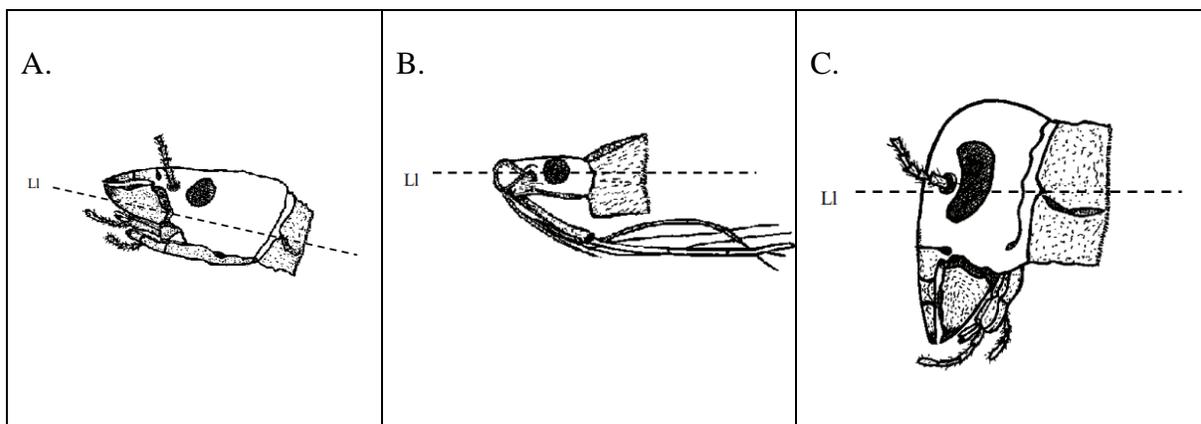
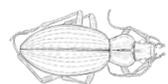


Figura n°2: Modelos de cabezas en Hexapoda. A. Cabeza tipo prognata; B. Cabeza del tipo opistognata; C. Cabeza tipo hipognata/ortognata. Figura obtenida del autor De La Cruz, J. (2006).



Estructura bucal.

La estructura bucal de Coleoptera es de tipo masticador (o mordedor), tanto en forma larval como adulta. La estructura básica del tipo masticador está formada por clipeo-labro, un par de mandíbulas, un par de maxilas con palpo maxilar cada una, labio con un par de palpos labiales (Figura n°3 A, B y C). Numerosas familias cuentan con diferentes modificaciones de su estructura bucal (específicamente, la mandíbula). Algunos poseen grandes mandíbulas modificadas destinadas a la defensa (Familia Lucanidae) otros poseen mandíbulas alargadas adaptadas para la depredación (Familia Carabidae), en su mayoría son arqueadas en su borde interno y poseen bordes filosos o dentados (Bar, 2010).

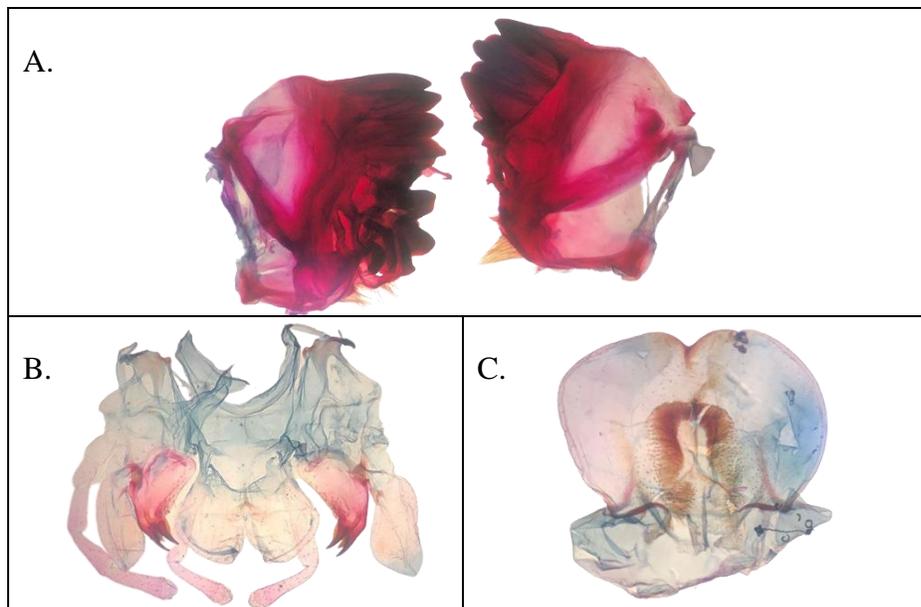


Figura n°3: Estructura bucal básica de tipo mordedor. A. Par de mandíbulas, B. Labio y par de maxilas, C. Clipeo-labro. Las imágenes corresponden a un insecto del orden Orthoptera; *Trimerotropis atacamensis* (Philippi, 1860). Figura de Elaboración propia.

Antenas.

El par de antenas de los escarabajos poseen un máximo de 11 artejos cada una (Zarazaga, 2015), siendo muy variables en longitud, pudiendo presentar antenas cortas (familia Hydrophilidae) o largas (familia Cerambycidae). Las formas de las antenas de coleópteros también pueden ser muy variables (figura n°4), pudiendo ser filiformes, moniliformes, aserradas, pectinadas, flabeladas, engrosadas o mazudas (Zarazaga, 2015)



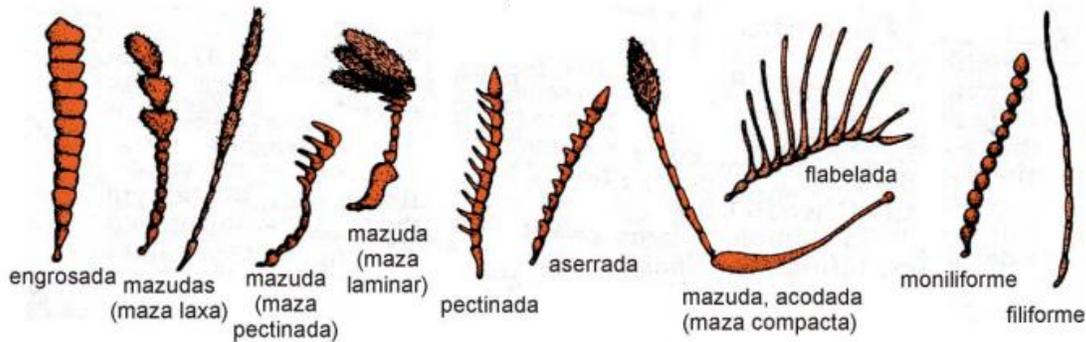


Figura n°4. Variaciones morfológicas de antenas en coleóptera. Figura obtenida de Zarazaga, M.A., (2015).

Ojos y ocelos.

Los coleópteros tienen como principal órgano fotorreceptor un par de ojos compuestos redondos, convexos y ovalados, dispuestos a cada lado de la cabeza (Lozano, 2005), se les suele llamar “compuestos” al estar formados de numerosos lentes u “ommatidias”, estructuras formadas principalmente por células fotorreceptoras (Torralba & Perez, 1997). Los ojos en coleoptera son de formas y tamaños variados, pueden ser saltones, reducidos (como en algunos Tenebrionidae), ausentes, prevalentemente en aquellas especies subterráneas, cavernícolas o ectoparásitos (Bar, 2010), en forma de riñón (como en Cerambycidae), o estar divididos, comúnmente presente en especies acuáticas (como en Gyrinidae), donde los ojos divididos en una parte dorsal y otra parte ventral les permiten tener visión tanto a nivel superficial como bajo el agua.

Otro órgano foto-receptor presente en algunos coleópteros son los ocelos, llamados comúnmente “ojos simples” al poseer únicamente una ommatidia o lente (en contraposición a los ojos compuestos formados por numerosas ommatidias). Solo algunos géneros de las familias Juronidae, Hydraenidae, Staphylinidae, Derodontidae y Dermestidae posee ocelos (Zarazaga, 2015).

Tórax.

El tórax en coleóptera está dividido en protórax y pterotórax (figura n°1, A), por lo general puede observarse únicamente el protórax a simple vista, ya que el pterotórax (junto al abdomen) se encuentran frecuentemente cubiertos bajo los élitros (Zarazaga, 2015).



Protórax.

El protórax es la zona del tórax más próxima a la cabeza (figura n°1, A). Está formada por una placa dorsal llamada pronoto y una placa ventral llamada prosterno, ambas altamente esclerotizadas. Las partes laterales del pronoto suelen invadir la región ventral, donde pasa a llamarse hipómero. El hipómero está separado del pleurón (placa lateral esclerosada del protórax) por la sutura notopleural, a la vez, el pleurón está separado del prosterno por la sutura pleuroesternal (figura n°5) (Solervicens, 2014). En el protórax puede encontrarse el par de patas delanteras (patas pro-torácicas) unidas al protórax mediante una estructura llamada pro-coxa. (Zarazaga, 2015)

Pterotórax.

El Pterotórax se encuentra escondido bajo los élitros. Pueden diferenciarse dos zonas: mesotórax y metatórax (figura n°1, A), también llamados meso-esternón y meta-esternón desde una vista ventral, y mesonoto y meta-noto desde una vista dorsal respectivamente (Peña, 1975). La zona meso-torácica es donde se encuentran el escudete, los élitros y las alas desde una vista dorsal y el par de patas medias (patas meso-torácicas) desde una vista ventral, unidas al pterotórax mediante una estructura llamada meso-coxa. La zona meta-torácica es la más próxima al abdomen, y es donde se encuentra el par posterior de patas (patas meta-torácicas), unidas al pterotórax mediante las meta-coxas (Zarazaga, 2015)

Élitros.

Los élitros se encuentran en la zona meso-torácica del pterotórax (figura n°1, B). Esta estructura está altamente esclerosada y cubre las alas membranosas de los escarabajos a modo de estuche o vaina. Puede poseer distintas formas y tamaños, pudiendo cubrir completamente las alas, siendo este el caso de la gran mayoría de coleópteros; cubrir parte de ellas, cómo en la familia Lymexilidae, donde los élitros son muy cortos y dejan al descubierto unas largas alas membranosas que cubren el cuerpo (Peña, 1975); o estar soldados por los bordes internos, haciendo al insecto incapaz de volar (como en Tenebrionidae) (Bar, 2010).



Patas.

Como todos los insectos, los coleópteros poseen 6 patas compuestas en 5 partes: Coxa, trocánter, fémur, tibia, tarso (compuesta por al menos 4 tarsitos) y uña (figura n°1, A). Las patas se encuentran distribuidas en el tórax ventral del insecto, pueden estar adaptadas para cavar (Scarabaeidae), correr (Carabidae) o incluso nadar (Dytiscidae, Hydrophilidae y Grynidae) (Bar, 2010).

Abdomen.

El abdomen en escarabajos, al igual que el pterotórax, se encuentra escondido y protegido bajo las alas membranosas y los élitros del insecto. El abdomen está segmentado en 10 tergos, sin embargo, solo son visibles 5 a 7 de los mismos tanto ventral como dorsalmente. Comúnmente, los tergos III a VII u VIII son visibles, el segmento I en coleóptera está ausente y los segmentos VIII y IX están invaginados formando terminalia (Zarazaga, 2015). Aquellos segmentos de la zona ventral del insecto se les conoce como esternitos y están fuertemente esclerosados, mientras que los segmentos de la zona dorsal, llamados tergitos son membranosos. En aquellos coleópteros que no poseen cobertura del abdomen de sus élitros, poseen los tergitos tan esclerosados como los esternitos. (Bar, 2010).

Es en el abdomen donde se encuentran los aparatos genitales masculinos y femeninos, específicamente en los segmentos invaginados conocidos como terminalia y el segmento X. En machos, el orificio genital se encuentra entre el IX y X esternito, mientras que en hembras se encuentra en el esternito IX (Bar, 2010) debido a la invaginación de los esternitos VIII y IX puede ser complicado identificar el sexo de una especie.

Cabe mencionar que el abdomen puede poseer órganos únicos en determinadas familias o géneros. Ejemplos muy conocidos son la aparición de estructuras defensivas que expulsan un líquido fétido (*Ceroglossus*) o la bioluminiscencia, como ocurre en la familia Lampyridae.



Suborden Adephaga.

Coleoptera comprende 4 subórdenes: Archoestemata, Myxophaga, Adephaga y Polyphaga, diferenciándose entre sí principalmente debido a características morfológicas externas. Se estima que Adephaga comprende más de 40.000 especies, distribuidas en 11 familias, de las cuales 8 son acuáticas: Dytiscidae, gyridae, Noteridae, Haliplidae, Amphizoidae, Paelobiidae, Aspidytidae y Meruidae (Megna & Sánchez-Fernández, 2016) y 3 son terrestres: Carabidae, Trachypachidae y Rhysodidae.

Morfología de Adephaga.

El suborden Adephaga posee pleurón visible, dividido con pronoto mediante sutura notopleural y dividida de prosternón con sutura pleuroesternal (Figura n°5), característica que comparte con Archostemata, pero diferente de Polyphaga, suborden que posee pleurón escondido, por lo que parece tener hipómero dividido del prosternón con sutura noto-esternal. (Solervicens, 2014)

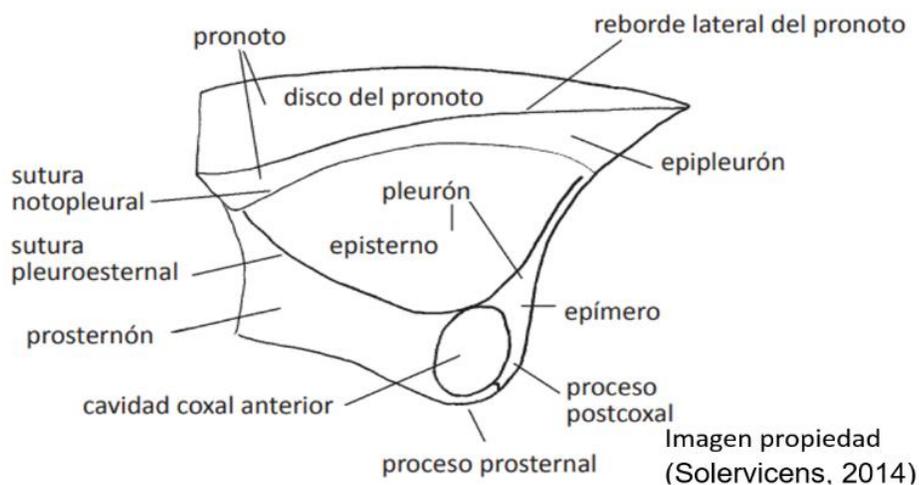
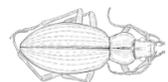


Figura n°5: Modelo de protórax de Adephaga. Presencia de pleurón delimitado por sutura notopleural y sutura pleuroesternal. (Solervicens, 2014)

Los animales dentro del suborden Adephaga suelen ser predadores, poseen cabeza prognata con antenas filiformes de 11 artejos cada una, con 5 tergitos visibles. Una de las principales características de Adephaga respecto del resto de subórdenes es la presencia del esternito abdominal basal (primer esternito visible) dividido en dos partes por las metacoxas (figura n°6) (Bar, 2010)



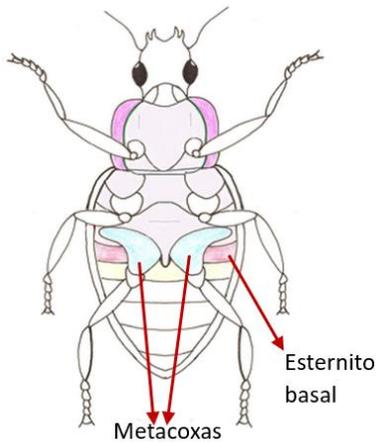


Figura n°6: Modelo ventral de Adepfaga, puede apreciarse la división del esternito abdominal dividido.

Familia Carabidae

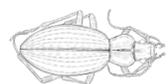
Carabidae es una familia dentro del suborden Adepfaga, comprende unos 1.500 géneros y poco menos de 40.000 especies alrededor del mundo. En Chile, la familia comprende solo comprende 95 géneros y 365 especies. (Solervicens, 2014)

Morfología de Carabidae.

Los insectos miembros de la familia Carabidae, al igual que todos los Adepfaga, tienen el primer esternito basal dividido en 2 por las metacoxas, por lo general poseen 6 esternitos visibles y tienen sus tergitos protegidos bajo los élitros, los que poseen diferentes setas (extensiones cuticulares, generalmente en la forma de pelos), las cuales ayudan a definir géneros y especies (Martínez, 2005). El cuerpo de los carábidos es de forma variable, oval oblongo o alargado, moderadamente convexo o más o menos aplanado, de aproximadamente 1 a 85 milímetros de largo (Solervicens, 2014). Su cabeza es prognata, generalmente de alimentación carnívora, por lo cual sus mandíbulas son alargadas, su capsula encefálica está libre, poseen antenas de 11 artejos máximo. Son principalmente corredores, por lo cual poseen patas largas y su coloración es generalmente oscura, habiendo algunos géneros con coloraciones metálicas en protórax y élitros.

Glándulas en Carabidae.

Muchos coleópteros emiten un olor fuerte ante el peligro, siendo Carabidae de las familias más representativas de este método, ya que numerosos carábidos secretan líquidos de



olor desagradable en situaciones de defensa. De acuerdo a Bar (2010), se han identificado en carábidos numerosos compuestos químicos tales como salicilaldeído, ácido fórmico y ácido isobutírico. Uno de los géneros más famosos representativos de estos métodos de defensa en Chile es *Ceroglossus*, conocido popularmente como peorro. Xu et al. (2019) han encontrado la presencia en glándulas pigidiales de un compuesto llamado 3-Metil-1-(metiltio)-2-buteno en las glándulas pigidiales de *Ceroglossus magellanicus* y *Ceroglossus buqueti*; así como ácido metacrílico y etacrílico en estas dos especies junto con *Ceroglossus chilensis*.

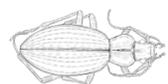
Género *Ceroglossus* (Solier, 1848)

Ceroglossus (Solier, 1848) es el único género representante de la tribu Ceroglossini en la familia Carabidae (Jiroux, 2006). Habitan el extremo sur del continente americano, pudiendo encontrarse en bosques templados, húmedos, además de tener hábitos nocturnos (Jiroux, 2006), aunque también pueden ser encontrados bajo lomas asoleadas y bajo troncos de árboles durante el día (Ruiz, 1936).

Las especies de este género tienen la capacidad de desprender un líquido de olor desagradable como defensa por el ano (Ruiz, 1936), éste líquido proviene de sus glándulas perianales y se trata de un fluido que contiene compuestos (generalmente de naturaleza ácida) presentes de manera consistente con los carábidos, como el ácido metacrílico o el ácido tíglico, aunque sólo en individuos del género *Ceroglossus* se ha encontrado la presencia de 3-Metil-1-(metiltio)-2-buteno, un compuesto sulfurado que no ha sido antes encontrado en otros artrópodos (Xu et al, 2019)

Diversidad de especies en *Ceroglossus*.

Actualmente se reconocen 10 especies válidas en *Ceroglossus*, distribuidas en 4 o 5 clados o grupos filogenéticos propuestos por Jiroux (2006). Los 4 grupos propuestos por Jiroux (2006), comprenden al grupo *chilensis* (que incluye a *Ceroglossus chilensis*), el grupo *darwini* (que incluye *Ceroglossus darwini*, *Ceroglossus magellanicus* y *Ceroglossus speciosus*), el grupo *buqueti* (que incluye a *Ceroglossus buqueti*) y el grupo *suturalis* (que incluye a



Ceroglossus suturalis, *Ceroglossus guerini* y *Ceroglossus ochsenii*). Esta propuesta fue sustentada por el trabajo de Okamoto et al. (2021), bajo evidencias moleculares. Por otro lado, en López-López et al. (2021) se consideran 5 grupos que engloban a las 10 especies descritas del género: el grupo *buqueti*, grupo *chilensis*, grupo *suturalis* (que incluye *Ceroglossus suturalis*, *Ceroglossus morpheus*, *Ceroglossus ochsenii* y *Ceroglossus guerini*), grupo *darwinii* (que incluye *Ceroglossus darwini*, *Ceroglossus archoides* y *Ceroglossus speciosus*) y grupo *magellanicus* (considerando a *Ceroglossus magellanicus*) (López-López, 2021). Cabe destacar que la adición de *C. morpheus* (Rataj, Description de *Ceroglossus morpheus* n. sp., une nouvelle espèce pour le groupe *suturalis* Fabricius, 1775 (Coleoptera: Carabidae), 2011) y *C. archoides* (Rataj & Godeau, 2010) como especies del género *Ceroglossus* es posterior al set de especies analizadas por Jiroux (2006).

Se seguirá la propuesta de Jiroux (2006) de cuatro grupos para *Ceroglossus* (grupo *chilensis*, *darwinii*, *buqueti* y *suturalis*), excluyendo a las especies *C. morpheus* y *C. archoides*. El detalle de las características de los grupos se discutirá más adelante.

Morfología de *Ceroglossus*.

Ceroglossus, al pertenecer a Carabidae y, por consiguiente, a Adephaga, comprende las características morfológicas de estos taxones, es decir, cabeza tipo prognata con cápsula encefálica libre y antenas filiformes de 11 artejos, presencia de pleurón dividido por sutura notopleural y pleuroesternal, presencia de 6 esternitos protegidos totalmente por sus élitros (Solervicens, 2014), presencia de esternito basal dividido por metacoxas (Bar, 2010) y patas largas adaptadas para correr. *Ceroglossus* posee élitros y pronoto de color metálico y prosternón, mesoesternón, metaesternón, esternitos, coxas y patas frecuentemente de color negro.

Las características que diferencian al género *Ceroglossus* de otros géneros de coleópteros son; I) poseer los antenómeros (o artejos) II y III cilíndricos (figura nº7) (Martínez, 2005), siendo el segundo antenómero fuertemente acortado y el tercero más alargado (Jiroux, 2006); II) presencia de carenas antenales en los artejos V, VI, VII y VIII, únicamente en los machos del género, donde la forma y localización de las carenas es única en cada especie del género (Jiroux, 2006). III) Posee en su estructura bucal el labro de color metálico y mandíbulas alargadas provistas de dos dientes lisos o punteadas en el dorso (figura 8) y, por último, IV) *Ceroglossus* posee los húmeros (u hombros) de los élitros inclinados, además de tener estos



fundidos por la sutura elital, por lo cual *Ceroglossus* es un animal braquíptero, es decir, incapaz de volar (Martínez, 2005).

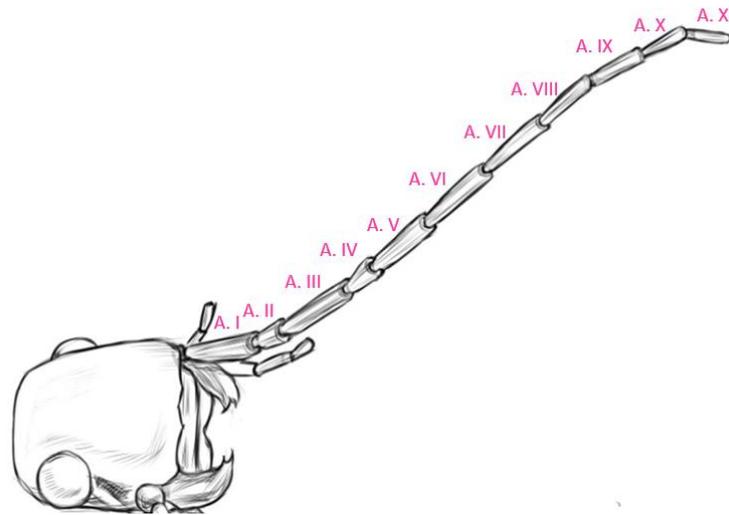


figura n°7: Modelo de antena de *Ceroglossus*, Se usa A como sigla para Antenómero, están enumerados desde A. I (primer antenómero) hasta A. XI (último antenómero). *Ceroglossus* posee 11 antenómeros, siendo A. II acortado y A. III alargado, desde A. V hasta A. VIII hay presencia de carenas en machos. Elaboración propia

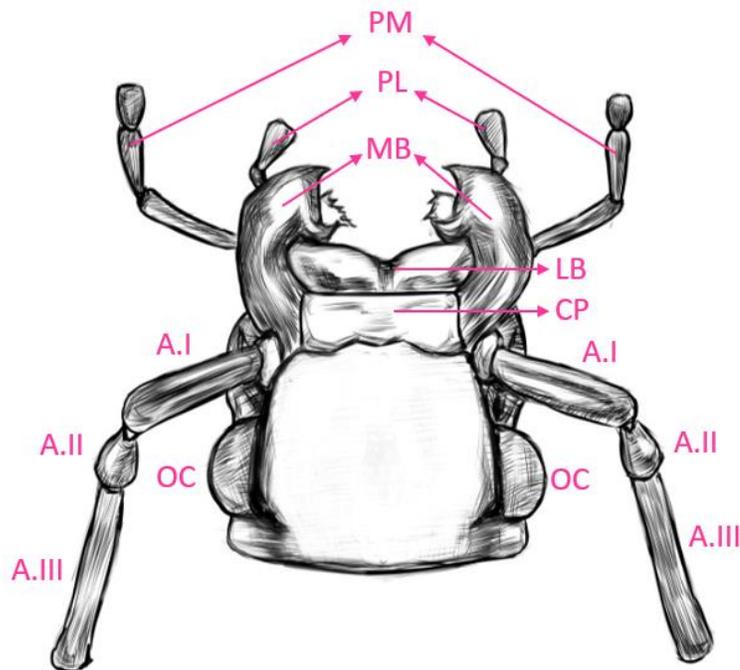


Figura n°8: Modelo de cabeza de *Ceroglossus*: LB. Labro metálico; CP. Clípeo; MB. Mandíbulas lisas; PL. Palpos labiales; PM. Palpos maxilares; OC. Ojos compuestos; A.I. Primer antenómero; A. II. Segundo antenómero; A. III. Tercer Antenómero. Elaboración propia.



Identificación de especies.

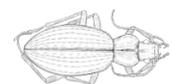
La identificación de especies ha sido todo un reto a lo largo de la historia del género debido a numerosas polémicas y confusiones en torno a la cantidad de especies del taxón. Así lo dejaba entrever Flaminio Ruiz (1936), quien realiza una pequeña revisión en torno a estudios recientes para la época que buscaban disminuir la enorme lista de especies del género (Ruiz, 1936), confusión dada debido a la utilización del cromatismo de los insectos para identificar especies. Sin embargo, ya en los años '30 (Ruiz, 1936) se utilizaba la presencia o ausencia de carenas antenales entre los artejos V, VI, VII y VIII, una interesante característica morfológica presente en los machos.

Carenas en antenómeros para la identificación de especies en Ceroglossus.

La presencia y ubicación de carenas antenales en el género *Ceroglossus* es una de las principales características morfológica utilizadas a la hora de identificar grupos de especies, siendo prácticamente la más utilizada. Según Jiroux (2006), las carenas antenales son longitudinales y ligeramente deprimidas, son exclusivas de los machos del género. Cada especie posee diferente disposición de carenas en los artejos antenales (Tabla 1), diferenciándose cada especie en la ubicación de la carena, el tamaño y la presencia de vestigios de carenas (siendo una excepción el caso de *C. darwini* y *C. magellanicus*, cuyas antenas son idénticas, defiriendo en tamaño corporal generalmente).

Tabla 1: Tabla resumen de ubicación de carenas en cada especie de *Ceroglossus* construido a partir de información obtenida desde (Jiroux, 2006)

Presencia-Ausencia-Vestigial de carena por especie.					
Grupo	Especie	Antenómero			
		V	VI	VII	VIII
Grupo <i>darwini</i>	<i>Ceroglossus darwini</i>	Ausencia	Ausencia o vestigial	Ausencia o vestigial	Ausencia
	<i>Ceroglossus magellanicus</i>	Ausencia	Ausencia o vestigial	Ausencia o vestigial	Ausencia
	<i>Ceroglossus speciosus</i>	Ausencia	Presencia (carena fina)	Presencia (carena fina)	Ausencia
Grupo <i>suturalis</i>	<i>Ceroglossus suturalis</i>	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
	<i>Ceroglossus guerini</i>	Vestigial	Presencia	Presencia	Vestigial



	<i>Ceroglossus ochsenii</i>	Ausencia	Presencia	Presencia	Vestigial
Grupo <i>chilensis</i>	<i>Ceroglossus chilensis</i>	Ausencia	Presencia	Presencia	Presencia
Grupo <i>buqueti</i>	<i>Ceroglossus buqueti</i>	Presencia	Presencia	Presencia	Ausencia

Diferenciación morfológica para identificación de especies en Ceroglossus.

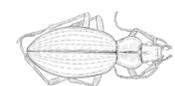
La forma del edeago (aparato copulador masculino, Jiroux, 2006), la forma de los élitros y la forma de epipleuras en hembras, son estructuras morfológicas que tienen uso para la identificación de especies, estructuras que de todos modos están sujetas a interpretación. Un ejemplo de esto ocurre con el edeago, cuya curvatura y forma difiere entre especies. Sin embargo, dicha curvatura y diferencia morfológica es difícilmente perceptible y no siempre es posible reconocer claramente la forma del carácter, generando situaciones donde 2 diferentes investigadores lleguen a conclusiones distintas en identificar un individuo usando el mismo edeago.

El tamaño del insecto y la coloración de patas, antenas y palpos también puede utilizarse para identificar especies, siempre y cuando sea complementario a otras técnicas de identificación. Por un lado, el tamaño de las especies de *Ceroglossus* es variable, entre 17mm a 30mm (Jiroux, 2006), habiendo especies pequeñas (*Ceroglossus darwini*, con un tamaño entre 17-25mm) y otras muy grandes (*Ceroglossus chilensis*, con un tamaño entre 22-30mm), sin embargo, estas diferencias de tamaño no son siempre reconocibles al haber muchas especies con tamaños similares o idénticas. Por otro lado, las patas, antenas y palpos de las especies de *Ceroglossus* son generalmente de color negro, habiendo únicamente una excepción; *Ceroglossus suturalis*, cuyas patas, primeros cuatro antenómeros y palpos son de color marrón rojizo. *Ceroglossus magellanicus* también posee una peculiaridad cromática, su primer antenómero puede estar teñido de un fuerte azul turquesa, aunque es variable y no siempre es posible reconocer el carácter en todos los individuos (Jiroux, 2006).

Observaciones etológicas.

Jiroux (2006), producto de sus observaciones, indica que aspectos conductuales potencialmente relevantes para la identificación en terreno. El autor sugiere que cada grupo de especies (el grupo *chilensis*, el grupo *darwini*, grupo *buqueti*, y el grupo *suturalis*) posee una forma en particular de moverse y huir (Tabla 2), la cual podría ser utilizada para identificar individuos de *C. chilensis* y *C. buqueti* en situaciones determinadas (Jiroux, 2006).

Tabla 2: Forma de moverse y huir para cada grupo de *Ceroglossus*, según Jiroux (2006)



Grupo	Conducta
<i>Ceroglossus chilensis</i>	Recorrido largo con paradas de unos segundos, método de huida veloz casi sin interrupciones
Grupo darwini (<i>C. darwini</i> , <i>C. magellanicus</i> , <i>C. speciosus</i>)	Paso nervioso y espasmódico, recorrido con sacudidas cortas, paradas furtivas con cambios de dirección sorprendidos
<i>Ceroglossus buqueti</i>	Recorrido recto de forma frenética intercalando con breves paradas con cambios de dirección
Grupo suturalis (<i>C. suturalis</i> , <i>C. guerini</i> , <i>C. ochsenii</i>)	Recorrido similar a grupo darwini, pero más brusco, carreras muy cortas y paradas muy breves, cambios de dirección muy bruscos e imposibles de predecir.

Hábitat, diversidad y ecología de *Ceroglossus* en Chile.

Hábitat y diversidad

La distribución del género *Ceroglossus* parece seguir la del género *Nothofagus* (Blume, 1850), presente en zonas templadas que se extienden desde la Región Metropolitana hasta Tierra del Fuego (Jiroux, 2006). Generalmente, la distribución del género se ha visto concentrada en el sur de Chile, específicamente en las regiones de Araucanía, Los Ríos, Los Lagos y Aysén (Figura n°9), donde el grupo *suturalis* (*C. suturalis*, *C. guerini*, *C. ochsenii*) se ha encontrado hasta la Región de Magallanes, el grupo *chilensis* hasta la Región de O'Higgins, y el grupo *darwini* (*C. darwini*, *C. magellanicus*, *C. speciosus*) los únicos en encontrarse en la Región Metropolitana, específicamente en la reserva altos de Cantillana (Jiroux, 2006).

Un estudio de diversidad de coleópteros muestra a *Ceroglossus* como uno de los géneros más abundantes encontrados en las cuencas de los ríos Pascua y Bravo en la Región de Aysén, especialmente *Ceroglossus suturalis*, *Ceroglossus buqueti* y *Ceroglossus chilensis* (Jerez, 2023). En un estudio realizado por Henríquez et al. (2009), evidencia la mayor abundancia y tamaño de *Ceroglossus chilensis* en fragmentos de bosques, lo que permite considerar a esos fragmentos como alternativas para su conservación. Por otro lado, Cerda et al. (2015) muestran que plantaciones de *Pinus radiata*, con una cubierta de sotobosque alto, permite una mayor supervivencia y desplazamiento de *Ceroglossus* entre parches de bosque nativo.



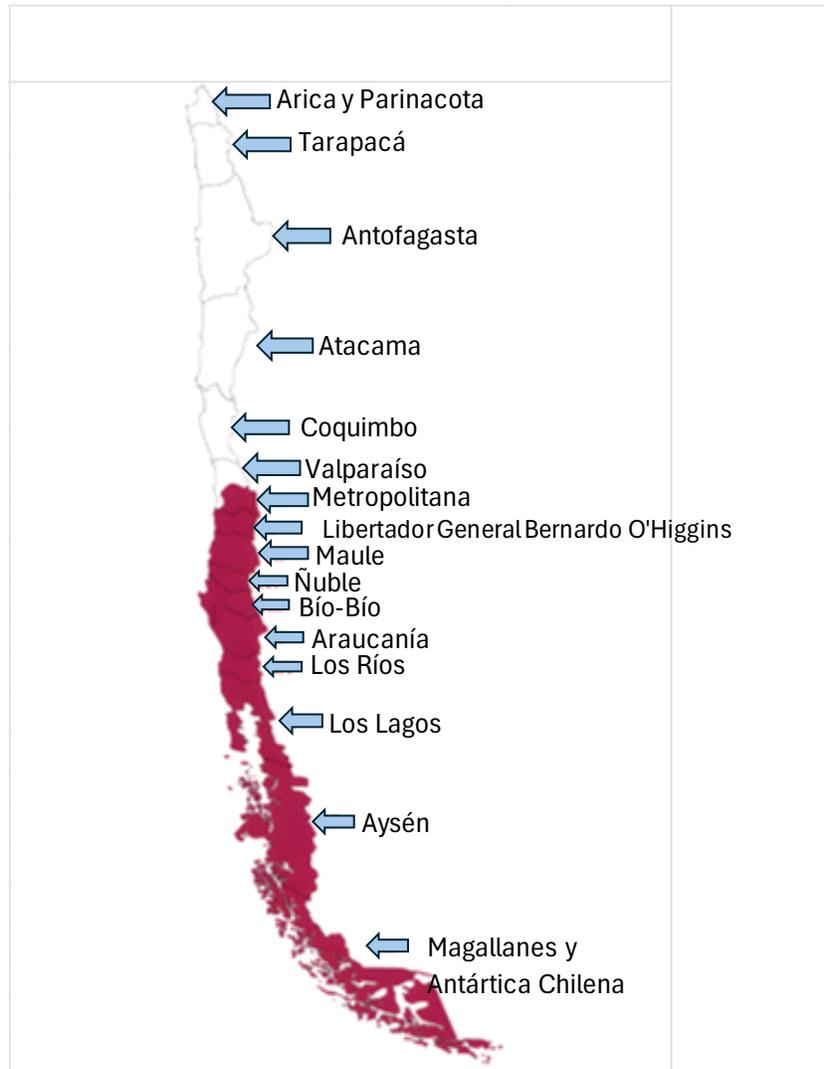


Figura n°9: Distribución conocida del género *Ceroglossus* en Chile: Aquellas regiones pintadas de rojo son las que cuentan con presencia de representantes del género *Ceroglossus*. El mapa se construyó a partir de los datos entregados por Jiroux (2006)

Relación entre fenotipo-ambiente

La idea de que dentro del género *Ceroglossus*, exista una gran variedad de fenotipos que no necesariamente reflejan su diversidad taxonómica, ha sido discutida en Muñoz-Ramírez (2015), López-López (2021), Okamoto, et al. (2001) y en Jiroux (2006).



Las distintas especies del género *Ceroglossus* son similares en la coloración de los élitros encontrándose en simpatría (Okamoto et al., 2001). Tal convergencia de fenotipos dentro de *Ceroglossus*, presenta evidencia adicional, generando la hipótesis de mimetismo mülleriano, (Muñoz-Ramírez et al., 2016). Por un lado, considerando las coloraciones conspicuas de los élitros, junto con la capacidad de liberar compuestos ácidos ante una amenaza (Xu et al., 2021), *Ceroglossus* podría coincidir con la definición clásica de este tipo de mimetismo propuesta por Müller (1879), donde las especies que se defienden y son desagradables para un depredador se benefician cuando presentan aspecto similar, y el comportamiento del receptor cambia por una señal o indicación que supone un verdadero costo en el fitness; un receptor que no sigue esta advertencia recibirá un castigo (Jamie, 2017). Por otro lado, las diferencias en coloración son significativamente menores dentro de un mismo sitio que entre sitios, a pesar de tratarse de especies distintas y de tratarse de un rasgo que no depende de la filogenia, y desviándose de lo esperado por pruebas de aleatoriedad (Muñoz-Ramírez et al., 2016). Es necesario mencionar que, a pesar de la evidencia preliminar anterior, hace falta mayor evidencia no sólo de sus patrones de coloración, sino también de sus potenciales depredadores y los efectos de las defensas de *Ceroglossus* en ellos (Muñoz-Ramírez et al., 2016).

Adicionalmente, un estudio reciente en *Ceroglossus chilensis*, estudia la variación de tamaños con relación a la latitud donde se encuentren sus individuos (ya sea machos o hembras). En este caso, la variación de centroide es más variable en la zona Norte del país, principalmente en machos (Benítez et al., 2024).

La información de estas investigaciones resulta importante para conocer de mejor manera al género porque permiten entender que, características como el color elitral o el tamaño son difícilmente admisibles como caracteres para su identificación y/o clasificación, especialmente la primera (la cual puede ser la misma entre grupos).



Historia evolutiva del género *Ceroglossus*

Según Toussaint et al. (2021), la historia evolutiva del género *Ceroglossus* comienza con la separación de la tribu Carabini de los clados Ceroglossini + Pamborini hace aproximadamente 100 millones de años (M.A.), la tribu Ceroglossini (donde *Ceroglossus* es el único genero) se separó de *Pamborini* hace aproximadamente 80 M.A. (figura n°12), y el género *Ceroglossus* surgió a finales del eoceno y el oligoceno hace aproximadamente 30 M.A. (Toussant, 2021). Por otro lado, Lopez-Lopez et al. (2021), utilizando la subunidad 5 de la región mitocondrial NADH deshidrogenasa (nad5) trabajando específicamente con escarabajos del género *Ceroglossus* (en contraposición a Toussaint et al (2021), el cual utiliza numerosos escarabajos de la familia Carabidae) postula que el origen del género *Ceroglossus* fue hace 12.45 M.A., durante el mioceno con la aparición de los principales clados durante y después del último gran levantamiento andino (Figura n°10).

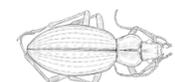
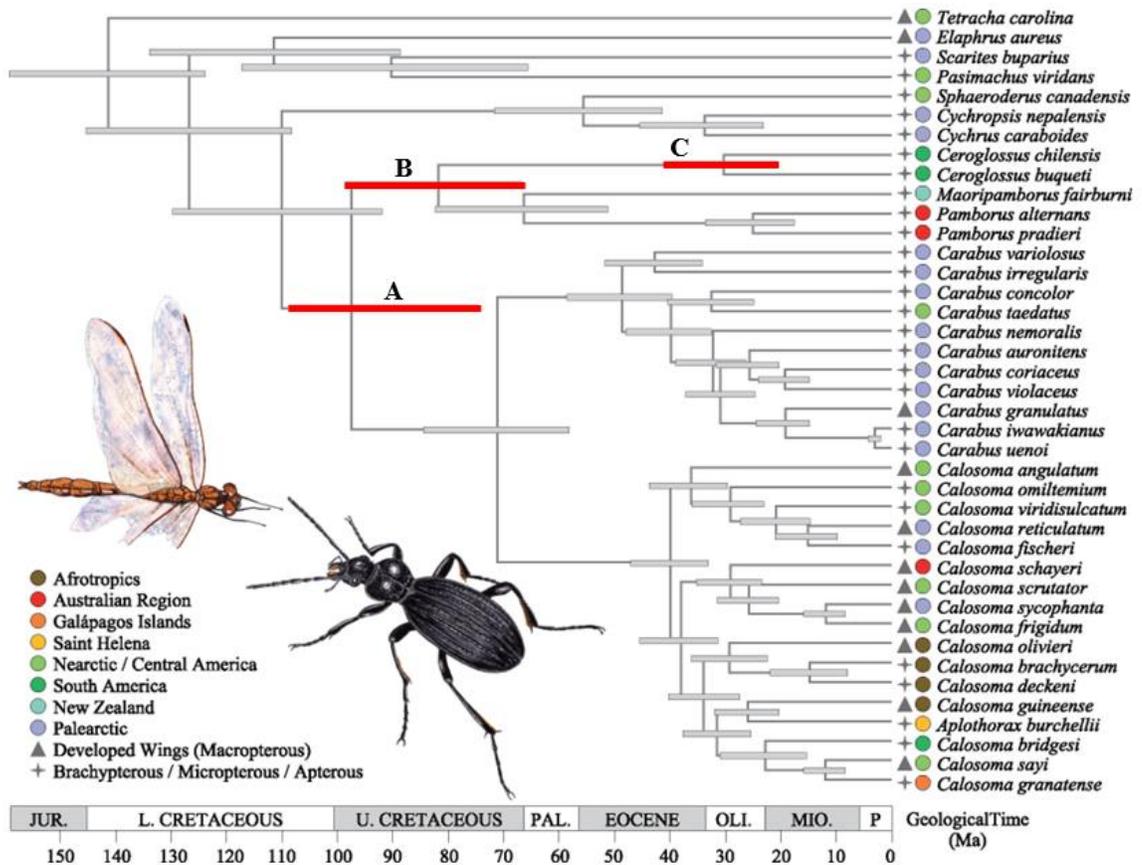
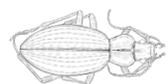


Figura n°10: Cronograma de los tiempos de divergencia de Carabinae: **A.** Corona de divergencia entre Carabini y Ceroglossini + Pamborini; **B.** Corona de divergencia entre Ceroglossini y Pamborini; **C.** Corona de divergencia para genero *Ceroglossus*. Extraída de Toussaint et al (2021)

Origen de los primeros clados de *Ceroglossus*.

Estudios filogenéticos y morfológicos parecen indicar que los grupos de *Ceroglossus* (*buqueti*, *suturalis*, *darwini* y *chilensis*) no divergieron al mismo tiempo. La evidencia muestra que *suturalis* divergió primero, adaptándose a biotopos más fríos y muy húmedos, seguido por el grupo *buqueti* (Jiroux, 2006). Estas primeras divergencias pudieron tener lugar durante el oligoceno, donde se encontraron los primeros indicios de climas templados, que presentan más contrastes entre estaciones que conducen a la multiplicación de nichos ecológicos y, por tanto, más favorables a la radiación evolutiva (Jiroux, 2006).

En este sentido, los resultados del trabajo de López-López et al. (2021) parecen confirmar lo expuesto por Jiroux, ya que indican que la fluctuación del avance y retiro de capas de hielo en las glaciaciones del pleistoceno pudieron ser el promotor principal de la generación de los linajes de *Ceroglossus* junto a sus principales especies, donde el clado de *C. suturalis* parece ser el primero en divergir del resto de las especies, hace aproximadamente 12 ± 10 mya. Los clados formados por *C. darwini* + *C. magellanicus* y *C. buqueti* + *C. chilensis* se separaron hace aproximadamente 10 ± 5 mya. El clado de *C. darwini* y *C. magellanicus* se separó hace app. 5 ± 2 mya, en el límite de inicio del plioceno. Finalmente, los clados de *C. buqueti* y *C. chilensis* se separaron app. hace 7 ± 2 mya (Figura 13).



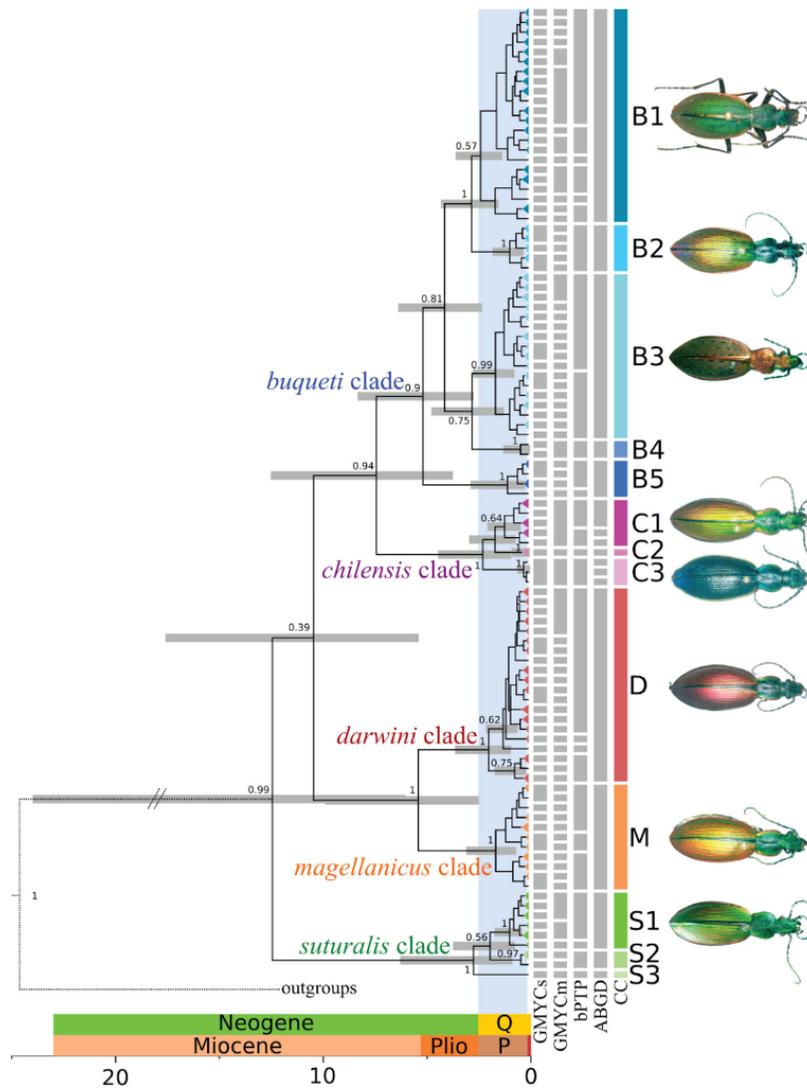


Figura n°11: Cronograma de *Ceroglossus* para el fragmento nad5 (utilizado para realizar la filogenia): Se puede observar el orden de divergencia para cada clado de *Ceroglossus* además del origen del género en el mioceno con la divergencia de *Ceroglossus suturalis*. Figura obtenida de López-López, A. et al., (2021).

Mutaciones cromosómicas en *Ceroglossus*.

Es posible que parte de la especiación de *Ceroglossus* pueda ser explicada por el reordenamiento cromosómico (Acosta, 2017). En el reordenamiento cromosómico se cambia la posición de los genes (figura n°14), generando nuevos grupos de ligamiento que pueden conducir a diferenciación génica (Acosta, 2017). Estas diferencias pudieron ser importantes para la evolución del género, pues se estima que aporta aislamiento reproductivo o restricción de la reproductividad, promoviendo la especiación.



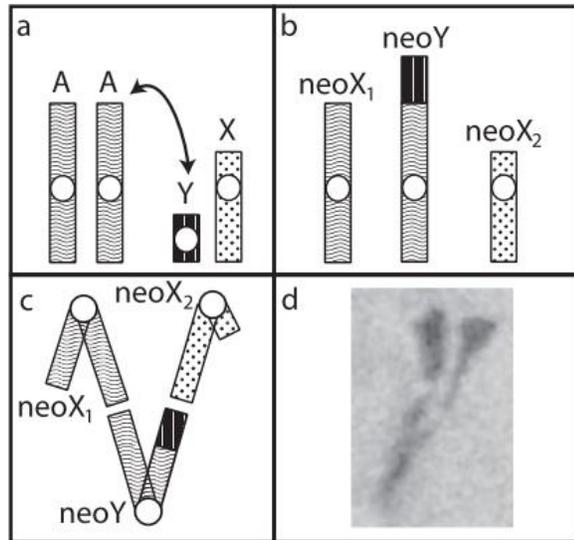


Figura n°12. López-López, A., et al. (2012). Hipótesis de generación de un cromosoma trivalente en el escarabajo *Pseudotetracha blackburni*: **A.** Autosomas (A) y cromosomas sexuales (xy); **B.** Reordenamiento cromosómico entre autosomas y cromosomas sexuales; **C.** Unión de los cromosomas formando un trivalente, d) Imagen del cromosoma trivalente.

De acuerdo con Acosta (2017), solo existe un estudio cromosómico en *Ceroglossus*, el cual explica la existencia de tres formas cromosómicas para la especie *Ceroglossus chilensis* denominadas formas A, B y C (figura n°15). Sin embargo, en base a investigaciones posteriores el estudio incurrió en un error al determinar la especie en el estudio, pues cada supuesta forma cromosómica de *C. chilensis* en realidad eran especies distintas, donde la forma A era en realidad *C. magellanicus*, la forma B es *C. buqueti* y la forma C es *C. chilensis* (Acosta, 2017).

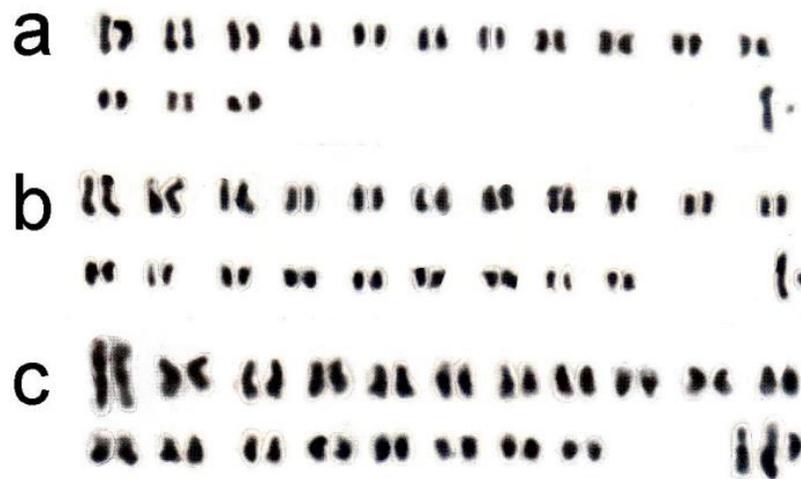


Figura n°13: cariotipo de tres especies del género *Ceroglossus*: A: *C. magellanicus*, B: *C. buqueti*, C: *C. chilensis*. Figura obtenida de Acosta, V. (2017)



Morfometría geométrica

Se trata del estudio de la variación de la forma del organismo, al remover los efectos de la escala, rotación y traslación de un objeto (Benitez & Püschel, 2014). Utiliza como métodos el álgebra matricial, la estadística inferencial multivariable y el uso de software especializado (Benitez & Püschel, 2014). El enfoque más extendido en la morfometría geométrica busca comparar la variación de cada espécimen a partir de las posiciones relativas de hitos denominados landmarks (Zelditch et al., 2004).

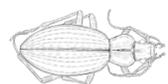
Las herramientas proporcionadas por software de digitalización de landmarks en puntos con coordenadas situadas en el eje cartesiano, el análisis multivariado, análisis de Procrustes y análisis estadístico permiten generar cuantificaciones interpretables como la variación de la forma en un organismo; además de su visualización en un plano de componentes principales (Benítez & Püschel, 2014). Esto es solo posible mediante la expresión en segunda dimensión de resultados de variadas dimensiones (Benítez & Püschel, 2014).

Si bien existe limitación a nivel estadístico, dada la reducción de grados de libertad, los resultados de análisis morfo-geométricos rigurosos tienen valor explicativo en un sentido biológico, dada la capacidad de cuantificación y visualización de la variación de la forma (Benítez & Püschel, 2014). Dentro de la biología, se pueden clasificar fenómenos abarcables por estudio morfo-geométrico, tales como como la de estabilidad de desarrollo, integración morfológica, modularidad, dimorfismo sexual y evolución de la forma (Benítez & Püschel, 2014).

Forma y tamaño

El concepto de forma en morfometría geométrica se define como toda la información geométrica que se mantiene cuando los efectos de la posición, escala y rotación son removidos de un objeto (Zelditch et al., 2004).

El concepto de tamaño es también central dentro de la morfometría geométrica, pues, la información escalar es rescatable a partir de la convergencia central de los landmarks en el centroide del objeto, siendo la distancia de los landmarks y el centroide una forma de cuantificar el tamaño sin generar variaciones en la forma (Klingenberg C. , 2015).



Coordenadas de forma y espacio de variación

Si se eliminan los efectos de traslación, rotación y escala, es posible definir uno o más landmarks que varíen sin alterar la forma, obteniendo las coordenadas de Bookstein (Zelditch et al., 2004). Para calcular las coordenadas de Bookstein, se utilizan puntos en un plano cartesiano comunes para cada espécimen y que no tengan variación, y utilizando la siguiente fórmula (Zelditch et al., 2004):

$$SC_x = \frac{(B_x - A_x)(C_x - A_x) + (B_y - A_y)(C_y - A_y)}{(B_x - A_x)^2 + (B_y - A_y)^2}$$

$$SC_y = \frac{(B_x - A_x)(C_y - A_y) - (B_y - A_y)(C_x - A_x)}{(B_x - A_x)^2 + (B_y - A_y)^2}$$

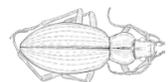
Donde A y B son coordenadas en los ejes x e y que no varían y que no son utilizados para el cálculo de la variación, mientras que, SC_x y SC_y son puntos de los ejes x e y a los que pertenece el landmark en el sistema de coordenadas de forma y que sí está sujeto a variación (Zelditch et al., 2004).

Posicionamiento de Landmarks

Para el análisis morfo-geométrico utilizado en biología, los landmarks pueden considerarse loci anatómicos discretos que pueden ser reconocidos como el mismo loci para cada uno de los especímenes del estudio a realizar (Zelditch et al., 2004). Es importante que estos landmarks sean posicionados como variables con un significado biológico relevante, debiéndose considerar la biomecánica, procesos de desarrollo, sistemática y procesos evolutivos (Zelditch et al., 2004).

Los criterios para seleccionar landmarks de manera idónea deben ser:

1. Puestos en loci homólogos
2. No alteren las posiciones topológicas relativas a otros landmark
3. Que cubran adecuadamente la morfología
4. Que puedan ser encontrados de manera replicable y confiable
5. Que se ubiquen en el mismo plano.



Obtención de variables de forma

Análisis de Procrustes

El Análisis Generalizado de mínimos cuadrados de Procrustes es probablemente el método de superposición más importante, tomando los datos en bruto y modificándolos para su análisis (Zelditch et al., 2004). Procrustes se basa principalmente en “solapar” todo el conjunto de landmarks para visualizar la variación de estos en un gráfico, pudiendo realizarse en base a la primera especie, a un landmark elegido por el usuario o en base a ejes principales. La variación de forma entre los distintos individuos se calcula a partir de diferencias en la posición sus landmark al encontrarse todos superpuestos en la misma posición, rotación y escala (Zelditch et al., 2004). Al superponer a los individuos, se representa la variación relativa de tales landmarks a partir de vectores que se extienden o reducen según la variación de los landmarks, los cuales se encuentran en ejes perpendiculares a los puntos (Figura) (Zelditch et al., 2004).

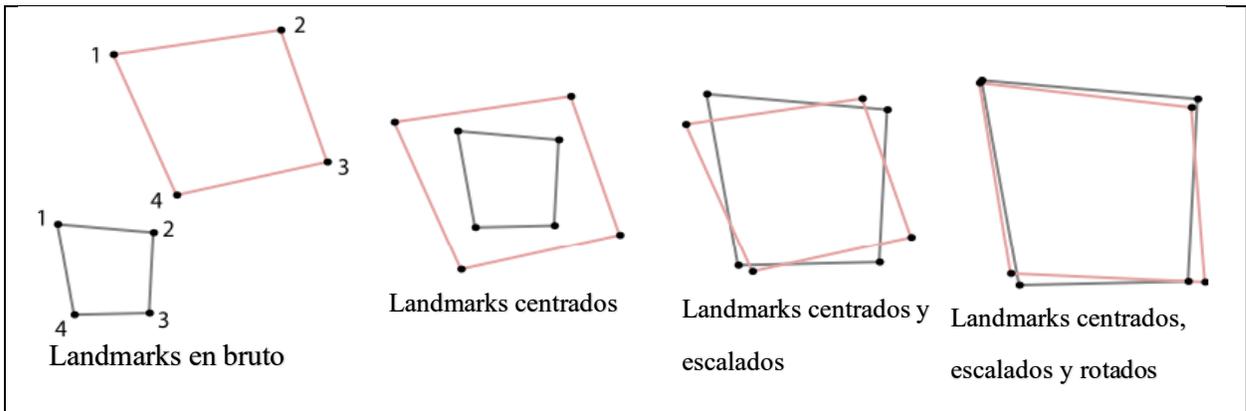


Figura nº14. Los pasos para la superposición de Procrustes, eliminando los efectos de traslación, rotación, y escala. Figura adaptada de Mitteroecker, P. & Gunz, P. (2009).



Matriz de covarianza

Análisis estadístico

Análisis de Componentes Principales (PCA)

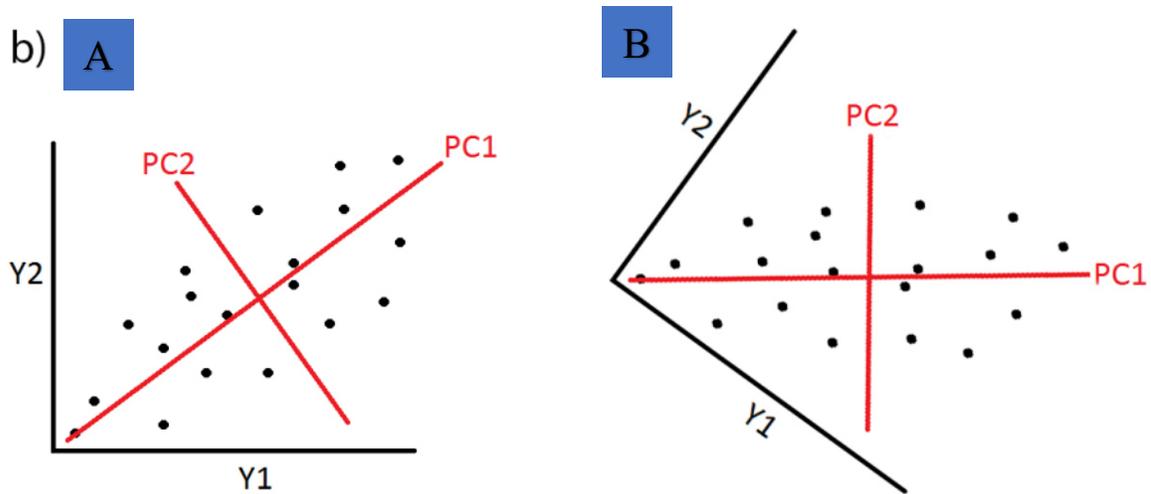


Figura n°15. Cambios en la disposición de las variables un gráfico de componentes principales (PCA), respecto a las variables originales (Y2, Y1). A. Disposición puntajes de componentes principales en relación con las variables originales. B. Rotación de componentes principales en la misma orientación de las variables originales. Figura adaptada de Aguirre, W. & Jiménez-Prado, P. (2018)

Se trata de un análisis estadístico exploratorio que permite analizar gráficamente un conjunto de datos multivariados, no siendo exclusivo para la morfometría geométrica (Aguirre & Jiménez-Prado, 2018). Los patrones de covarianza de los datos se dividen en nuevas variables llamadas componentes principales, las cuales descienden en variación según el orden (siendo el componente principal n°1, o PC1, el de mayor variación) (Aguirre & Jiménez-Prado, 2018). La Figura n°15 muestra la orientación que toman los puntos en los componentes principales a partir de la rotación de un plano de dos dimensiones (x, y).

Procrustes ANOVA

El análisis funciona en base al rechazo o aceptación de hipótesis nula respecto a la variación geométrica de cada landmark en la muestra y respecto al tamaño del centroide, siendo la hipótesis nula la no existencia de variación en la muestra y la hipótesis alternativa la existencia de variación geométrica en las muestras (Zelditch et al., 2004). El rechazar o aceptar la hipótesis nula es el eje central del análisis y se cuantifica mediante el valor de P entregado por ANOVA, donde valores superiores a 0.05 implican rechazar la hipótesis nula y valores inferiores a 0.05 indican aceptar la hipótesis nula en favor de la variación de las muestras.



Análisis de variables canónicas

Se basa en la medición de distancias lineales entre puntos, pero al no pertenecer al mismo espacio de forma, en general no permite realizar explicaciones sobre la forma. Su utilización está más enfocada a la separación de grupos por medio de una maximización de las distancias, pero el gráfico de variables canónicas (CVA) no es el mismo que el de las coordenadas de Procrustes (Zelditch et al., 2004).

Interfaz gráfica

Grillas de deformación

La variación relativa en la forma es extrapolable a la deformación de una placa delgada de metal, siendo los componentes principales análogos a un golpe de fuerza variable y la deformación de la placa los resultados del análisis (Figura n°16) (Zelditch et al., 2004).

Gráfico de componentes principales y elipses

Permite representar la información multivariada de forma resumida en un plano ortogonal, donde cada componente principal es una variable que contiene una parte de la variación total, en una posición rotada de 90° (Zelditch et al., 2004). En MorphoJ, se utilizan las elipses para encerrar un porcentaje de la distribución de los datos, como también englobar medias con un porcentaje de confianza (Klingenberg, 2011).

Investigaciones con morfometría geométrica en el género *Ceroglossus*

Actualmente, no existen trabajos publicados que utilicen la morfometría geométrica para realizar clasificación ni identificación de especies de *Ceroglossus*, pero sí su utilización para estudiar asimetría (como la asimetría fluctuante, por ejemplo) y dimorfismo sexual, así como la relación de tamaño de centroide con otras variables. Ejemplos de trabajos de morfometría geométrica en *Ceroglossus* son los siguientes:

En el trabajo de Hugo A. Benitez, Raúl Briones y Viviane Jerez (2011), se comparó individuos de *Ceroglossus chilensis* para evaluar la diferenciación morfológica y dimorfismo sexual entre poblaciones de distintas áreas geográficas mostrando diferencias significativas para una vista lateral entre sexos. (Λ de Wilks = 0,714; con un valor $P < 0.001$) para los landmarks 4, 5 y 7; lo que se relaciona con un pro-episterno más ancho en machos y esternitos abdominales más anchos en hembras. Otro análisis de morfometría geométrica fue realizado por Bravi y Benítez (2013), analizaron la asimetría direccional, fluctuante y de forma en bosques y



bosques secundarios de *Ceroglossus chilensis*; encontrando diferencias significativas entre poblaciones, así como presencia de dimorfismo sexual en la forma. En Benítez et al. (2013) se analiza el tamaño medio del centroide en relación con la proporción de sexos en ocho especies de *Ceroglossus* (*C. buqueti*, *C. chilensis*, *C. guerini*, *C. ochsenii*, *C. magellanicus*, *C. suturalis*, *C. darwini*, *C. speciosus*), encontrando una relación directamente proporcional entre ambas variables.

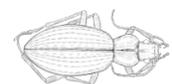
Conceptos filogenéticos

Sistemática y filogenética

La sistemática es la ciencia que estudia la diversidad de los seres vivos y sus relaciones, y se dedica a identificar, clasificar y nombrar especies y taxones de jerarquía supraespecífica (Morrone, 2013). La sistemática se clasifica dentro de la biología evolutiva, al enfocar sus estudios en las causas últimas, responsables de la evolución de los programas genéticos (Morrone, 2013), siendo la disciplina biológica más elemental e inclusiva, al permitir desde la sistematización, que los organismos puedan ser tratados científicamente; y al reunir y sintetizar todo lo que se conoce de los seres vivos: morfología, fisiología, ecología, biogeografía, etología, biología molecular, etc.

La sistemática filogenética se preocupa de las relaciones evolutivas entre organismos, especies y otros taxa, principalmente de grupos monofiléticos (que derivan de un único ancestro común) que existen en la naturaleza Wiley & Lieberman (2011). Dentro de la sistemática filogenética, se consideran únicamente las relaciones cladísticas mencionadas anteriormente, formulando hipótesis a partir de sinapomorfias o caracteres derivados compartidos (Morrone, 2013). En la sistemática evolutiva, se consideran también las relaciones fenéticas, donde las agrupaciones de taxones se pueden establecer a partir de similitud global y se utilizan todos los caracteres disponibles (Morrone, 2013). Otras relaciones utilizadas dentro de la sistemática (de manera auxiliar a las demás), son las relaciones cronísticas basadas en escalas de tiempo, y las relaciones geográficas basadas en el espacio ocupado por los taxones a estudiar. (Morrone, 2013).

Actualmente, el enfoque filogenético es el que predomina en la sistemática, ya sea mediante métodos de cladística numérica basados en el principio de parsimonia, como también métodos probabilísticos (Morrone, 2013).



Clasificación e identificación taxonómicas

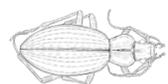
La taxonomía, como parte de la sistemática filogenética, permite la clasificación es el ordenamiento de organismos en grupos o taxones, sobre la base de sus relaciones. La taxonomía es la disciplina biológica referida al estudio teórico y práctico de la clasificación de los organismos, incluyendo sus bases, principios, procedimientos y reglas (Morrone, 2013). Dentro de la taxonomía se estudia la clasificación a partir categorías jerárquicas o niveles, los cuales son: Reino, Phylum, Subphylum, Superclase, Clase, Subclase, Infraclase, Cohorte, Superorden, Orden, Suborden, Infraorden, Superfamilia, Familia, Subfamilia, Supertribu, Tribu, Subtribu, Género, Subgénero, Especie y Subespecie (Morrone, 2013).

Caracteres en sistemática filogenética

Un carácter es una propiedad de un organismo que evoluciona de manera cuas-independiente, de tal manera que su modificación en la descendencia pueda aparecer como una novedad evolutiva sin necesidad de cambiar otro carácter (Wiley & Lieberman, 2011).

Los caracteres de interés en sistemática son los que presentan homología, es decir, correspondencia entre sí, sin importar su forma o función (Morrone, 2013). En filogenética, una homología verdadera son sinapomorfias en algún nivel dentro del árbol de la vida (Wiley & Lieberman, 2011). Dentro de un mismo individuo, puede existir homología iterativa, donde hay correspondencia de diferentes estructuras que pueden repetirse (como el pelo, plumas o escamas) o diferenciarse en serie (como vértebras, dentadura, dedos o antenómeros) (Morrone, 2013).

Existen variados tipos de caracteres que, si existe certeza de su homología, pueden formar parte de estudios sistemáticos filogenéticos. Ejemplos de caracteres son los morfológicos (siendo común la morfología externa, pero existen otras formas), fisiológicos y químicos (como el análisis de metabolitos en plantas), moleculares (En especial ADN, ARN y proteínas), etológicos (de comportamiento, único para especímenes vivos, como la locomoción o el cortejo), ecológicos (a partir del estudio del nicho e interacciones interespecíficas), biogeográficos (permite estudiar hipótesis de especiación) y estratigráficos (especialmente para taxones fósiles) (Morrone, 2013).



Diagramas de árbol en sistemática

También conocidos como dendrogramas, representan las relaciones entre los taxones analizados (Morrone, 2013). Dependiendo de las relaciones empleadas para construirlos y sus interpretaciones, se pueden diferenciar los filogramas, cladogramas, fenogramas y cronogramas (Morrone, 2013). Los filogramas representan la cantidad relativa de cambio o anagénesis, los cladogramas los caracteres derivados compartidos, los fenogramas la similitud, y los cronogramas añaden una escala temporal (Morrone, 2013).

Cladogramas o árboles filogenéticos

Un cladograma es a lo que más se tienden a referir cuando se habla de un árbol filogenético, y este representa principalmente la ancestría común, a diferencia de los filogramas, no consideran cambios relativos en ramas específicas; se puede considerar a los cladogramas como un conjunto de filogramas (Morrone, 2013). Un cladograma se compone de una raíz, nodos internos, ramas internas, ramas y taxones terminales (también llamadas unidades taxonómicas operativas/OTUs) (Morrone, 2013).

Árboles filogenéticos contruidos a partir de caracteres moleculares

La sistemática molecular actualmente se utiliza de manera predominante, en comparación con otros caracteres, y considera principalmente el ADN, ARN y proteínas (Morrone, 2013).

Métodos para la construcción de árboles filogenéticos moleculares.

Existen tres principales métodos comúnmente utilizados para el estudio filogenético molecular: Máxima Parsimonia, Máxima Verosimilitud y el análisis por Inferencia Bayesiana; en el que los dos últimos son paramétricos, es decir, utilizan métodos estadísticos basados en modelos probabilísticos de evolución molecular (Mata López et al, 2017).

máxima Parsimonia.

El análisis por Máxima Parsimonia está construido a partir de la proposición de que “el mejor árbol” es el que describe la evolución de cualquier grupo particular de caracteres utilizando el menor número de cambios evolutivos para los caracteres analizados (Wiley & Lieberman, 2011). Bajo este método, todos los caracteres heredables pueden ser homologías potenciales, y se da la misma importancia a la información que arroja al inferir los árboles filogenéticos, sin identificar homoplasias (Mata López et al., 2017).

técnicas paramétricas.

Existen dos ventajas potenciales de usar modelos explícitos en un marco basado en verosimilitud, la primera es la capacidad estadística de evaluar correctamente hipótesis nulas, y

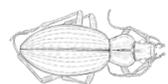


la segunda es la consistencia estadística que se obtiene cuando el análisis converge a la solución correcta mientras más datos del mismo tipo sean aplicados al mismo problema (Wiley & Lieberman, 2011).

Al inferir filogenia, además de obtener información sobre relaciones entre especies, también se obtiene información sobre la cantidad de cambios acumulados en la divergencia de los linajes estudiados (Mata López et al., 2017). Cuando no es posible calcular la cantidad de cambios acumulada debido al tiempo que ha pasado, ésta debe ser inferida a partir de métodos estadísticos los cuales describen fenómenos estocásticos (aunque esto no vuelve a la evolución un proceso estocástico) (Mata López et al., 2017).

modelos de cambio evolutivo.

Los modelos de cambio evolutivo consideran las tasas de mutación, y va a depender del modelo el cómo ésta se representa. Las mutaciones generan nuevos alelos a partir de errores antes o durante la replicación del ADN, alterando o modificando la función de proteínas; ya sea a partir de una desaminación de una base (como la citosina) al agregarse un grupo metilo (CH₃) y reaccionar con agua, o el mal alineamiento de las hebras donde se agrega una base por error, lo que da origen a inserciones o deleciones de genes (Freeman & Herron, 2015). Dependiendo de si los genes alterados evadieron o no los mecanismos de reparación genética, éstos pueden o no tener efecto, tener un efecto sutil o un gran efecto en la traducción; dependiendo de qué base es sustituida, por cuál base, en qué posición, y en qué codón (Freeman & Herron, 2015). Si se sustituye una base púrica por otra púrica, o una pirimídica por otra pirimídica, se trata de una transición, si se sustituye una base púrica por una pirimídica (o viceversa), se trata de una transversión (Figura n°22).



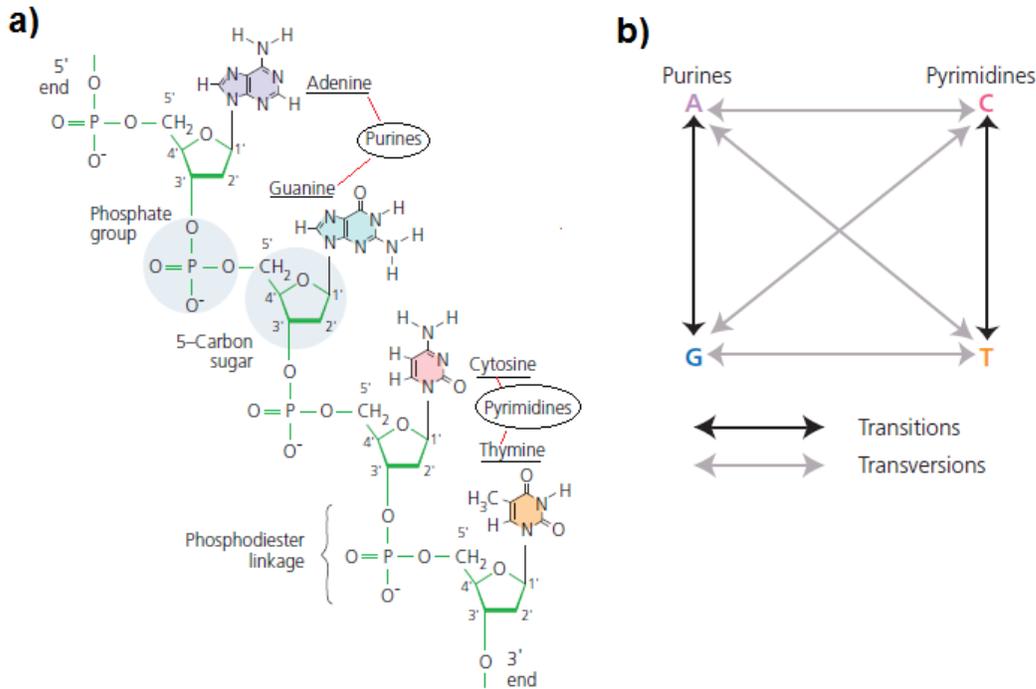
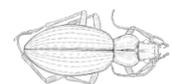


Figura n°16. Existen cuatro bases que pueden ser reemplazadas en el ADN: A. Cuatro nucleótidos con sus bases purinas (adenina y guanina) y pirimidinas (citosina y timina); B. En una transición (flechas color negro) se puede reemplazar una purina por otra purina, y/o una pirimidina por otra pirimidina, mientras que en una transversión (flechas color gris) se puede reemplazar una pirimidina por una purina y/o viceversa. Figura obtenida de Freeman, S., & Herron, J. C. (2015).

Los modelos de sustitución permiten modelar la evolución molecular, considerando los cambios entre secuencias de genes y/o aminoácidos (Liò & Goldman, 1998). Los modelos de sustitución de nucleótidos son variados, diferenciándose en complejidad y la cantidad de parámetros a considerar.

El modelo de Jukes-Cantor es el más simple, pues tiene un parámetro considera los cambios entre nucleótidos igualmente probables (Mata López et al., 2017); en este modelo, las tasas de transversión y transición son de 0.25 (Liò & Goldman, 1998). Se trata de un modelo sencillo y relativamente fácil de aplicar, pero resulta poco realista (Mata López et al., 2017), pues las tasas de mutación pueden variar entre genomas y dentro de éstos, siendo afectadas por varios factores como la posición de cromosomas (Liò & Goldman, 1998).

Existen modelos de mayor cantidad de parámetros y que asumen que los cambios de nucleótidos pueden tener frecuencias distintas (Mata López et al., 2017). El modelo de Kimura de 2 parámetros K 80, considera las diferencias entre las tasas de transición y transversión (Liò



& Goldman, 1998), y éste puede ser más realista si se consideran las proporciones de las bases (HKY 80) (Mata López et al., 2017). Uno de los modelos más utilizados actualmente es GTR (General Time Reversible model), el cual consiste de 6 parámetros que consideran no sólo diferencias en las tasas de transición y transversión, sino que también considera reversiones en los cambios de nucleótidos y diferencias para cada uno de ellos (Mata López et al., 2017). La Figura (nº23) representa distintos modelos de sustitución de nucleótidos.

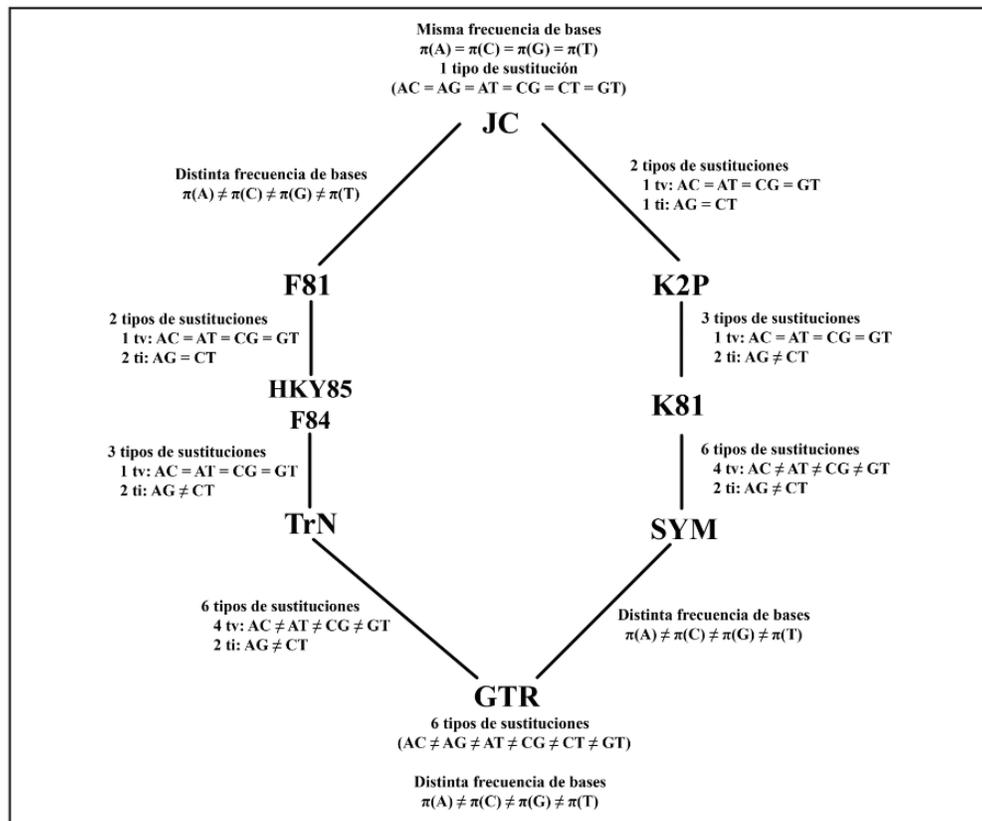


Figura nº17: Modelos de sustitución de nucleótidos con distintas frecuencias en sustituciones de bases. Figura obtenida de Mata López et al. (2017, p. 200).

máxima Verosimilitud.

El análisis por Máxima Verosimilitud en filogenética evalúa la verosimilitud de observar los datos en una topología de árbol en particular, dado un modelo particular de evolución (más abajo se profundiza sobre este aspecto); se busca la topología más probable en dar lugar a los datos observados, en lugar de topologías con menores probabilidades (Wiley & Lieberman, 2011).

Para realizar una inferencia filogenética por Máxima Verosimilitud, se requiere calcular la verosimilitud de la transformación de un carácter para cada nodo de la topología y sus largos



de rama asociados, desde las puntas hasta la raíz (Wiley & Lieberman, 2011). Para esto, se utiliza el modelo evolutivo tomando en cuenta las distribuciones de los caracteres observadas para calcular las probabilidades de observación de estados de carácter en los nodos (Wiley & Lieberman, 2011), así como la probabilidad de obtener los mismos datos si se repitiera el proceso de evolución una y otra vez (bootstrap) (Mata López et al., 2017). Bajo el supuesto de independencia de cada carácter, se multiplican las probabilidades de cada uno para calcular la verosimilitud del árbol completo (Wiley & Lieberman, 2011).

Inferencia Bayesiana.

Los análisis filogenéticos bayesianos se basan en la probabilidad de que el modelo de árbol sea cierto dados los datos, es decir, la probabilidad posterior del árbol de máxima verosimilitud (Wiley & Lieberman, 2011). Para realizar este tipo de inferencia se utiliza el teorema de Bayes:

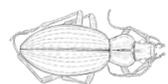
$$P(\text{model} | \text{data}) = P(\text{model})p(\text{data} | \text{model}) / \sum_{\text{model}} p(\text{model})p(\text{data} | \text{model})$$

Ecuación obtenida de Wiley & Lieberman (2011, p. 221)

Para obtener la probabilidad posterior del modelo, se considera la probabilidad compuesta del árbol $p(\text{data} | \text{model})$ con la probabilidad previa del árbol $P(\text{model})$. En el denominador se encuentra la probabilidad previa de los datos, siendo esta la suma de los valores que se obtienen al multiplicar cada verosimilitud de árbol por su probabilidad previa (Freeman & Herron, 2015).

Uso de caracteres de forma en estudios evolutivos

El testeo de señal filogenética responde a una necesidad dentro del estudio de poder establecer una comparación entre el análisis filogenético y la morfometría geométrica, con el fin de validar el uso del último en la identificación y/o separación de especies. El uso de datos multidimensionales de forma como caracteres para filogenia en el trabajo de Zelditch et al. (2004) fue ampliamente criticado, principalmente por el uso de *partial warps* en vez de un sistema de coordenadas (Klingenberg & Gidaszewski, 2010). Por otro lado, el uso de mapeo de variación de forma con una filogenia establecida de manera apropiada no tiene mayor



controversia, lo que también permite el testeo de hipótesis de señal filogenética (Klingenberg & Gidaszewski, 2010).

La señal filogenética se define como la no-independencia estadística entre valores de caracteres de especies debido a sus relaciones filogenéticas (Revell et al, 2008). En ambos casos de mapeo de árbol fue posible confirmar la hipótesis alternativa de presencia de señal filogenética, pero no se cuantificó su intensidad, lo que no permite realizar afirmaciones evolutivas más allá de que variación en la forma debido a relaciones de parentesco filogenético. Para ello, se requiere principalmente del uso de métricas como la K de Blomberg (Revell et al., 2008). La señal filogenética puede usarse para estudiar modelos sobre los mecanismos evolutivos (selección natural, deriva genética y mutaciones) que actúan sobre un grupo de organismos a partir de la relación entre modelos (Revell et al., 2008); así como el cálculo del índice de consistencia y el índice de retención (Klingenberg & Gidaszewski, 2010).

Marco metodológico

Diseño general de investigación.

Se tiene determinada cantidad de individuos del género *Ceroglossus* previamente recolectados, identificados y sexados al presente estudio, cada uno de los cuales cuenta con un código identificador con su especie y localidad de extracción. Además, se cuenta con base de datos de recolecta con información importante para los individuos. Es importante mencionar que la base de datos posee información incompleta para algunos insectos recolectados, además, no se cuenta con los individuos de forma presencial, únicamente se tienen imágenes e información de los individuos.

Entre los datos disponibles se encuentran disponibles imágenes de los individuos y marcadores genéticos COI mitocondrial. Algunos individuos cuentan únicamente con imágenes de vista ventral y dorsal, otros con imágenes e información de marcadores genéticos COI mitocondrial y otros cuentan únicamente con información del marcador genético. Cada grupo de individuos estará destinado a secciones distintas de la investigación, por un lado, aquellos individuos que posean imágenes ventrales serán sexados y, en base a determinadas estructuras homólogas fáciles de reconocer, se realizará morfometría geométrica utilizando diversos programas de análisis basados en la posición de landmarks. Por otro lado, aquellos individuos con información de marcador COI mitocondrial serán utilizados para realizar identificación



taxonómica por medio de un análisis filogenético. Por último, aquellos individuos con información de marcadores genéticos COI mitocondrial e imagen apta para morfometría geométrica serán utilizados como medio de comparación entre los resultados del análisis filogenético con los resultados del análisis morfo-geométrico.

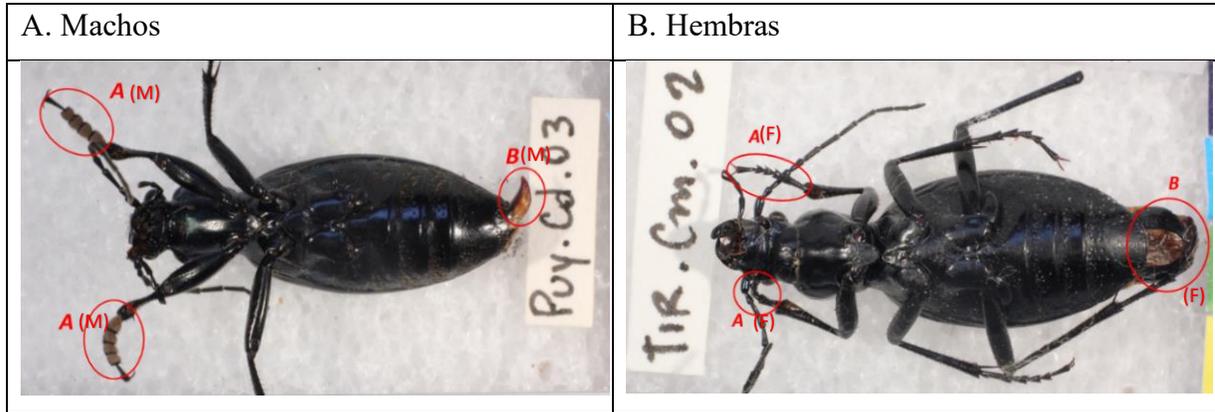


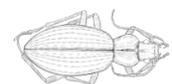
Figura n°18. A. Imagen de individuo macho de *Ceroglossus darwini*; A(M). Presencia de cojinetes en patas; B(M). Presencia de edeago. B. Imagen de individuo hembra de *Ceroglossus magellanicus*; A(F). No presencia de cojinetes en patas; B(F). Presencia de ovopositor.

Identificación de sexo.

Para identificar el sexo del individuo se decidió utilizar diversas características morfológicas que diferencian sexos dentro del género, estos son: Presencia de cojinetes en tarsomeros de las patas delanteras en machos (estructura exclusiva de los machos del género) y presencia de edeago en machos (Figura n°17A) u ovopositor en hembras (Figura n°17B). Por otro lado, se tiene una base de datos previa al estudio exclusiva para identificar el sexo de cada especie según el código identificador. Sin embargo, debido a que no todos los individuos tenían su lugar en esta base de datos, además de encontrarse errores al sexar, se decidió utilizar la base de datos únicamente para sexar a los individuos que no se les pueda observar ni ovopositor ni edeago además de carecer de patas.

Código de identificación.

Cada individuo posee un código identificador que incluye la localidad, especie (putativa) y número de la especie recolectada en la localidad, un ejemplo: **Puc.CC.04** corresponde a un individuo de *Ceroglossus Chilensis* (cc), el cuarto ejemplar (.04) recolectado en un bosque nativo en las coordenadas (-39.3508, -71.967), localidad de Pucón (Puc). Este código sirve para



identificar cada individuo y tienen su respectivo lugar en una base de datos que comprende variados datos de interés para el estudio, como, por ejemplo: la ubicación de la muestra con sus respectivas coordenadas geográficas, el año de toma de datos, nombre del recolector, la especie del individuo y sexo, aunque no todos los individuos cuentan con información completa.

Secuencias utilizadas y alineamiento del gen COI

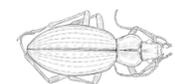
Como se mencionó, se utilizaron 88 secuencias de ADN para el marcador genético del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa i (COI) (86 género *Ceroglossus* + 1 *Carabus* + 1 *Calosoma*), las cuales fueron facilitadas por el profesor guía de este trabajo. Estando ya amplificadas utilizando la técnica PCR para la amplificación del gen de ADN mitocondrial COI (~680 pares de bases), se utilizaron los primers universales LCO1490 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' y HCO 2198 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAA AATCA-3' (Folmer et al., 1994; como se citó en Muñoz-Ramírez, 2015).

Definición de la muestra de individuos.

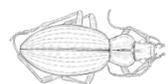
Se tienen un total de 225 individuos del género *Ceroglossus* de especies *C. chilensis* (n=92), *C. darwini* (n=29), *C. magellanicus* (n=32), *C. buqueti* (n=63), *C. ochsenii* (n=2), *C. speciosus* (n=6) y *C. guerini* (n=1). Todas especies recogidas a lo largo de 29 localidades del sur de Chile.

Tabla 3. Individuos de *Ceroglossus* con su código identificador, especie y localidad.

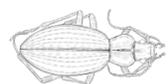
Código	Especie	Localidad de extracción	Latitud	longitud	Sexo	IMG	COI
ALE1.Co.02	<i>C. ochsenii</i>	PN Alerce Costero, sitio 1	?	?	?	no	si
ALE2.cb.01	<i>C. buqueti</i>	PN Alerce Costero, sitio 2	-40.1825	-73.4386	Macho	si	no
ALE2.cd.01	<i>C. darwini</i>	PN Alerce Costero, sitio 2	-40.1825	-73.4386	Hembra	si	si
ALE2.cd.02	<i>C. darwini</i>	PN Alerce Costero, sitio 2	-40.1825	-73.4386	Hembra	si	si
ALE3.cb.01	<i>C. buqueti</i>	PN Alerce Costero, sitio 3	-40.1967	-73.4321	?	no	si
ALE3.cc.01	<i>C. chilensis</i>	PN Alerce Costero, sitio 3	-40.1967	-73.4321	?	no	si
ALE3.cc.05	<i>C. chilensis</i>	PN Alerce Costero, sitio 3	-40.1967	-73.4321	Macho	si	no
ALE4.cc.01	<i>C. chilensis</i>	PN Alerce Costero, sitio 4	-40.2063	-73.4129	Macho	si	no
ALE4.cc.02	<i>C. chilensis</i>	PN Alerce Costero, sitio 4	-40.2063	-73.4129	Macho	si	no
ALE4.cc.03	<i>C. chilensis</i>	PN Alerce Costero, sitio 4	-40.2063	-73.4129	Macho	si	no
ALE4.cc.04	<i>C. chilensis</i>	PN Alerce Costero, sitio 4	-40.2063	-73.4129	Macho	si	no
ALE4.cc.05	<i>C. chilensis</i>	PN Alerce Costero, sitio 4	-40.2063	-73.4129	Macho	si	no
ALE4.cc.06	<i>C. chilensis</i>	PN Alerce Costero, sitio 4	-40.2063	-73.4129	Macho	si	no
ALE4.cc.07	<i>C. chilensis</i>	PN Alerce Costero, sitio 4	-40.2063	-73.4129	Macho	si	no



ALE4.cc.08	<i>C. chilensis</i>	PN Alerce Costero, sitio 4	-40.2063	-73.4129	Hembra	si	no
ALE4.cd.01	<i>C. darwini</i>	PN Alerce Costero, sitio 4	-40.2063	-73.4129	Hembra	si	si
ALE4.cd.02	<i>C. darwini</i>	PN Alerce Costero, sitio 4	-40.2063	-73.4129	Hembra	si	no
ALE4.cd.03	<i>C. darwini</i>	PN Alerce Costero, sitio 6	-40.2063	-73.4129	Hembra	si	no
ALE4.cd.04	<i>C. darwini</i>	PN Alerce Costero, sitio 4	-40.2063	-73.4129	Hembra	si	no
ALE4.cd.05	<i>C. darwini</i>	PN Alerce Costero, sitio 4	-40.2063	-73.4129	Hembra	si	no
ALE4.Co.01	<i>C. ochsenii</i>	PN Alerce Costero, sitio 4	-40.2063	-73.4129	?	no	si
Ay.cb.01	<i>C. buqueti</i>	Aysén	?	?	?	si	no
Ay.cb.02	<i>C. buqueti</i>	Aysén	?	?	?	si	no
Ay.cb.03	<i>C. buqueti</i>	Aysén	?	?	?	si	no
Ay.cb.04	<i>C. buqueti</i>	Aysén	?	?	?	si	no
Ay.cb.05	<i>C. buqueti</i>	Aysén	?	?	?	si	no
Ay.cb.06	<i>C. buqueti</i>	Aysén	?	?	?	si	no
AyP2.cb.02	<i>C. buqueti</i>	Aysén	?	?	?	no	si
AyRM.cb.01	<i>C. buqueti</i>	Aysén, Rio Moca	-45.1327	-73.0154	Macho	si	si
AyRM.cb.02	<i>C. buqueti</i>	Aysén, Rio Moca	-45.1327	-73.0154	Macho	si	no
AyRM.cb.03	<i>C. buqueti</i>	Aysén, Rio Moca	-45.1327	-73.0154	Hembra	si	no
AyRM.cb.04	<i>C. buqueti</i>	Aysén, Rio Moca	-45.1327	-73.0154	Hembra	si	no
Chai.cb.01	<i>C. buqueti</i>	Chaitén	-42.9097	-72.7074	?	si	si
Chai.cb.02	<i>C. buqueti</i>	Chaitén	-42.9097	-72.7074	Macho	si	si
Chai.cb.03	<i>C. buqueti</i>	Chaitén	-42.9097	-72.7074	Hembra	si	no
Chai.cb.04	<i>C. buqueti</i>	Chaitén	-42.9097	-72.7074	?	si	no
Chai.cd.01	<i>C. darwini</i>	Chaitén	-42.9097	-72.7074	Macho	si	si
Chai.cd.02	<i>C. darwini</i>	Chaitén	-42.9097	-72.7074	Hembra	si	no
Chai.cd.03	<i>C. darwini</i>	Chaitén	-42.9097	-72.7074	Hembra	si	no
Chai.cd.04	<i>C. darwini</i>	Chaitén	-42.9097	-72.7074	?	si	no
Chg.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Chiguayante	?	?	?	no	si
Chil1.cb.01	<i>C. buqueti</i>	Chiloé, en Ancud	-41.882	-73.8799	?	no	si
Chil1.csp.01	<i>C. speciosus</i>	Chiloé, en Ancud	-41.882	-73.8799	?	no	si
Chil1.csp.02	<i>C. speciosus</i>	Chiloé, en Ancud	-41.882	-73.8799	?	no	si
Chil1.csp.03	<i>C. speciosus</i>	Chiloé, en Ancud	-41.882	-73.8799	?	no	si
Chil1.csp.04	<i>C. speciosus</i>	Chiloé, en Ancud	-41.882	-73.8799	?	no	si
Chil1.csp.06	<i>C. speciosus</i>	Chiloé, en Ancud	-41.882	-73.8799	Macho	si	no
Chil1.csp.07	<i>C. speciosus</i>	Chiloé, en Ancud	-41.882	-73.8799	Macho	si	no
Chil2.cb.04	<i>C. buqueti</i>	Chiloé, en Puntra	-42.1195	-73.8066	?	no	si
Chil2.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Chiloé, en Puntra	-42.1195	-73.8066	Macho	si	si
Chil2.cc.02	<i>C. chilensis</i>	Chiloé, en Puntra	-42.1195	-73.8066	Macho	si	no
Chil2.cd.01	<i>C. darwini</i>	Chiloé, en Puntra	-42.1195	-73.8066	?	no	si
Chil2.cd.06	<i>C. darwini</i>	Chiloé, en Puntra	-42.1195	-73.8066	Hembra	si	no
Chil2.cd.07	<i>C. darwini</i>	Chiloé, en Puntra	-42.1195	-73.8066	Hembra	si	si
Chil3.cb.01	<i>C. buqueti</i>	Chiloé, cerca de Abtao	-42.3996	-73.8507	Macho	si	no
Chil3.cb.02	<i>C. buqueti</i>	Chiloé, cerca de Abtao	-42.3996	-73.8507	Macho	si	no
Chil3.cb.03	<i>C. buqueti</i>	Chiloé, cerca de Abtao	-42.3996	-73.8507	Macho	si	si
Chil3.cb.04	<i>C. buqueti</i>	Chiloé, cerca de Abtao	-42.3996	-73.8507	Hembra	si	no



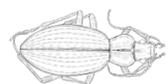
Chil3.cb.05	<i>C. buqueti</i>	Chiloé, cerca de Abtao	-42.3996	-73.8507	Macho	si	no
Chil3.cb.12	<i>C. buqueti</i>	Chiloé, cerca de Abtao	-42.3996	-73.8507	Macho	si	no
Chil3.cd.01	<i>C. darwini</i>	Chiloé, cerca de Abtao	-42.3996	-73.8507	?	no	si
Chil3.cd.02	<i>C. darwini</i>	Chiloé, cerca de Abtao	-42.3996	-73.8507	Macho	si	no
Chil3.cd.03	<i>C. darwini</i>	Chiloé, cerca de Abtao	-42.3996	-73.8507	Macho	si	no
Chil3.cd.04	<i>C. darwini</i>	Chiloé, cerca de Abtao	-42.3996	-73.8507	Macho	si	no
Chil3.cd.05	<i>C. darwini</i>	Chiloé, cerca de Abtao	-42.3996	-73.8507	Macho	si	no
Chil4.cb.01	<i>C. buqueti</i>	Chiloé, en Cucao	-42.6481	-74.0653	Macho	si	si
Chil4.cb.04	<i>C. buqueti</i>	Chiloé, en Cucao	-42.6481	-74.0653	Macho	si	no
Chil4.cb.05	<i>C. buqueti</i>	Chiloé, en Cucao	-42.6481	-74.0653	Macho	si	no
Chil4.cb.06	<i>C. buqueti</i>	Chiloé, en Cucao	-42.6481	-74.0653	Macho	si	no
Chil4.cb.07	<i>C. buqueti</i>	Chiloé, en Cucao	-42.6481	-74.0653	Macho	si	no
Chil4.cd.01	<i>C. darwini</i>	Chiloé, en Cucao	-42.6481	-74.0653	Macho	si	si
Chil6.cd.01	<i>C. darwini</i>	Chiloé, en Margaritas	-42.7792	-73.7958	Macho	si	si
Chil6.cd.02	<i>C. darwini</i>	Chiloé, en Margaritas	-42.7792	-73.7958	Hembra	si	no
Chil6.cd.03	<i>C. darwini</i>	Chiloé, en Margaritas	-42.7792	-73.7958	Hembra	si	no
Chil7.cd.01	<i>C. darwini</i>	Chiloé, en Yaldad	-43.0971	-73.7329	Hembra	si	no
Chil7.cd.02	<i>C. darwini</i>	Chiloé, en Yaldad	-43.0971	-73.7329	Macho	si	no
CT.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Contulmo	-38.0128	-73.1874	Macho	si	si
CT.cm.01	<i>C. magellanicus</i>	Contulmo	-38.0128	-73.1874	Macho	si	si
Cur.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Curacautín	-38.2109	-71.8129	?	no	si
Cur.cc.02	<i>C. chilensis</i>	Curacautín	-38.2109	-71.8129	?	no	si
Cur.cc.03	<i>C. chilensis</i>	Curacautín	-38.2109	-71.8129	?	no	si
CUR.cc.04	<i>C. chilensis</i>	Curacautín	-38.2109	-71.8129	Hembra	si	si
HH1.cm.01	<i>C. magellanicus</i>	Huilo-Huilo, sitio 1	-39.8538	-71.9517	?	no	si
HH3.cm.01	<i>C. magellanicus</i>	Huilo-Huilo, sitio 3	-39.9106	-71.954	?	no	si
HH3.cm.04	<i>C. magellanicus</i>	Huilo-Huilo, sitio 3	-39.9106	-71.954	Macho	si	no
HH4.cb.02	<i>C. buqueti</i>	Huilo-Huilo, sitio 4	-39.8903	-71.9568	?	no	si
HH4.cc.02	<i>C. chilensis</i>	Huilo-Huilo, sitio 4	-39.8903	-71.9568	Hembra	si	si
HH4.cm.01	<i>C. magellanicus</i>	Huilo-Huilo, sitio 4	-39.8903	-71.9568	?	no	si
HH5.cc.03	<i>C. chilensis</i>	Huilo-Huilo, sitio 5	-39.9074	-71.9677	Macho	si	no
Hue.cb.01	<i>C. buqueti</i>	Coihueco (los huemules)			?	no	si
kat.cb.01	<i>C. buqueti</i>	Parque Katalapi	-41.5142	-72.7554	?	no	si
KAT.cb.01	<i>C. buqueti</i>	Parque Katalapi	-41.5142	-72.7554	Hembra	si	no
KAT.cb.02	<i>C. buqueti</i>	Parque Katalapi	-41.5142	-72.7554	Macho	si	no
kat.cd.01	<i>C. darwini</i>	Parque Katalapi	-41.5142	-72.7554	?	no	si
Lcab.cm.01	<i>C. magellanicus</i>	Las cabras	-71.5725	-39.07	?	no	si
Lq.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Los Queules	?	?	?	no	si
LQ.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Los Queules	?	?	Hembra	si	no
Lq.cc.02	<i>C. chilensis</i>	Los Queules	?	?	?	no	si
LQ.cc.02	<i>C. chilensis</i>	Los Queules	?	?	Hembra	si	no



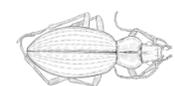
Lque.cb.01	<i>C. buqueti</i>	Los Queules	?	?	?	no	si
Lque.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Los Queules	?	?	?	no	si
Lque.cm.01	<i>C. magellanicus</i>	Los Queules	?	?	?	no	si
Maf.cg.01	<i>C. guerini</i>	Mafil	?	?	?	no	si
MAi.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Maitencillo	-35.6005	-71.0529	Hembra	si	si
Mal1.cm.01	<i>C. magellanicus</i>	Malalcahuello	?	?	?	no	si
mal3.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Malalcahuello	-38.4362	-71.5258	?	no	si
mal4.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Malalcahuello	-38.4658	-71.5193	?	no	si
mal5.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Malalcahuello	-38.471	-71.576	?	no	si
mal5.cc.02	<i>C. chilensis</i>	Malalcahuello	-38.471	-71.576	?	no	si
Manz.cc.01	<i>C. chilensis</i>	?	?	?	Hembra	si	no
Manz.cc.02	<i>C. chilensis</i>	?	?	?	Hembra	si	no
Manz.cc.03	<i>C. chilensis</i>	?	?	?	Hembra	si	no
Manz.cc.04	<i>C. chilensis</i>	?	?	?	Hembra	si	no
Manz.cc.05	<i>C. chilensis</i>	?	?	?	Hembra	si	no
Manz.cc.06	<i>C. chilensis</i>	?	?	?	Hembra	si	no
Manz.cc.07	<i>C. chilensis</i>	?	?	?	Hembra	si	no
Nah1.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Nahuelbuta, sitio 1	?	?	?	no	si
Nah3.cb.01	<i>C. buqueti</i>	Nahuelbuta, sitio 3	-37.8163	-73.0094	?	no	si
Nah3.cm.01	<i>C. magellanicus</i>	Nahuelbuta, sitio 3	-37.8163	-73.0094	Macho	si	si
Nah3.cm.02	<i>C. magellanicus</i>	Nahuelbuta, sitio 3	-37.8163	-73.0094	Macho	si	no
Nah3.cm.03	<i>C. magellanicus</i>	Nahuelbuta, sitio 3	-37.8163	-73.0094	Macho	si	no
Nah3.cm.04	<i>C. magellanicus</i>	Nahuelbuta, sitio 3	-37.8163	-73.0094	Hembra	si	no
Nah3.cm.05	<i>C. magellanicus</i>	Nahuelbuta, sitio 3	-37.8163	-73.0094	Hembra	si	no
Nah5.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Nahuelbuta, sitio 5	-37.8261	-72.9863	?	no	si
Nah5.cm.01	<i>C. magellanicus</i>	Nahuelbuta, sitio 5	-37.8261	-72.9863	?	no	si
Nah5.cm.03	<i>C. magellanicus</i>	Nahuelbuta, sitio 5	-37.8261	-72.9863	Hembra	si	no
Nah5.cm.04	<i>C. magellanicus</i>	Nahuelbuta, sitio 5	-37.8261	-72.9863	Hembra	si	no
Nah6.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Nahuelbuta, sitio 6	-37.902	-73.2167	?	no	si
Nel.cb.01	<i>C. buqueti</i>	Neltume	-39.8511	-71.9256	Hembra	si	no
Nel.cb.05	<i>C. buqueti</i>	Neltume	-39.8511	-71.9256	?	si	no
Par.cc.01	<i>C. chilensis</i>	?	?	?	Macho	si	no
Par.cc.02	<i>C. chilensis</i>	?	?	?	?	si	no
Par.cc.03	<i>C. chilensis</i>	?	?	?	?	si	no
Par.cc.04	<i>C. chilensis</i>	?	?	?	?	si	no
Par.cc.05	<i>C. chilensis</i>	?	?	?	?	si	no
Par.cc.06	<i>C. chilensis</i>	?	?	?	Macho	si	no
Puc.cb.01	<i>C. buqueti</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Macho	si	si
Puc.cb.02	<i>C. buqueti</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Macho	si	si



Puc.cb.03	<i>C. buqueti</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Macho	si	no
Puc.cb.08	<i>C. buqueti</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Macho	si	no
Puc.cb.09	<i>C. buqueti</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Macho	si	no
Puc.cb.10	<i>C. buqueti</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Macho	si	si
Puc.cb.10b	<i>C. buqueti</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	?	no	si
Puc.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Macho	si	no
Puc.cc.02	<i>C. chilensis</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Macho	si	si
Puc.cc.03	<i>C. chilensis</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Macho	si	si
Puc.cc.04	<i>C. chilensis</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Macho	si	no
Puc.cc.05	<i>C. chilensis</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Macho	si	no
Puc.cc.06	<i>C. chilensis</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Macho	si	no
Puc.cc.07	<i>C. chilensis</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Macho	si	no
Puc.cc.08	<i>C. chilensis</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Macho	si	no
Puc.cc.09	<i>C. chilensis</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Macho	si	no
puc.cm.01	<i>C. magellanicus</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	?	no	si
puc.cm.02	<i>C. magellanicus</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	?	no	si
puc.cm.03	<i>C. magellanicus</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	?	no	si
Puc.cm.05	<i>C. magellanicus</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Hembra	si	no
Puc.cm.06	<i>C. magellanicus</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Hembra	si	no
Puc.cm.07	<i>C. magellanicus</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Hembra	si	no
PucF.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Hembra	si	no
PucF.cc.02	<i>C. chilensis</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Hembra	si	no
PucF.cc.03	<i>C. chilensis</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Hembra	si	no
PucF.cc.04	<i>C. chilensis</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Hembra	si	no
PucF.cc.05	<i>C. chilensis</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Hembra	si	no
PucF.cc.06	<i>C. chilensis</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Hembra	si	no
PucF.cc.07	<i>C. chilensis</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Hembra	si	no
PucF.cc.08	<i>C. chilensis</i>	Pucón	-39.3508	-71.968	Hembra	si	no
Puy.cb.01	<i>C. buqueti</i>	PN Puyehue	-40.6641	-72.172	Macho	si	si
Puy.cb.02	<i>C. buqueti</i>	PN Puyehue	-40.6641	-72.172	Macho	si	no
Puy.cb.03	<i>C. buqueti</i>	PN Puyehue	-40.6641	-72.172	Macho	si	no
Puy.cb.04	<i>C. buqueti</i>	PN Puyehue	-40.6641	-72.172	Hembra	si	no
Puy.cd.01	<i>C. darwini</i>	PN Puyehue	-40.6641	-72.172	?	no	si
Puy.cd.03	<i>C. darwini</i>	PN Puyehue	-40.6641	-72.172	Macho	si	no
Puy.cd.04	<i>C. darwini</i>	PN Puyehue	-40.6641	-72.172	Macho	si	no
RD.cc.01	<i>C. chilensis</i>	El Radal	-35.4756	-70.9938	?	si	si
RET.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Retiro	-36.0908	-71.7834	Macho	si	si
RET.cc.04	<i>C. chilensis</i>	Retiro	-36.0908	-71.7834	Macho	si	no
SF.cc.01	<i>C. chilensis</i>	San Felipe	-36.55	-71.431	?	no	si
SP.cc.01	<i>C. chilensis</i>	San pedro	?	?	?	no	si
ST.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Siete tazas	-35.4459	-71.0411	?	no	si



Tir.cb.02	<i>C. buqueti</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	Macho	si	no
Tir.cb.03	<i>C. buqueti</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	Hembra	si	no
Tir.cb.04	<i>C. buqueti</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	Macho	si	no
Tir.cb.05	<i>C. buqueti</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	Macho	si	no
Tir.cb.06	<i>C. buqueti</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	Macho	si	no
Tir.cb.07	<i>C. buqueti</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	?	si	no
tir.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	?	no	si
Tir.cc.02	<i>C. chilensis</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	Macho	si	no
Tir.cc.03	<i>C. chilensis</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	Macho	si	no
Tir.cc.04	<i>C. chilensis</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	Macho	si	no
Tir.cc.05	<i>C. chilensis</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	Macho	si	no
Tir.cc.06	<i>C. chilensis</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	Hembra	si	no
Tir.cc.07	<i>C. chilensis</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	?	si	no
Tir.cm.02	<i>C. magellanicus</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	Hembra	si	no
Tir.cm.03	<i>C. magellanicus</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	Hembra	si	no
Tir.cm.04	<i>C. magellanicus</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	Hembra	si	no
Tir.cm.05	<i>C. magellanicus</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	Hembra	si	no
Tir.cm.06	<i>C. magellanicus</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	Macho	si	no
Tir.cm.07	<i>C. magellanicus</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	Hembra	si	no
Tir.cm.08	<i>C. magellanicus</i>	Tirua	-38.4019	-73.3793	Hembra	si	no
TOL1.cc.01	<i>C. Chilensis</i>	PN Tolhuaca, sitio 1	-38.2109	-71.8129	Macho	si	si
TOL1.cc.02	<i>C. chilensis</i>	PN Tolhuaca, sitio 1	-38.2109	-71.8129	Macho	si	no
TOL1.cc.03	<i>C. chilensis</i>	PN Tolhuaca, sitio 1	-38.2109	-71.8129	Macho	si	no
Tol1.cm.02	<i>C. magellanicus</i>	PN Tolhuaca, sitio 1	-38.2109	-71.8129	?	no	si
Tol2.cb.01	<i>C. buqueti</i>	PN Tolhuaca, sitio 2	-38.222	-71.7504	?	no	si
TOL2.cc.01	<i>C. chilensis</i>	PN Tolhuaca, sitio 2	-38.222	-71.7504	Hembra	si	si
TRA.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Las Trancas	-36.804	-71.6456	Hembra	si	si
TRA.cc.02	<i>C. chilensis</i>	Las Trancas	-36.804	-71.6456	Hembra	si	no
TV.cb.01	<i>C. buqueti</i>	Termas Vergara	-39.5098	-71.8928	Macho	si	no
TV.cb.02	<i>C. buqueti</i>	Termas Vergara	-39.5098	-71.8928	Macho	si	no
TV.cb.03	<i>C. buqueti</i>	Termas Vergara	-39.5098	-71.8928	Macho	si	no
TV.cb.04	<i>C. buqueti</i>	Termas Vergara	-39.5098	-71.8928	Macho	si	no
TV.cb.05	<i>C. buqueti</i>	Termas Vergara	-39.5098	-71.8928	?	si	no
TV.cc.04	<i>C. chilensis</i>	Termas Vergara	-39.5098	-71.8928	Macho	si	no
TV.cc.05	<i>C. chilensis</i>	Termas Vergara	-39.5098	-71.8928	Macho	si	no
TV.cc.06	<i>C. chilensis</i>	Termas Vergara	-39.5098	-71.8928	Hembra	si	no
TV.cc.07	<i>C. chilensis</i>	Termas Vergara	-39.5098	-71.8928	Hembra	si	no
TV.cc.08	<i>C. chilensis</i>	Termas Vergara	-39.5098	-71.8928	?	si	no
TV.cm.01	<i>C. magellanicus</i>	Termas Vergara	-39.5098	-71.8928	?	si	si
TVF.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Termas Vergara	-39.5098	-71.8928	Hembra	si	no



TVF.cc.02	<i>C. chilensis</i>	Termas Vergara	-39.5098	-71.8928	Hembra	si	no
TVF.cc.03	<i>C. chilensis</i>	Termas Vergara	-39.5098	-71.8928	Hembra	si	no
TVF.cc.04	<i>C. chilensis</i>	Termas Vergara	-39.5098	-71.8928	Hembra	si	no
Ale4.cb.05	<i>C. buqueti</i>	PN Alerce Costero, Sitio 4	-40.2063	-73.4129	?	no	si
Lla.cc.01	<i>C. chilensis</i>	Llanquihue	?	?	?	no	si
Mal5.cm.01	<i>C. magellanicus</i>	Malalcahuello	-38.471	-71.576	?	no	si

Definición de la muestra para morfometría geométrica.

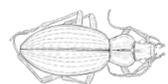
Los individuos aptos para ser usados en morfometría geométrica son todos aquellos que posean imagen ventral con los tarsomeros de las patas pro-torácicas visibles. Se debe poder asegurar la especie y el sexo, aquellos individuos que no posean imágenes y/o no se pueda definir su especie y/o su sexo no serán participantes del estudio.

Del total de 225 individuos, solo 148 individuos son aptos para ser utilizados en morfometría geométrica, de los cuales 40 son individuos de *C. buqueti* (32 machos y 8 hembras), 24 son individuos de *C. darwini* (10 machos y 14 hembras), 19 son individuos de *C. magellanicus* (6 machos y 13 hembras) y 65 son *C. chilensis* (34 machos y 31 hembras). Del total, 84 individuos de la muestra son machos, dejando 66 hembras en la muestra.

Existían ejemplares de *C. suturalis* que podrían haber sido utilizados, sin embargo, debido a su poca cantidad (2 ejemplares en total) se decidieron descartar. Por otro lado, los individuos de *ochsenii* y *guerini* no contaban con imágenes, por lo cual fueron descartados de igual modo. El detalle del número de individuos por especie y localidad se presenta en la tabla 4.

Tabla 4: Cantidad de individuos disponibles para morfometría geométrica en 4 especies de *Ceroglossus* divididos en especie y localidad.

Localidad	<i>C. chilensis</i>	<i>C. buqueti</i>	<i>C. darwini</i>	<i>C. magellanicus</i>
Desconocido	9	0	0	0
Aysén	0	4	0	0
Chaitén	0	2	3	0
Chiloé	2	11	12	0
Contulmo	1	0	0	1
Curacautín	1	0	0	0
Huilo-Huilo	2	0	0	1
Las trancas	2	0	0	0
Los Queules	2	0	0	0



Maitencillo	1	0	0	0
Nahuelbuta	0	0	0	7
Neltume	0	1	0	0
Parque Katalapi	0	2	0	0
PN alerce costero	9	1	7	0
PN Puyehue	0	4	2	0
PN Tolhuaca	4	0	0	0
Pucón	17	6	0	3
Retiro	2	0	0	0
Termas Vergara	8	4	0	0
Tirua	5	5	0	7
TOTAL	65	40	24	19

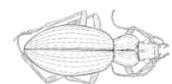
Definición de la muestra para árbol filogenético.

Los individuos aptos para ser usados para crear el árbol filogenético son todos aquellos que posean registrado en base de datos el gen mitocondrial citocromo oxidasa (COI), además se debe poder asegurar la especie del individuo, aquellos individuos que no posean el gen COI y/o no se pueda definir su especie no serán participantes del estudio. Por otro lado, se agregó a la muestra total un individuo de *Calosoma* y otro individuo de *Carabus* como outgroups.

Del total de 225 individuos, solo 86 son aptos para ser utilizados en el árbol filogenético, sumando los individuos outgroups de *Calosoma* y *Carabus*, se obtiene una muestra total de 88 individuos para generar el árbol filogenético. Del total de 86 individuos de *Ceroglossus*, 21 son *C. buqueti*, 32 son *C. chilensis*, 4 son *C. speciosus*, 11 son *C. darwini*, 15 son *C. magellanicus*, 2 son *C. ochsenii* y 1 es *C. guerini*. El detalle del número de individuos por especie y localidad se presenta en la tabla 5.

Tabla 5: Cantidad de individuos de *Ceroglossus* divididos en especie y localidad con información molecular.

Localidad	<i>C. chilensis</i>	<i>C. speciosus</i>	<i>C. darwini</i>	<i>C. magellanicus</i>	<i>C. ochsenii</i>	<i>c. guerini</i>	<i>C. buqueti</i>
PN alerce costero.	1	0	3	0	2	0	2
Aysén	0	0	0	0	0	0	2
Chaitén	0	0	1	0	0	0	2
Chiguayante	1	0	0	0	0	0	0
Chiloé	1	4	5	0	0	0	4

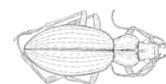


Contulmo	1	0	0	1	0	0	0
Curacautín	4	0	0	0	0	0	0
Huilo-Huilo	1	0	0	3	0	0	1
Coihueco	0	0	0	0	0	0	1
Parque Katalapi	0	0	1	0	0	0	1
Las cabras	0	0	0	1	0	0	0
Llanquihue	1	0	0	0	0	0	0
Los queules	3	0	0	1	0	0	1
Mafil	0	0	0	0	0	1	0
Maitencillo	1	0	0	0	0	0	0
Malalcahuello	4	0	0	2	0	0	0
Nahuelbuta	3	0	0	2	0	0	1
Pucón	2	0	0	3	0	0	4
PN Puyehue	0	0	1	0	0	0	1
Siete tazas	2	0	0	0	0	0	0
retiro	1	0	0	0	0	0	0
San Felipe	1	0	0	0	0	0	0
San pedro	1	0	0	0	0	0	0
Tirua	1	0	0	0	0	0	0
PN Tolhuaca	2	0	0	1	0	0	1
Las Trancas	1	0	0	0	0	0	0
Termas Vergara	0	0	0	1	0	0	0
TOTAL	32	4	11	15	2	1	21

Procedimientos para la obtención de variables de forma

Superposición de Procrustes y matriz de covarianza

Se utilizará el método de superposición de Procrustes por mínimos cuadrados generalizados, con los landmark de cada uno de los especímenes alineados a los ejes principales (coordenadas donde se minimiza la distancia de Procrustes), tal y como se ve en la **Figura n°**. La matriz de covarianza inicial se obtuvo a partir de las coordenadas de Procrustes obtenidas de este grupo de datos, siendo las generadas posteriormente las que sí se analizan a partir del análisis de componentes principales (PCA).



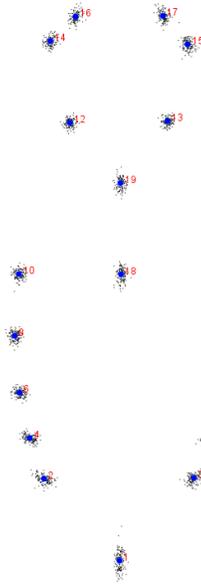


Figura n°19. Gráfico de superposición de Procrustes obtenido de la digitalización de landmarks de las imágenes utilizadas, y por el cálculo de coordenadas de Procrustes realizado por el software MorphoJ (Klingenberg, 2011).

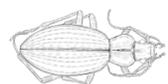
Regresión multivariada

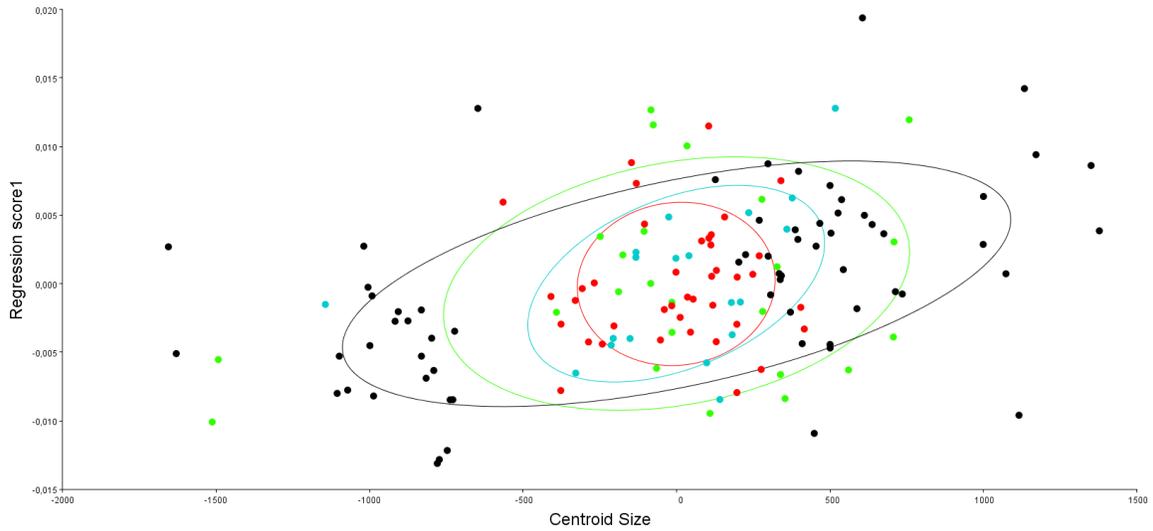
Para descartar variaciones de forma asociadas a alometría, se realizó una regresión multivariada y de ella se obtuvieron los datos residuales, sin variación por alometría. Como variable independiente, se utilizó el tamaño de centroide (obtenido de las coordenadas de Procrustes por el software), y como variable dependiente, se utilizaron las coordenadas de Procrustes (Figura). La regresión se consideró con agrupación de especies (es decir, variaciones explicadas por tamaño de centroide para cada grupo) y sin agrupación de especies (considerando las observaciones como un todo). Para el primer caso, se obtuvo un porcentaje predicho 0.04%, y en el segundo caso, se obtuvo un porcentaje predicho de 1.07%.

Utilizando una prueba de permutación que simula el cambio aleatorio de datos desde la variable dependiente a la independiente (equivalente a la prueba F de Goodall), se testeó la hipótesis nula de independencia de los datos. Como valor P estadístico, se obtuvo un valor de 0.37 para la regresión con agrupación de especies, y un valor P de 0.11 para la regresión sin agrupación de especies (Klingenberg, 2011). Esto permite indicar que la variación de forma explicada por el tamaño no es significativa.

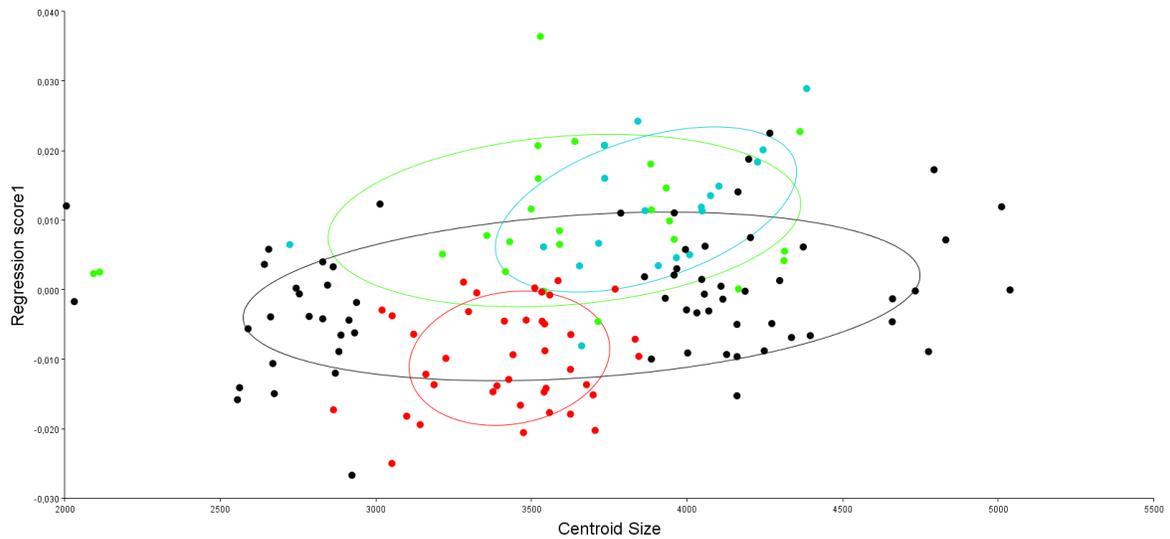
De igual manera, para maximizar la variación de forma, se generó un nuevo set de datos residuales, donde la variación en la forma no se relaciona al tamaño.

A.



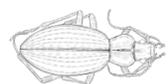


B.



<i>Ceroglossus chilensis</i>	<i>Ceroglossus buqueti</i>	<i>Ceroglossus darwini</i>	<i>Ceroglossus magellanicus</i>
------------------------------	----------------------------	----------------------------	---------------------------------

Figura n°20. Regresión multivariada entre el coeficiente de regresión obtenido de las coordenadas de Procrustes y el tamaño de centroide. A. Regresión multivariada centrada en grupos (agrupación de especies). B. Regresión multivariada sin agrupación de especies. Los elipses engloban la distribución del 60% de la muestra seleccionada, y cada color está asociado a los colores por especie.



Subdivisiones del set de datos inicial

Para evitar la confusión en la interpretación de la variación de la forma geométrica de cada especie con la que es propia de las diferencias entre machos y hembras, se decidió realizar cada resultado (Procrustes, PCA, Procrustes ANOVA y CVA) de componentes principales separando machos y hembras de las cuatro especies estudiadas.

Análisis de componentes principales

Para el análisis de componentes principales, se considerarán los cuatro primeros componentes principales (PC1, PC2, PC3 y PC4). Para interpretar esos los datos, se utilizará la información desplegada por los gráficos bi-ortogonales de componentes principales en relación con los porcentajes de varianza de esos componentes, como también, por la gráfica de alambres que une con líneas los landmarks adyacentes (*wireframe graph*), gráfica que se encuentra orientada en la misma posición que las imágenes (posición ventral y en un eje vertical).

Las interpretaciones de los componentes principales serán descripciones biológicas (en el sentido de que se hacen partir de las estructuras delimitadas por cada landmark) tentativas de las variaciones de forma por especie (delimitado por machos y hembras). Las principales y posibles variaciones morfológicas que serán descritas consideran:

- a) Variación de la forma de la especie en un eje horizontal que se observa como ensanchamiento o agostamiento.
- b) Variación de la forma de la especie en un eje vertical que se observa como alargamiento o acortamiento.

Las estructuras morfológicas implicadas para la interpretación de los resultados son el abdomen como un todo, los tergos que seccionan el abdomen, pterotórax y protórax.

Procrustes ANOVA

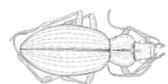
Para evaluar si la variación de forma es significativa, o si más bien se trata de una variación explicada por muestras aleatorias, se ejecutarán dos análisis de la varianza (ANOVA) para machos y hembras por separado, considerando el valor individual para las coordenadas de Procrustes y el tamaño de centroide.

Análisis de variables canónicas (CVA)

Se ejecutará un CVA con el fin de complementar la interpretación de las diferencias de forma en estas cuatro especies de *Ceroglossus*, así como para maximizar las diferencias entre especies en machos y hembras por separado. Utilizando la prueba de permutación disponible en Morphoj se probará hipótesis alternativas de diferencias significativas en distancias de Procrustes. Considerando las diferencias en el espacio de CVA, se analizará cómo este tipo de análisis interpreta la forma a diferencia de PCA, ya sea a partir de su gráfica de ejes, como en el gráfico de alambre.

Metodología construcción de árbol filogenético.

La construcción de un árbol filogenético está dividida en 2 secciones, por un lado, determinar el modelo de sustitución de nucleótidos óptimo para el set de datos, generalmente



mediante un software determinado, y por otro lado la creación del propio árbol por medio de software especializado por medio de múltiples repeticiones.

Determinación de modelo de sustitución de nucleótidos.

Para determinar el modelo más adecuado para elaborar un árbol con Máxima Verosimilitud para las secuencias utilizadas, se utilizó el software JModeltest 2 (Darriba, Taboada, Daollo, & Posada, 2012). Considerando la disponibilidad del modelo de sustitución en Mega 11 y los puntajes de verosimilitud, el modelo seleccionado fue TIM3 + I + G (Tamura, 1992).

Tabla 6. Datos del modelo de sustitución de secuencias seleccionado a partir del software jModeltest 2. a) Variables de configuración para la ejecución del análisis, b) Variables del modelo de sustitución de nucleótidos seleccionado.

a. Configuración		b. Modelo seleccionado	
Versión de PhymI	3.0	Modelo	TIM3+I+G
PhymI binario (específico para el ordenador utilizado)		Partición	012032
Ruta PhymI (específica para el ordenador utilizado)		-lnL	4090.6605
Modelos candidatos	88	K	182
Número de esquemas de sustitución	11	freqA	0.3314
	Incluyendo modelos con frecuencias de bases iguales/desiguales (+F).	freqC	0.1654
	Incluyendo modelos con/sin proporción de sitios invariables (+I)	freqG	0.1076
	Incluyendo modelos con/sin tasa de variación entre sitios (+G) (nCat = 4).	freqT	0.3956
Parámetros libres utilizados (K)	Parámetros de sustitución + 173 + largos de rama + topología	R(a) [AC]	0.4915
		R(b) [AG]	16.4168
Árbol base para cálculos de verosimilitud	Árbol de máxima verosimilitud	R(c) [AT]	1.0000
		R(d) [CG]	0.4915
		R(e) [CT]	8.3034



Operación para búsqueda de topología de árbol	BEST	R(f) [GT]	1.0000
		p-inv	0.5140
		gamma shape	0.6090

Construcción del árbol filogenético.

La inferencia filogenética fue obtenida utilizando el método de Máxima Verosimilitud y el modelo de Tamura de 3 parámetros (Tamura, 1992), generando un árbol consenso con las muestras de 88 secuencias de *Ceroglossus* a partir de 100 réplicas (Felsenstein, 1985). Las ramas que forman parte de particiones reproducidas en menos del 50% de las réplicas no se presentan y son colapsadas. El porcentaje de árboles replicados en los que los taxones asociados en conjunto en 100 réplicas se muestran próximos a las ramas (Felsenstein, 1985). Un árbol inicial para una búsqueda heurística fue construido aplicando algoritmos Neighbor-Join y BioNJ a una matriz de distancias por pares, estimada a partir del modelo de Tamura de 3 parámetros, y luego seleccionando la topología con el logaritmo de valor de verosimilitud superior. Se utilizó una distribución discreta de Gamma para modelar la tasa de diferencias evolutivas entre sitios (5 categorías (+G, parámetro = 0.2534)). La tasa de modelo de variación permitió que algunos sitios fueran evolutivamente invariables (+I, para el 32.72% de los sitios). Este análisis involucró 88 secuencias de ADN. Hubo un total de 680 posiciones en el set final de datos. Los análisis evolutivos fueron hechos en MEGA 11 (Tamura, Stecher, & Kumar, 2021).

Comparación y relación entre resultados de morfometría geométrica y análisis filogenético

La comparación y relación entre ambas metodologías será principalmente descriptiva, analizando las relaciones filogenéticas entre *Ceroglossus chilensis*, *Ceroglossus buqueti*, *Ceroglossus darwini*, y *Ceroglossus magellanicus*, y cómo pueden relacionarse con las diferencias en variación de forma entre *Ceroglossus buqueti*, *Ceroglossus chilensis*, *Ceroglossus magellanicus*, *Ceroglossus darwini*. Se utilizarán las siguientes preguntas guía para generar tal comparación:

1. ¿Qué evidencia proporciona para la clasificación e identificación de especies?
2. ¿Qué tan equiparables son los propósitos de cada tipo de análisis?
3. ¿Cuáles son las ventajas y desventajas de utilizar caracteres morfo-geométricos y moleculares?



Resultados

Morfometría geométrica

Procrustes ANOVA

Los valores P para machos y hembras en Procrustes ANOVA de las coordenadas de Procrustes (es decir, que representan la variación de forma) son menores a 0.0001, pudiendo rechazar la hipótesis nula de variación de forma obtenida por azar. Para el ANOVA de diferencias explicadas por tamaño de centroide, los valores fueron mayores a 0.05, pudiendo aceptar la hipótesis nula de variaciones en tamaño explicadas por azar. Considerando que se utilizan datos residuales que no consideran la variación en forma por alometría, esto puede resultar evidente, pero se debe recordar que los test de permutación también arrojan valores p mayores a 0.05, descartando por completo en esta muestra las variaciones de forma por alometría.

Luego de aplicar esta prueba, así como la realización de una regresión multivariada, el valor no significativo que está asociado a alometría no se considera para el análisis de componentes principales (PCA).

Tabla 7. Procrustes ANOVA para hembras

Tamaño de centroide							
Efecto	SS	MS	df	F	P		
Individual	1426131,96	475377,3199	3	0,88	0,45		
Residual	33578006,53	541580,7505	62				
Forma, Procrustes ANOVA							
Efecto	SS	MS	df	F	P	Pillai tr.	P
Individual	0,01502476	0,000147302	102	6.57	<.0001	2,2	<.0001
Residual	0,04723352	2,24068E-05	2108				

Tabla 8. Procrustes ANOVA para machos.

Tamaño de centroide					
Efecto	SS	MS	df	F	P



Individual	962932,8995	320977,6332	3	1,33		0,2692	
Residual	18757288,51	240478,0578	78				
Forma, Procrustes ANOVA							
Efecto	SS	MS	df	F	P	Pillai tr.	P
Individual	0,00985407	9,66086E-05	102	4,15	<.0001	1,98	<.0001
Residual	0,06175675	2,32869E-05	2652				

Análisis de componentes principales.

PCA hembras

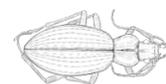
El análisis de componentes principales, teniendo ya en cuenta la variación significativa de la forma geométrica entre las hembras de las especies consideradas, puede visualizarse con el fin de describir morfotipos y/o patrones de forma que permitan delimitar una especie sobre otra. En el caso de las hembras, la variación del abdomen se puede visualizar de manera relativamente simple, incluso si se ajusta la escala a puntajes de componente principal para no exagerar la representación visual de los morfotipos (**Figura n° 21**).

Vale la pena mencionar que, si se intenta asociar cada especie a intervalos de valor en la variación de forma, sería complejo delimitar de manera exacta a cada especie, ya que existen individuos que pueden tener la misma variación en un componente, a pesar de ser especies distintas. La especie más “ambigua” en ese sentido, sería *Ceroglossus chilensis*, especie que se distribuye de manera entremezclada con *Ceroglossus buqueti*. Cabe destacar, de todas formas, que independiente de la “ambigüedad”, si se consideran los cuatro primeros componentes principales en machos y hembras, ninguna especie toma exactamente los mismos valores.

La figura n°

Ceroglossus buqueti

El componente principal n°1, que permite explicar, aproximadamente, un 37% de la variación en la forma, se caracteriza por un acortamiento y ensanchamiento en la zona abdominal, desde los landmarks 1 hasta el 6. En el componente principal n°2, que explica, aproximadamente, un 24% de la variación en la forma, y se caracteriza por un adelgazamiento del abdomen y tórax, así como un alargamiento del pronoto. En el componente principal n°3, que explica, aproximadamente, un 11% de la variación en la forma, y se caracteriza por un alargamiento leve y generalizado, desde el pronoto hasta el abdomen, pero acortándose en la zona del pigidio. En el componente principal n°4, que explica, aproximadamente, un 10% de la variación en la forma, y se caracteriza por un adelgazamiento leve de la zona torácica, así como un alargamiento leve en el pronoto.



Ceroglossus chilensis

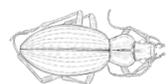
El componente principal n°1, que permite explicar, aproximadamente, un 26% de la variación en la forma, se caracteriza por un acortamiento en la zona abdominal, un leve adelgazamiento en la zona torácica y un alargamiento superior en el pronoto. El componente principal n°2, que explica, aproximadamente, un 13% de la variación en la forma, se caracteriza por un ensanchamiento abdominal que va disminuyendo hasta llegar a la zona torácica, y en la zona del pronoto, existe un acortamiento. En el componente principal n°3, que explica, aproximadamente, un 12% de la variación en la forma, hay un adelgazamiento muy débil desde el tórax hasta el abdomen, y el pronoto se encuentra muy levemente alargado (es muy poco notorio). En el componente principal n°4, que explica, aproximadamente, un 10% de la variación en la forma, lo más característico y notorio es el leve ensanchamiento y alargamiento inferior del pronoto.

Ceroglossus magellanicus

El componente principal n°1, que permite explicar, aproximadamente, un 39% de la variación en la forma, se caracteriza por alargamiento del abdomen hasta el 4to tergo visible, desde donde se aprecia un acortamiento hacia el pigidio, leve adelgazamiento en pterotórax y alargamiento de pterotórax. El componente principal n°2, que explica aproximadamente un 12% de la variación en la forma, se caracteriza por un leve adelgazamiento y acortamiento del pterotórax y protórax, ambas variaciones difícilmente perceptibles. El componente principal n°3, que explica, aproximadamente, un 11% de la variación en la forma, se caracteriza por un adelgazamiento del abdomen y un alargamiento del pronoto. El componente principal n°4, que explica, aproximadamente, un 8% de la variación en la forma, se caracteriza por un adelgazamiento y acortamiento leve del pronoto.

Ceroglossus darwini

El componente principal n°1, que permite explicar, aproximadamente, un 27% de la variación en la forma, se caracteriza por un ensanchamiento en la zona abdominal y acortamiento y adelgazamiento leve del pronoto. El componente principal n°2, que explica aproximadamente un 17% de la variación en la forma, se caracteriza por un alargamiento de los 3 primeros tergos abdominales visibles y un ligero acortamiento y adelgazamiento del pronoto, difícilmente perceptible. En el componente principal n°3, que explica aproximadamente un 11% de la variación en la forma, se puede observar un acortamiento de los primeros 2 tergos abdominales, alargamiento de los tergos abdominales 3 y 4, acortamiento de pterotórax y acortamiento en pronoto. El componente principal n°4, que explica aproximadamente un 10% de la variación en la forma, se caracteriza por alargamiento de pronoto y un alargamiento leve (difícilmente perceptible) del abdomen desde el 3er tergo visible hasta el pigidio.



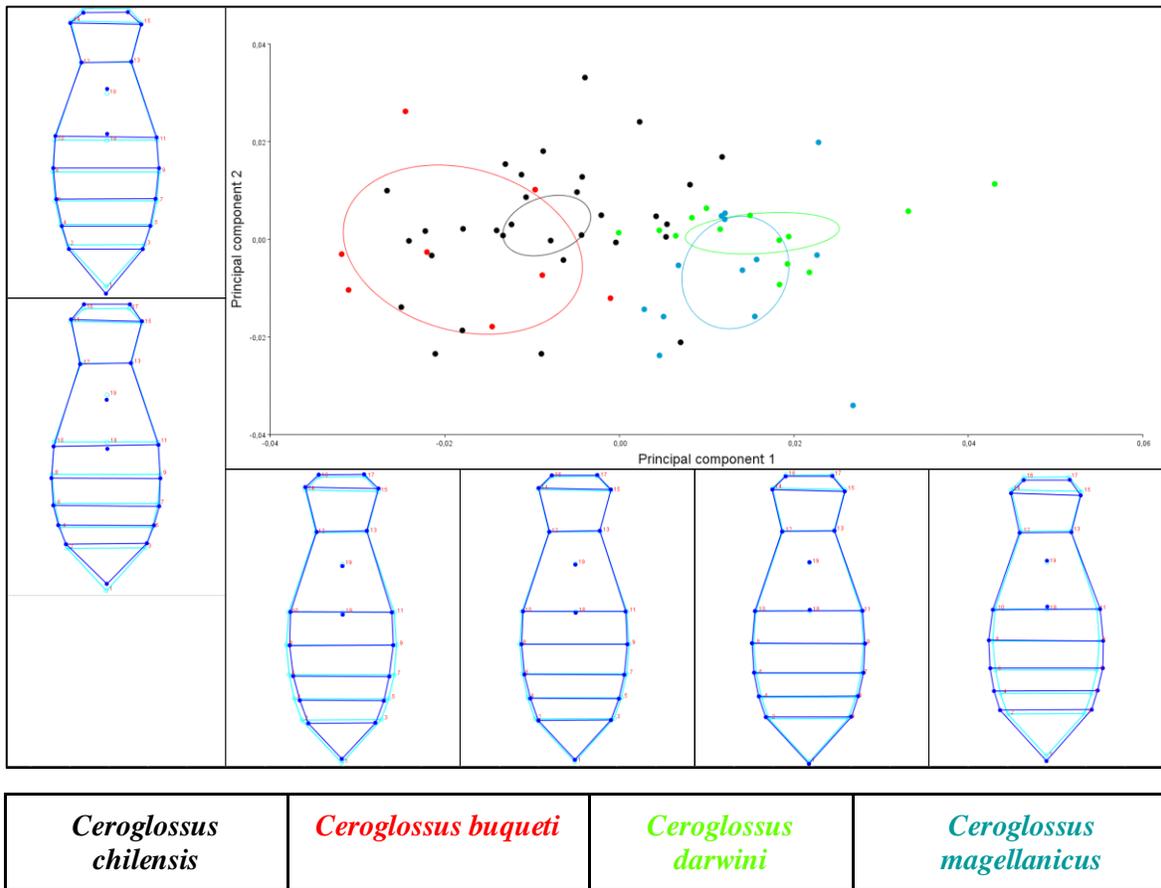
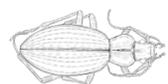
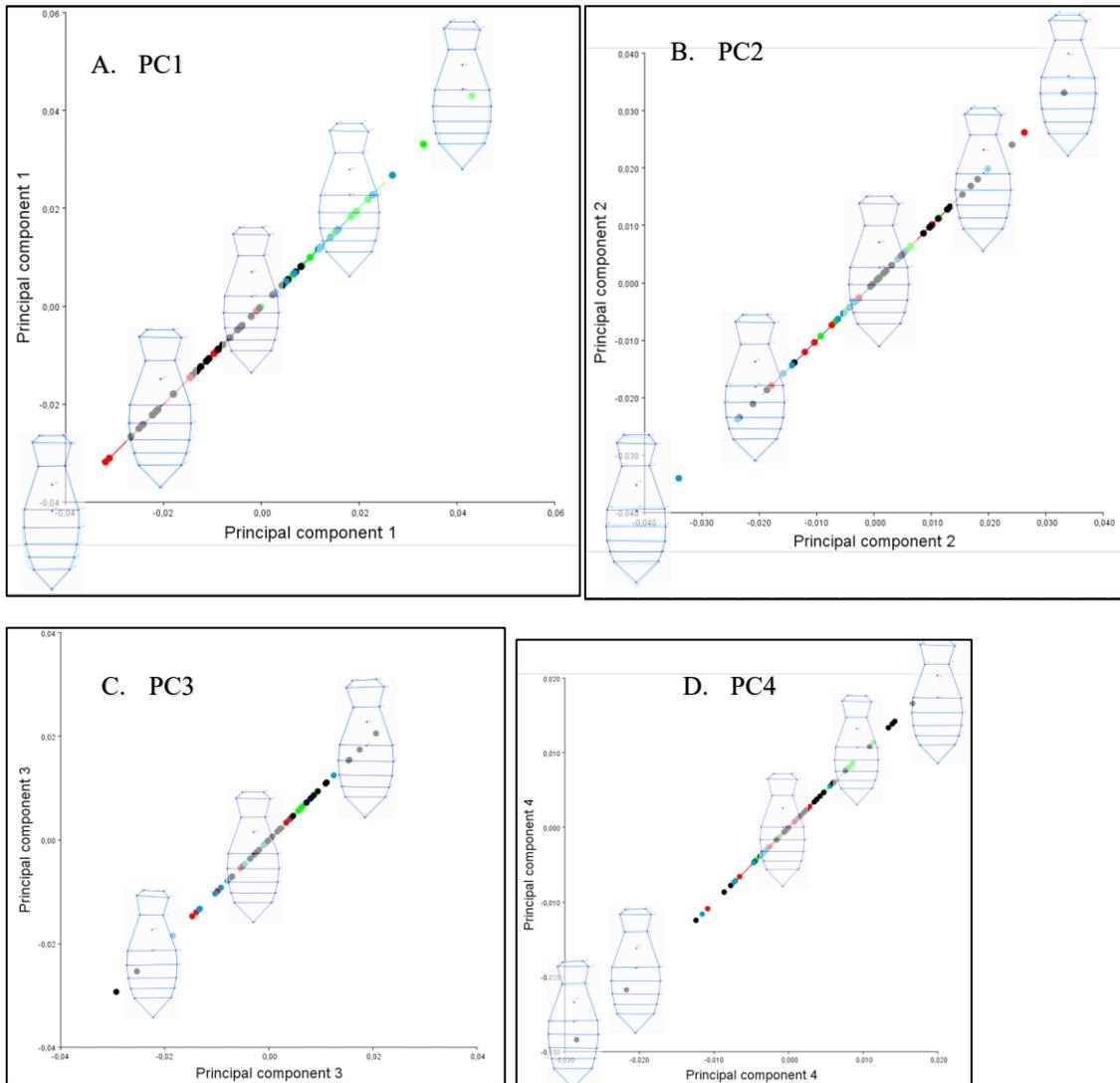


Figura n°21. Variación de forma de los componentes principales 1 y 2 de hembras de las especies *Ceroglossus chilensis*, *Ceroglossus buqueti*, *Ceroglossus darwini* y *Ceroglossus magellanicus*. Bajo los ejes de los componentes principales, se presenta el gráfico de forma de alambre para representar la variación según cada valor.



Variación por PC



<i>C. magellanicus</i>	<i>C. buqueti</i>	<i>C. darwini</i>	<i>C. chilensis</i>
------------------------	-------------------	-------------------	---------------------

Figura n°22. Gráficos de PCA individuales, para los componentes principales 1, 2, 3 y 4 en hembras de las especies *Ceroglossus chilensis*, *Ceroglossus buqueti*, *Ceroglossus darwini* y *Ceroglossus magellanicus*. Los gráficos de estructura de alambre están alineados en puntajes de PC, representando los cambios en la forma según el valor.

Tabla 9. Porcentajes de varianza para PC1, PC2, PC3 y PC4 de *Ceroglossus buqueti* (83,13% de la variación de forma) y *Ceroglossus chilensis* (62,68% de la variación de forma). Cada componente principal tiene asociado un gráfico con estructura de alambre, ajustando escala a valores aproximados a los mayores puntajes de componente principal obtenidos (0.5).



<i>Ceroglossus buqueti</i>	% Varianza de PC1	% Varianza de PC2	% Varianza de PC3	% Varianza de PC4
% PC1+PC2+PC3+PC4	37,121	24,041	11,325	10,675
83,13%				
<i>Ceroglossus chilensis</i>	% Varianza de PC1	% Varianza de PC2	% Varianza de PC3	% Varianza de PC4
% PC1+PC2+PC3+PC4	26,161	13,604	12,736	10,267
62,68%				

Tabla 10. Porcentajes de varianza para los PC1, PC2, PC3 y PC4 e hembras de *Ceroglossus darwini* (67,55% de la variación de forma) y *Ceroglossus magellanicus* (72,86% de la variación de forma). Cada componente principal tiene asociado un gráfico con estructura de alambre, ajustando escala a valores aproximados a los mayores puntajes de componente principal obtenidos (0.5).

<i>Ceroglossus darwini</i>	% Varianza de PC1	% Varianza de PC2	% Varianza de PC3	% Varianza de PC4
% PC1+PC2+PC3+PC4	27,111	17,378	11,981	11,285
67,55%				
<i>Ceroglossus magellanicus</i>	% Varianza de PC1	% Varianza de PC2	% Varianza de PC3	% Varianza de PC4
% PC1+PC2+PC3+PC4	39,833	12,977	11,468	8,859
72,86%				



PCA machos

En el caso de machos, el análisis de componentes principales es el siguiente.

Ceroglossus buqueti

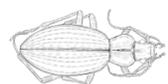
El componente principal n°1, que permite explicar, aproximadamente, un 24% de la variación en la forma, se caracteriza por un adelgazamiento del abdomen y un alargamiento de los 4 primeros tergos abdominales, desde donde hay acortamiento hasta el pigidio, además de un adelgazamiento del pterotórax y un alargamiento del pronoto. El componente principal n°2 que explica aproximadamente un 18% de la variación en la forma, se caracteriza por alargamiento de los tergos 3, 4 y 5 abdominales, con un leve adelgazamiento de pterotórax, además de adelgazamiento y alargamiento de pronoto. El componente principal n°3, que explica aproximadamente un 12% de la variación en la forma, se caracteriza por un alargamiento de los tergos 3 y 4 del abdomen y un adelgazamiento de pterotórax y tórax. El componente principal n°4, que explica aproximadamente un 6% de la variación en la forma, se caracteriza por acortamiento de los tergos 1 y 2, leve adelgazamiento del abdomen y leve acortamiento de pronoto.

Ceroglossus chilensis

El componente principal n°1, que permite explicar, aproximadamente, un 29% de la variación en la forma, se caracteriza por adelgazamiento de pronoto, pterotórax y abdomen, acortamiento de los tergos abdominales 1, 2 y 3, alargamiento de tergo abdominal número 5 y acortamiento de pronoto. El componente principal n°2, que explica aproximadamente un 16% de la variación en la forma, se caracteriza por adelgazamiento de abdomen y pterotórax, alargamiento de tergos 1 y 2 del abdomen, acortamiento de los tergos 4 y 5 abdominales y leve alargamiento de pronoto. El componente principal n°3, que explica aproximadamente un 12% de la variación en la forma, se caracteriza por leve alargamiento de tergos 3 y 4 del abdomen, acortamiento de tergo 5 abdominal, leve ensanchamiento del pterotórax y acortamiento de pronoto. En el componente principal n°4, que explica, aproximadamente, un 9% de la variación en la forma, lo más característico y notorio es el leve acortamiento de pronoto, ensanchamiento de pterotórax y leve alargamiento de abdomen hasta tergo 5, el cual es acortado.

Ceroglossus magellanicus

El componente principal n°1, que permite explicar, aproximadamente, un 37% de la variación en la forma, se caracteriza por un acortamiento y ensanchamiento en la zona abdominal, desde los landmarks 1 hasta el 6. En el componente principal n°2, que explica, aproximadamente, un 24% de la variación en la forma, y se caracteriza por un adelgazamiento del abdomen y tórax, así como un alargamiento del pronoto. En el componente principal n°3, que explica, aproximadamente, un 11% de la variación en la forma, y se caracteriza por un alargamiento leve y generalizado, desde el pronoto hasta el abdomen, pero acortándose en la zona del pigidio. En el componente principal n°4, que explica, aproximadamente, un 10% de la variación en la forma, y se caracteriza por un adelgazamiento leve de la zona torácica, así como un alargamiento leve en el pronoto.



Ceroglossus darwini

El componente principal n°1, que permite explicar, aproximadamente, un 37% de la variación en la forma, se caracteriza por un acortamiento y ensanchamiento en la zona abdominal, desde los landmarks 1 hasta el 6. En el componente principal n°2, que explica, aproximadamente, un 24% de la variación en la forma, y se caracteriza por un adelgazamiento del abdomen y tórax, así como un alargamiento del pronoto. En el componente principal n°3, que explica, aproximadamente, un 11% de la variación en la forma, y se caracteriza por un alargamiento leve y generalizado, desde el pronoto hasta el abdomen, pero acortándose en la zona del pigidio. En el componente principal n°4, que explica, aproximadamente, un 10% de la variación en la forma, y se caracteriza por un adelgazamiento leve de la zona torácica, así como un alargamiento leve en el pronoto.

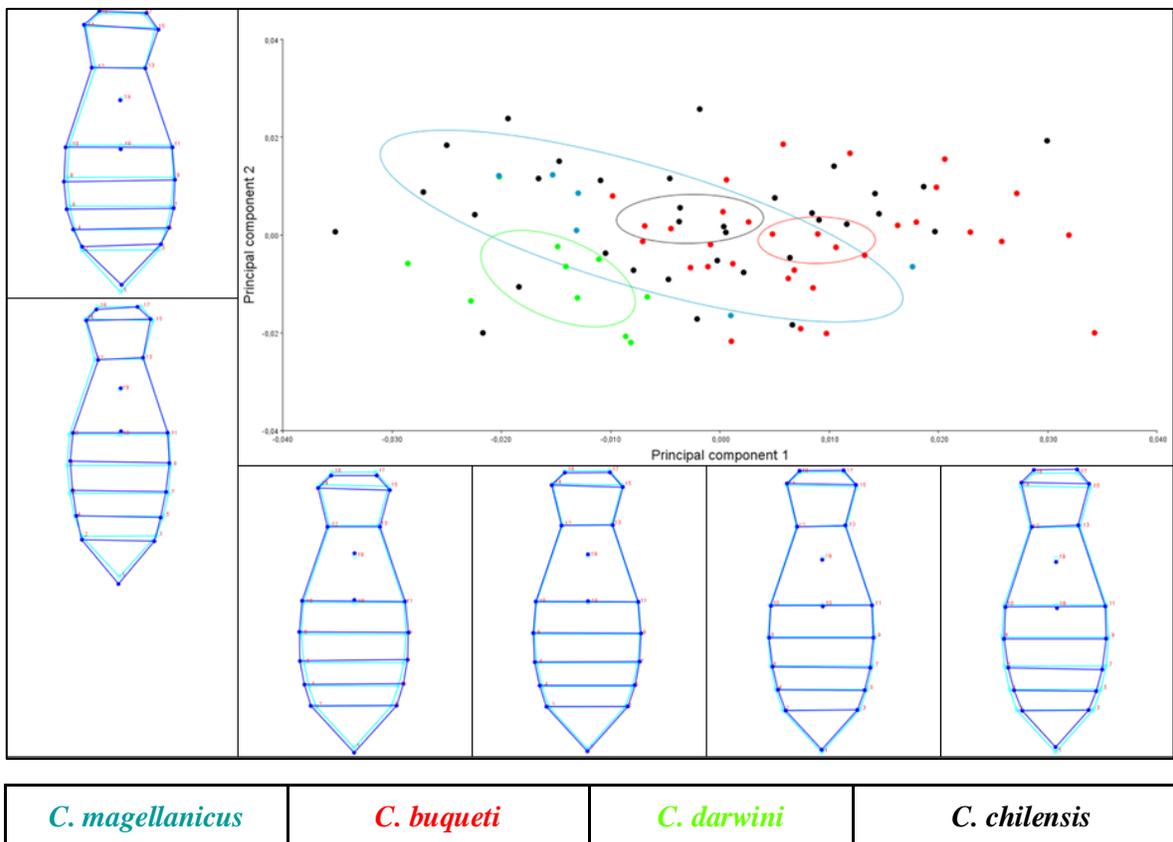


Figura n° 23. Variación de forma de los componentes principales 1 y 2 en machos de las especies *Ceroglossus chilensis*, *Ceroglossus buqueti*, *Ceroglossus darwini* y *Ceroglossus magellanicus*. Bajo los ejes de los componentes principales, se presenta el gráfico de forma de alambre para representar la variación según cada valor.

Variación por PC en machos



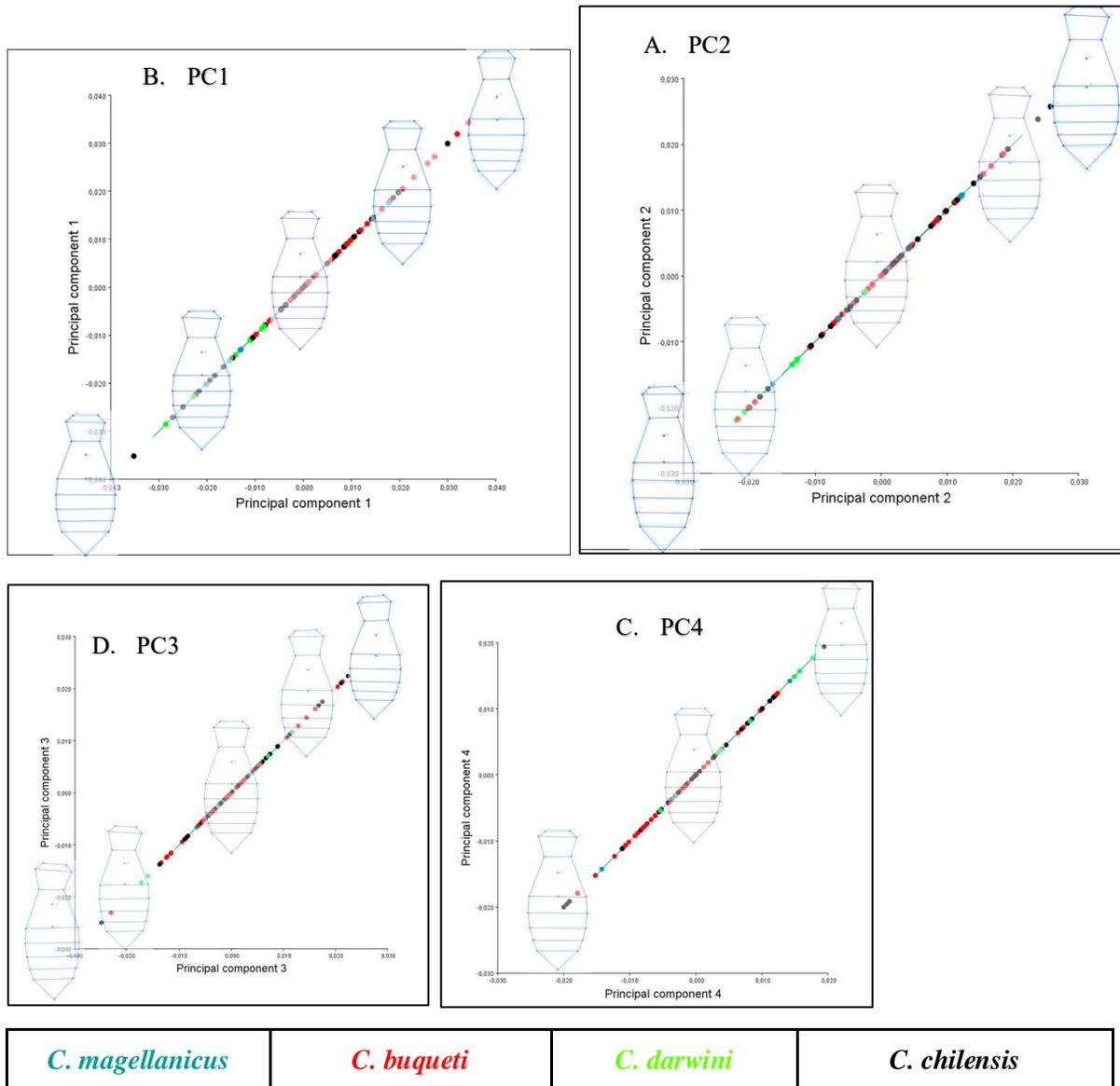
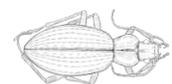


Figura n°24. Gráficos de PCA individuales, para los componentes principales 1, 2, 3 y 4 en machos de las especies *Ceroglossus chilensis*, *Ceroglossus buqueti*, *Ceroglossus darwini* y *Ceroglossus magellanicus*. Los gráficos de estructura de alambre están alineados en puntajes de PC, representando los cambios en la forma según el valor.

Tabla 11. Porcentajes de varianza para los PC1, PC2, PC3 y PC4 e hembras de *Ceroglossus darwini* (67,55% de la variación de forma) y *Ceroglossus magellanicus* (72,86% de la variación de forma). Cada componente principal tiene asociado un gráfico con estructura de alambre, ajustando escala a valores aproximados a los mayores puntajes de componente principal obtenidos (0.5).



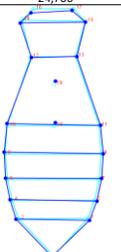
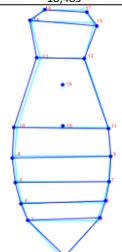
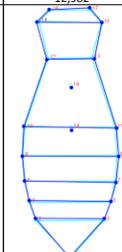
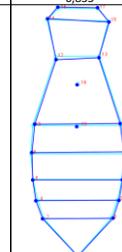
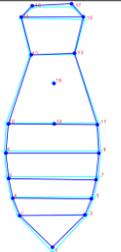
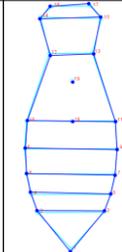
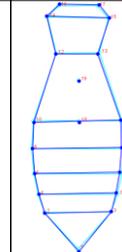
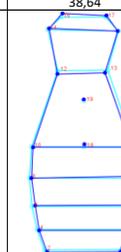
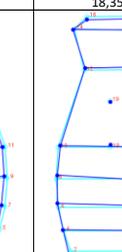
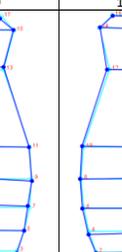
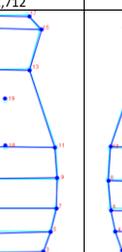
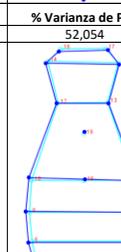
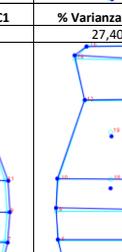
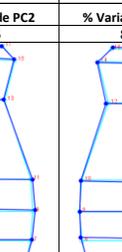
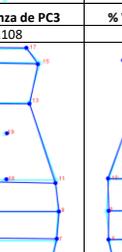
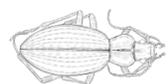
<i>Ceroglossus buqueti</i>	% Varianza de PC1	% Varianza de PC2	% Varianza de PC3	% Varianza de PC4
	24,766	16,489	12,982	6,833
% PC1+PC2+PC3+PC4				
63,069				
<i>Ceroglossus chilensis</i>	% Varianza de PC1	% Varianza de PC2	% Varianza de PC3	% Varianza de PC4
	29,783	16,045	12,463	9,122
% PC1+PC2+PC3+PC4				
67,413				

Tabla 12. Porcentajes de varianza para los PC1, PC2, PC3 y PC4 e hembras de *Ceroglossus darwini* (67,55% de la variación de forma) y *Ceroglossus magellanicus* (72,86% de la variación de forma). Cada componente principal tiene asociado un gráfico con estructura de alambre, ajustando escala a valores aproximados a los mayores puntajes de componente principal obtenidos (0.5).

<i>Ceroglossus darwini</i>	% Varianza de PC1	% Varianza de PC2	% Varianza de PC3	% Varianza de PC4
	38,64	18,359	12,712	8,512
% PC1+PC2+PC3+PC4				
78,223				
<i>Ceroglossus magellanicus</i>	% Varianza de PC1	% Varianza de PC2	% Varianza de PC3	% Varianza de PC4
	52,054	27,406	8,108	7,313
% PC1+PC2+PC3+PC4				
94,882				

Análisis de variables canónicas.

El CVA permite, en este caso, validar diferencias morfológicas observadas en PCA en machos y hembras de *Ceroglossus* para las especies *Ceroglossus chilensis*, *Ceroglossus buqueti*,



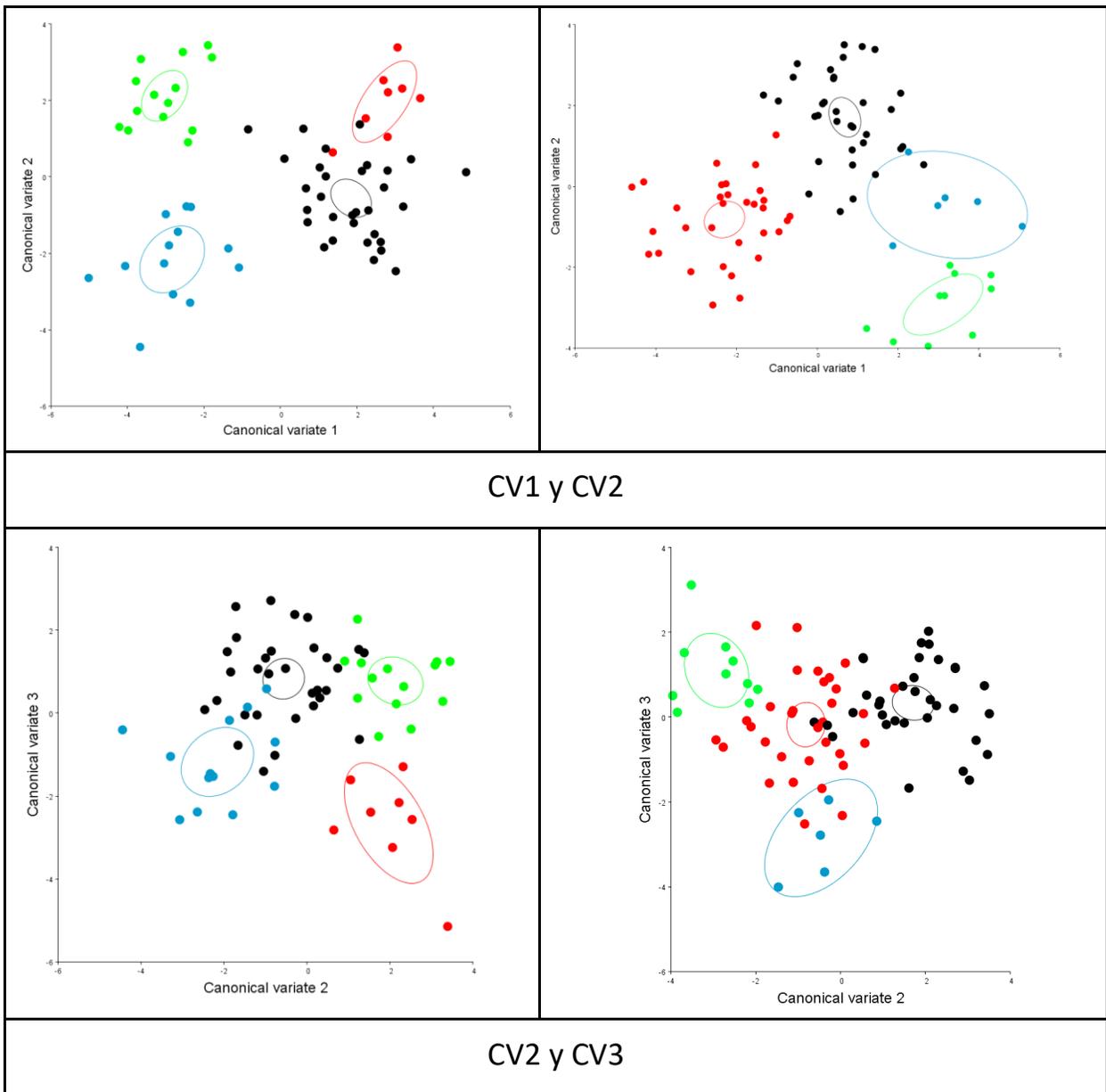
Ceroglossus darwini y *Ceroglossus magellanicus*. Tales diferencias se pueden observar gráficamente en la separación de los grupos distribuidos en un plano (el cual no es ortogonal, como en PCA), pero teniendo en cuenta que una especie puede tomar valores positivos en PCA y negativos en CVA, sin necesidad de coincidir. En la Figura, se observa la distribución de los grupos para CV1, CV2 y CV3, y en la Tabla, las variaciones de forma asociadas a cada valor. A partir de las pruebas de permutación, la gran mayoría de distancias entre grupos maximizadas por el CVA son estadísticamente significativas, a excepción de las hembras de *Ceroglossus magellanicus* y *Ceroglossus chilensis*.

Al igual que en PCA, las variaciones de hembras y machos también confirman lo descrito morfológicamente. En hembras, se puede interpretar la forma de *Ceroglossus chilensis* como una con adelgazamiento en el pterotórax, protórax y tergos abdominales superiores, así como ensanchamiento de tergos abdominales inferiores. Para *Ceroglossus buqueti*, existe adelgazamiento en pterotórax y tergos abdominales superiores, así como ensanchamiento de protórax y alargamiento de tergos abdominales inferiores. Para *Ceroglossus darwini*, hay adelgazamiento de pterotórax y tergos abdominales superiores, como también ensanchamiento de tergos abdominales inferiores y protórax. Para *Ceroglossus magellanicus*, hay ensanchamiento generalizado en el abdomen y pterotórax, pero adelgazamiento en el protórax.

En machos, se puede interpretar la forma de *Ceroglossus chilensis* con un leve ensanchamiento en los tergos abdominales inferiores y el protórax, así como un pterotórax que no adelgaza como en hembras. Para *Ceroglossus buqueti* existe adelgazamiento y alargamiento de los tergos abdominales inferiores, un ligero ensanchamiento de los tergos abdominales superiores, y un ensanchamiento de protórax similar al de *Ceroglossus chilensis*. Para *Ceroglossus darwini*, hay ensanchamiento y alargamiento de los tergos abdominales inferiores, como también un ensanchamiento del protórax y adelgazamiento de los tergos abdominales superiores. Para *Ceroglossus magellanicus*, hay ensanchamiento generalizado en el abdomen, que se reduce en el pterotórax, además, hay un ligero alargamiento en el protórax.

a. Hembras	b. Machos
-------------------	------------------



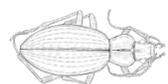


<i>C. magellanicus</i>	<i>C. buqueti</i>	<i>C. darwini</i>	<i>C. chilensis</i>
------------------------	-------------------	-------------------	---------------------

Figura n°25. Análisis de variación canónica de coordenadas de Procrustes para las especies analizadas de *Ceroglossus*. a) Hembras. b) Machos.

Tabla 13. Comparación de variaciones en la forma de *Ceroglossus* en CV 1, 2 y 3, en escala de valores positivos y negativos en hembras.

CV1	CV2	CV3
-----	-----	-----



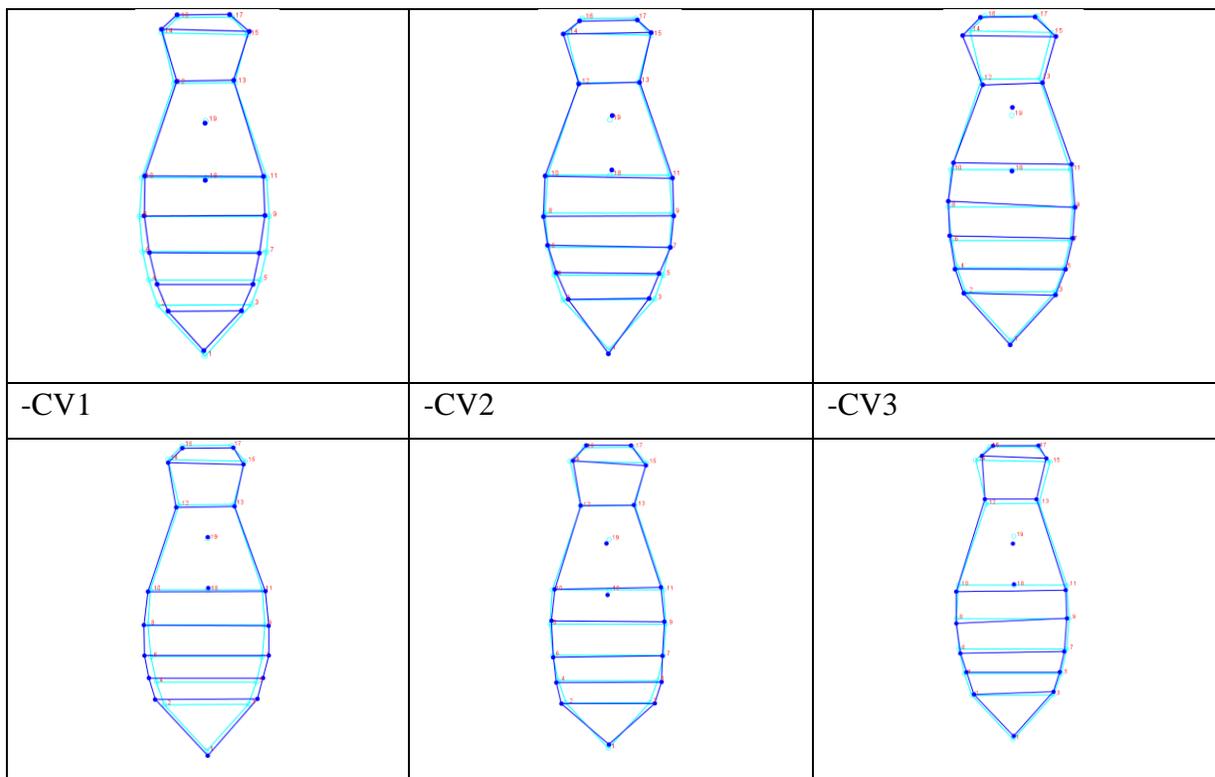


Tabla 14. Comparación de variaciones en la forma de *Ceroglossus* en CV 1, 2 y 3, en escala de valores positivos y negativos en machos.

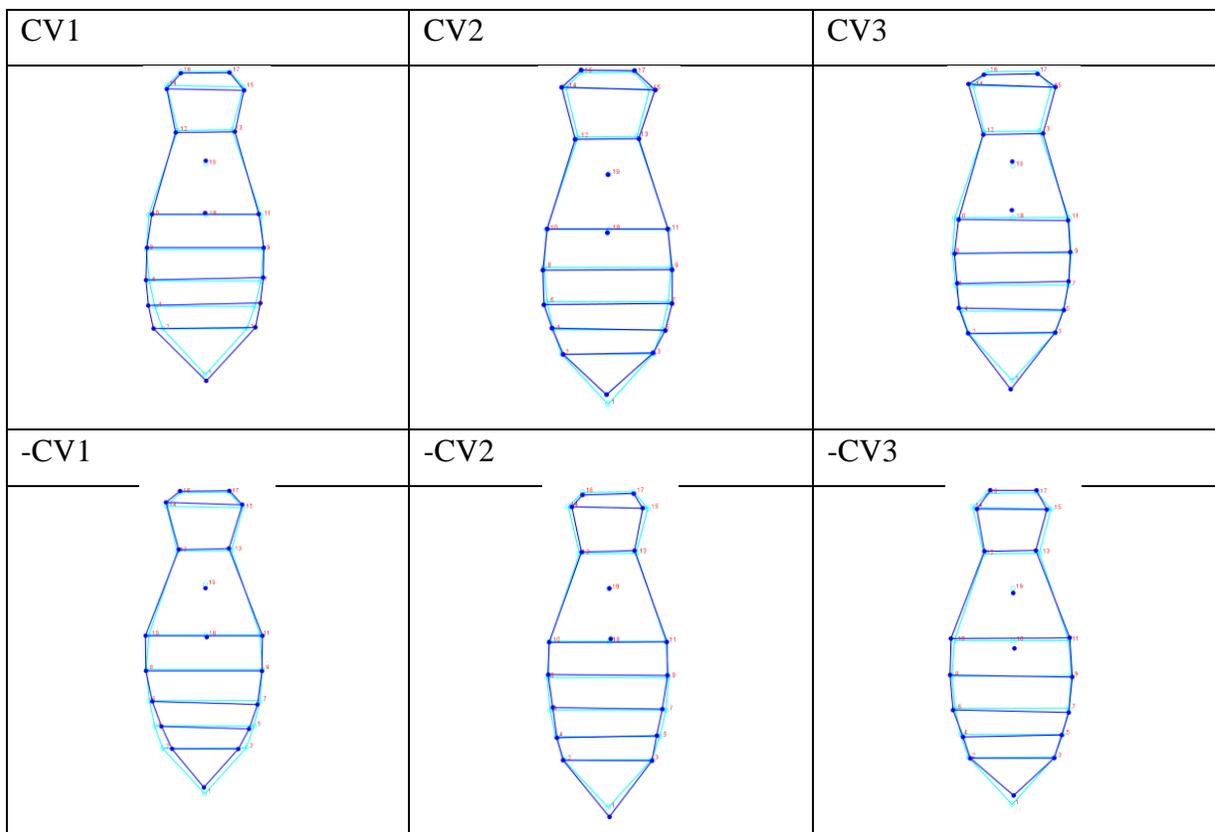


Tabla 15. Valores P para las pruebas de permutación de distancias de Procrustes en machos.

	<i>Ceroglossus buqueti</i>	<i>Ceroglossus chilensis</i>	<i>Ceroglossus darwini</i>
<i>Ceroglossus chilensis</i>	0,0060		
<i>Ceroglossus darwini</i>	<.0001	<.0001	
<i>Ceroglossus magellanicus</i>	0,0001	<.0001	0,0010

Tabla 16. Valores P para las pruebas de permutación de distancias de Procrustes en machos.

	<i>Ceroglossus buqueti</i>	<i>Ceroglossus chilensis</i>	<i>Ceroglossus darwini</i>
<i>Ceroglossus chilensis</i>	<.0001		
<i>Ceroglossus darwini</i>	<.0001	0,0002	
<i>Ceroglossus magellanicus</i>	0,0031	0,4127	0,0522

Análisis filogenético

Los resultados del análisis filogenético sustentan con un Bootstrap mayor al 50% a los grupos monofiléticos propuestos por Jiroux (2006), donde se encuentran los grupos *Ceroglossus chilensis*, *Ceroglossus buqueti*, *Ceroglossus suturalis*, y *Ceroglossus darwini* en ambos árboles, no así las relaciones entre especies, la cuales difieren en cada árbol. En el árbol elaborado por Neighbor-Joining, *Ceroglossus chilensis* es grupo hermano de *Ceroglossus buqueti* + *Ceroglossus suturalis* (con un soporte de Bootstrap de 66%), mientras que, en el árbol elaborado por Máxima Verosimilitud, *Ceroglossus chilensis* es grupo hermano de los dos anteriores + *Ceroglossus darwini* (con un soporte de Bootstrap < 50%).

El grupo *Ceroglossus chilensis*, en cada árbol existe una bifurcación inicial con un soporte de bootstrap del 100%, y en cada caso hay un grupo bien definido con un soporte de bootstrap de 71 y 60%, respectivamente para el árbol de NJ y el de ML.

El grupo *Ceroglossus buqueti*, también existe una bifurcación inicial con un soporte de bootstrap del 100%, como también la separación de dos grupos monofiléticos con soportes de bootstrap mayores al >50%.



El grupo *Ceroglossus darwini*, en ambos árboles, no presenta monofilia recíproca para las especies *Ceroglossus magellanicus* y *Ceroglossus darwini*, pero sí para *Ceroglossus speciosus* (esta última con un soporte de Bootstrap de 74%).

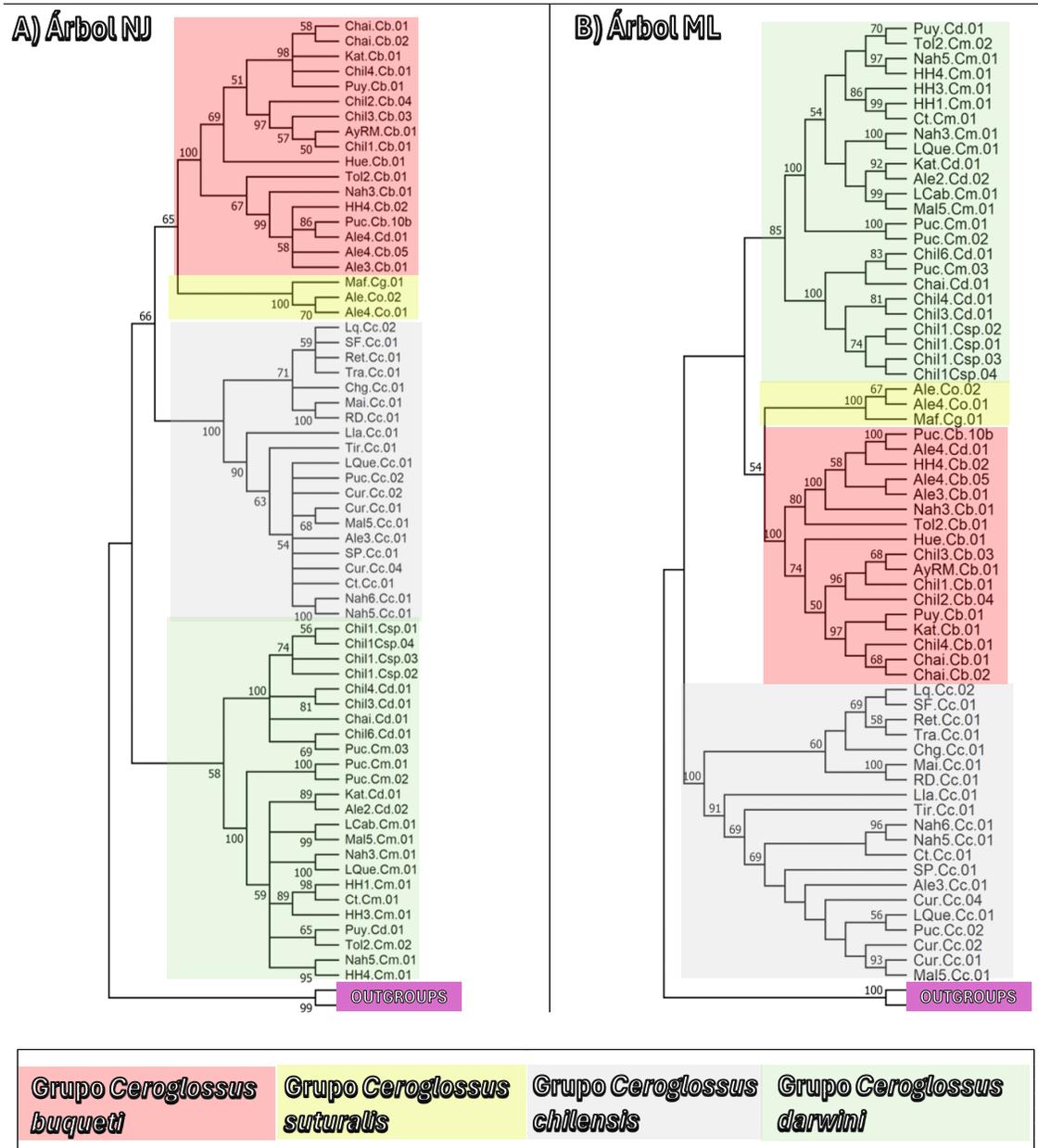


Figura n°26. Análisis filogenético de fragmento de gen COI, por método de Neighbor-Joining (A), y Máxima Verosimilitud (B), para las especies *Ceroglossus chilensis*, *Ceroglossus buqueti*, *Ceroglossus darwini*, *Ceroglossus magellanicus*, *Ceroglossus speciosus*, *Ceroglossus oschenii* y *Ceroglossus guerini*. Los porcentajes de Bootstrap mayores al 50%, se destacan con color rojo. Los colores de fondo se basan



en los linajes basados en morfología propuestos por Jiroux (2006), con los grupos: *Ceroglossus chilensis* (gris), *Ceroglossus darwini* (verde), *Ceroglossus buqueti* (rojo) y *Ceroglossus suturalis* (amarillo).

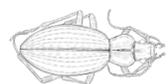
Comparación entre resultados de morfometría geométrica y análisis filogenético

¿Qué evidencia proporciona para la clasificación e identificación de especies?

La morfometría geométrica establece evidencias de variación de forma de *Ceroglossus*, las cuales pueden llegar a ser muy concretas, al haberse aplicado landmarks que están situados en estructuras bien definidas (tergos abdominales, pterotórax y protórax). Su mayor ventaja, además de proporcionar representaciones visuales útiles para el análisis de la morfología, es la capacidad de cuantificar tales variaciones, reduciendo la subjetividad de “qué significa que *Ceroglossus* posea un adelgazamiento abdominal”, al existir un porcentaje de variación asociado a cada componente principal y/o variable canónica. Con el uso de estadística como ANOVA o la prueba de permutación de la regresión multivariada, es posible no sólo representar la variación de forma, sino que también descartar que esa variación es azarosa, como también que puede darse por variaciones en el tamaño (que, por la definición formal de forma en morfometría geométrica, no puede formar parte de esa variación).

Para la clasificación de especies en un grupo taxonómico, como para su identificación taxonómica, la morfometría geométrica puede hacer un análisis riguroso de caracteres, siempre y cuando estos sean seleccionados a partir de la base teórica de la sistemática, considerando homologías y significado biológico.

El análisis filogenético molecular, si bien puede resultar mucho más abstracto en el despliegue de sus resultados, es mucho más preciso en diferenciar las relaciones entre grupos. A diferencia de la morfometría geométrica, va más allá de un modelaje de la variación a partir de muestras tomadas, también utiliza la inferencia matemática de parámetros de cambio evolutivo, pudiendo dar cuenta de mucha mayor información respecto a cómo evolutivamente existe diferenciación entre grupos.



¿Qué tan equiparables son los propósitos de cada tipo de análisis?

La morfometría geométrica, en este caso, estaba alineada a un propósito que entraría dentro de la sistemática, pero no necesariamente se utiliza comúnmente para ello, distinto a los análisis filogenéticos moleculares, donde prácticamente todo su propósito se incluye dentro de la sistemática (aunque no coincida con otras áreas como la fenética o la sistemática evolutiva).

¿Cuáles son las ventajas y desventajas de utilizar caracteres morfo-geométricos y moleculares?

Para este caso, fue una ventaja que responde a la necesidad de complementar un análisis filogenético molecular, pero la desventaja fue que pudo haberse complementado de manera más simple utilizando caracteres como las carenas; pero no se tenían los especímenes en físico, sólo las imágenes.

Respecto al análisis filogenético molecular, debe tenerse un manejo amplio de los modelos utilizados y en qué caso establecer valores del árbol de cierto tipo u otro. También, el uso de probabilidades puede llevar a generar hipótesis filogenéticas contradictorias, donde un grupo es un linaje derivado y otro es ancestral en un árbol, y se invierte en otro árbol.

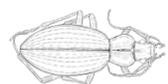
Discusión

Limitaciones de las muestras utilizadas

No disponer de los especímenes de forma física, y sólo como imágenes en posición ventral, no permitió realizar mejores análisis en morfometría geométrica, así como una identificación de sexos más rigurosa.

La falta de individuos de las especies *Ceroglossus darwini* y *Ceroglossus magellanicus* (tanto machos como hembras), es limitante para poder realizar afirmaciones de qué características poseen sus morfotipos. Esto también fue limitante en el árbol filogenético, donde individuos identificados como *Ceroglossus darwini* pertenecían a dos ramas, siendo una más cercana a *Ceroglossus magellanicus* que a su propia especie.

Respecto al tener una parte de la muestra disponible para realizar análisis filogenético molecular, morfometría geométrica o ambos, esto afecta principalmente a la correcta comparación entre el árbol filogenético realizado y los componentes principales.



Análisis morfo-geométrico realizado

Caracteres utilizados

Los caracteres utilizados fueron estructuras del abdomen y pronoto en posición ventral, los cuales dieron cuenta de variaciones estadísticamente significativas. Considerando que utilizar otros caracteres podría complementar o cambiar la interpretación de los resultados, el no disponer de imágenes en posición lateral, dorsal y/o patas, fue una limitación.

Posibles diferencias de forma en las especies estudiadas

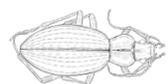
Si bien no es posible diferenciar a simple vista las distintas especies de *Ceroglossus* estudiadas, gracias a los resultados obtenidos por Procrustes ANOVA y la prueba de permutación, estas diferencias son significativas y se puede descartar variación por azar. Lo que sí se debería tener en cuenta, es de qué manera esa forma varía para cada especie, pues no sabemos cómo el tener más muestras de *Ceroglossus darwini* y *Ceroglossus magellanicus* podría afectar en los morfotipos que se describieron. Cada especie difiere de manera distinta en machos y hembras, lo que puede relacionarse al dimorfismo sexual estudiado por Benitez, Briones, & Jerez (2011), posiblemente influenciado por la selección sexual.

Análisis filogenético realizado

Si bien, los dos árboles no coinciden en las relaciones entre grupos, algo que sí se puede asegurar es sobre la monofilia de los grupos *Ceroglossus chilensis*, *Ceroglossus buqueti* y *Ceroglossus darwini*, pues confirman lo ya obtenido en árboles realizados en otros estudios, como en Muñoz-Ramírez (2015) Okamoto et al. (2001) y Lopez-Lopez et al. (2021). Al igual que en Lopez-Lopez et al. (2021), la especie *Ceroglossus magellanicus* no parece diferenciarse como un grupo monofilético, algo que sí pasa con *Ceroglossus darwini* y *Ceroglossus speciosus*.

Conclusiones

Respecto al objetivo general planteado, se pudo evaluar el uso de análisis de morfometría geométrica en la delimitación taxonómica de las especies *Ceroglossus chilensis*, *Ceroglossus buqueti*, *Ceroglossus darwini* y *Ceroglossus magellanicus*, al describir cómo los morfotipos varían en forma según las especies (tanto en machos como hembras) y comparándolos con los obtenidos en análisis filogenéticos moleculares. Respecto a las diferencias de morfotipos hembras, el ancho y el largo abdominal podrían resultar clave, siendo en *Ceroglossus chilensis* y *Ceroglossus buqueti* más alargados y angostos que *Ceroglossus magellanicus* y *Ceroglossus darwini*. El árbol filogenético realizado coincide con el análisis de morfometría geométrica,



pues ambos generan una diferenciación que no permite separar completamente a *Ceroglossus magellanicus* y *Ceroglossus darwini*.

La evaluación realizada permite validar de forma preliminar que el uso de morfometría geométrica en la identificación taxonómica de las especies *Ceroglossus chilensis*, *Ceroglossus buqueti*, *Ceroglossus darwini* y *Ceroglossus magellanicus*, y puede complementar a las metodologías que comúnmente se usan, al cuantificar caracteres morfológicos que varían de forma significativa y al poder visualizar la fuente de tal variación con los gráficos de forma, así como los análisis PCA y CVA (como el análisis de grilla de deformación y gráfico de alambres).

Como proyecciones para el desarrollo de futuras investigaciones, se proponen ideas como clasificar e identificar especies con el uso de morfometría geométrica en el género *Ceroglossus*, pero considerando la utilización de caracteres adicionales, así como en posición dorsal, el uso de otros tipos de análisis morfo-geométricos no abarcados en este estudio, y la utilización de otras especies.

Referencias

- Acosta, V. (2017). *Filogenia molecular, filogeografía geométrica y análisis citogenético del género ceroglossus solier, 1848 (coleoptera)*. Murcia: Universidad de murcia.
- Aguirre, W., & Jiménez-Prado, P. (2018). *Guía Práctica para Morfometría Geométrica. Aplicaciones para ictiología*. Esmeraldas, Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador .
- Bar, M. E. (2010). *Orden Coleoptera*.
- Benitez, H., & Püschel, T. (2014). Modelando la Varianza de la Forma: Morfometría Geométrica Aplicaciones en Biología Evolutiva. *International Journal of Morphology vol 32*, 998-1008.
- Benitez, H., Briones, R., & Jerez, V. (2011). Intra and Inter-population morphological variation of shape and size of the Chilean magnificent beetle, *Ceroglossus chilensis* in the Baker River Basin, Chilean Patagonia. *Journal of Insect Science*, 11.
- Benítez, H., Muñoz-Ramírez, C., Correa, M., Acuña-Rodríguez, I., Villalobos-Leiva, A., Contador, T., . . . Suazo, M. (2024). Breaking the Law: Is It Correct to Use the Converse Bergmann. *Insects*, 15(2), 2024. doi:<https://doi.org/10.3390/insects15020097>
- Benitez, H., Sanzana, M. J., Jerez, V., Parra, L., Hernández, C., & Canales, C. (2013). Sexual Shape and Size Dimorphism in Carabid Beetles of the Genus *Ceroglossus*: Is Geometric Body Size Similar Between Sexes Due to Sex Ratio? *ZOOLOGICAL SCIENCE vol 30*, 289–295.



- Bravi, R., & Benitez, H. (2013). Left–right asymmetries and shape analysis on *Ceroglossus chilensis* (Coleoptera: Carabidae). *Acta Oecologica vol 52*, 57-62.
- Cerda, Y., Grez, A., & Simonetti, J. (2015). The role of the understory on the abundance, movement and survival of *Ceroglossus chilensis* in pine plantations: an experimental test. *J Insect Conserv* , 119-127.
- Darriba, D., Taboada, G., Daollo, R., & Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods vol 9*, 772.
- Daziell, A., & Welbergen, J. (2016). Mimicry for all modalities. *Ecology Letters vol 19*, 609-619.
- De La Cruz, J. (2005). *ENTOMOLOGÍA: MORFOLOGÍA Y FISILOGÍA DE LOS INSECTOS*. Bogotá, Colombia: Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Colombia.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution vol 39*, 783-791.
- Freeman, S., & Herron, J. (2015). *Evolutionary Analysis*.
- Henriquez, P., Donoso, D., & Grez, A. (2009). Population density, sex ratio, body size and fluctuating asymmetry of *Ceroglossus chilensis* (Carabidae) in the fragmented Maulino forest and surrounding pine plantations. *Acta Oecologica vol 35*, 811-818.
- Jamie, G. (2017). Signals, cues and the nature of mimicry. *Proc. R. Soc. B vol 284*, 1-9.
- Jerez, V. (2023). Diversidad de Coleoptera (Insecta) registrada en las cuencas de los ríos Pascua y Bravo, Región de Aysén, Chile. *Revista Chilena de Entomología vol 49*, 355-364.
- Jiroux, É. (2006). *Le genre Ceroglossus*. Magallanes .
- Klingenberg, C. (2011). MORPHOJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources vol 11*(11), 353-357. doi:doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02924.x
- Klingenberg, C. (2015). Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Dev Genes Evol vol 226*, 113–137.
- Klingenberg, C. (2016). Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Dev Genes Evol vol 226*, 113-137.
- Klingenberg, C., & Gidaszewski, N. (2010). Testing and Quantifying Phylogenetic Signals and Homoplasy in Morphometric Data. *Syst. Biol vol 59*.
- Liò, P., & Goldman, N. (1998). Models of Molecular Evolution and Phylogeny. *Genome Research vol 8*, 1223-1224.
- López-López, A. (2021). Evolution and diversification of the Southern Chilean genus *Ceroglossus* (Coleoptera, Carabidae) during the Pleistocene glaciations. *Royal entomological society*.
- Lopez-Lopez, A., Acosta, V., Rataj, L., & Galián, J. (2021). Evolution and diversification of the Southern Chilean genus *Ceroglossus* (Coleoptera, Carabidae) during the Pleistocene glaciations. *Systematic Entomology*, 856-869.



- Lopez-Lopez, A., Hudson, P., & Galián, J. (2012). Recent origin of a chiasmatic sex trivalent in Australian Pseudotetracha tiger beetles. *Journal of Zoology* vol 289, 262-269.
- Lozano, J. D. (2005). *ENTOMOLOGÍA MORFOLOGÍA Y FISIOLOGÍA DE LOS INSECTOS*. Palmira. Obtenido de https://www.bfa.fcnym.unlp.edu.ar/catalogo/doc_num.php?explnum_id=2992
- LOZANO, J. D. (2005). *ENTOMOLOGÍA MORFOLOGÍA Y FISIOLOGÍA DE LOS INSECTOS*. Palmira. Obtenido de https://www.bfa.fcnym.unlp.edu.ar/catalogo/doc_num.php?explnum_id=2992
- Martínez, C. (2005). *Introducción a los escarabajos Carabidae (coleoptera) de colombia*. Colombia: Instituto de investigacion de recursos biologicos.
- Mata López, R., Castañeda, A., García, E., Honey, M., Rosa, M., & Cervantes, I. (2017). *SISTEMÁTICA MOLECULAR y BIOINFORMÁTICA. Guía Práctica. Parte 2*. Departamento de Biología Evolutiva. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).
- Megna, Y., & Sánchez-Fernández, D. (2016). Catálogo Faunístico de la Familia Dytiscidae (coleoptera: Adephega) en cuba. *Boletín de la sociedad entomologica aragonesa*, 159-180.
- ministerio de medio ambiente. (s.f.). *clasificacionespecies*. Obtenido de [clasificacionespecies: https://clasificacionespecies.mma.gob.cl/wp-content/uploads/2019/10/Ceroglossus_chilensis_FIN_13RCE.pdf](https://clasificacionespecies.mma.gob.cl/wp-content/uploads/2019/10/Ceroglossus_chilensis_FIN_13RCE.pdf)
- Moreno, A., & López, C. (2017). *Morfología externa de insectos*. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Argentina.: Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Obtenido de http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/72818/Documento_completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- MorphoJ User's Guide*. (s.f.). Obtenido de Morphometrics.uk: https://morphometrics.uk/MorphoJ_guide/frameset.htm?index.htm
- Muller, F. (1879). Ituna and Thyridia: a remarkable case of mimicry in butterflies. *Proc Entomol Soc Lond*, xx–xxiv.
- Muñoz Ramírez, C., Bitton, P.-P., Doucet, S., & Knowles, L. (2016). Mimics here and there, but not everywhere: Mullerian mimicry in Ceroglossus ground beetles? *Biology Letters* vol 12, 1-5.
- Muñoz-Ramírez, C. (2015). POSICION FILOGENETICA DE CEROGLOSSUS OCHSENII GERMAIN Y CEROGLOSSUS GUERINI GERMAIN (COLEOPTERA: CARABIDAE), DOS ESCARABAJOS DE SUELO ENDEMICOS DEL BOSQUE VALDIVIANO DE CHILE. *Rev. Chilena Ent*, 14 - 21.
- Okamoto, M., Kashiwai, N., & Osawa, S. (2001). Sympatric Convergence of the Color Pattern in the Chilean Ceroglossus Ground Beetles Inferred from Sequence Comparisons of the Mitochondrial ND5 Gene. *Journal of Molecular Evolution*, 530–538.
- Peña, L. (1975). *Guia para reconocer los COLEOPTEROS de CHILE continental*. Editorial Nacional Gabriela mistral.
- Rataj. (2011). Description de Ceroglossus morpheus n. sp., une nouvelle espèce pour le groupe suturalis Fabricius, 1775 (Coleoptera: Carabidae). *Lambillionea*, 165–170.



- Rataj, & Godeau. (2010). Découverte d'une nouvelle espèce et de deux nouvelles sous-espèces de *Ceroglossus* (Coleoptera Carabidae). *Lambillionea*, 245–257.
- Revell, L., Harmon, L., & Collar, D. (2008). Phylogenetic Signal, Evolutionary Process, and Rate. *Syst. Biol.* vol 57, 591-601.
- Rodrigues, D., Arece, Olivares, & Roque. (2019). ORIGEN Y EVOLUCIÓN DE ARTHROPODA. *Revista de salud animal.*, 137-142.
- Roig, S., & Domínguez, M. (2001). Diversidad de la familia Carabidae (coleoptera) en Chile. *Revista chilena de la historia natural*, 549-571.
- Ruiz, F. (1936). *Los ceroglossus de Chile (col. Carabidae)*. santago.
- S.A. (2012). *El moderno prometeo*. Obtenido de Blogspot.com: <http://elmodernoprometeo.blogspot.com/2012/07/anatomia-de-insectos-cabeza.html>
- Solervicens, J. (2014). *Coleópteros de la reserva nacional Río Clarillo, en Chile central: Taxonomía, biología y biogeografía*. CONAF.
- Tamura, K. (1992). Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G + C-content biases. *Molecular Biology and Evolution* vol 9, 678-687.
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*.
- Torralba, A., & Perez, S. (1997). La visión de los insectos desde un punto de vista Óptico. *Bol. SEA*, 27-34. Obtenido de http://sea-entomologia.org/PDF/BOLETIN_18/B18-010-027.pdf
- Toussant. (2021). HyRAD-X Exome Capture Museomics Unravels Giant Ground Beetle Evolution. *Genome Biology and evolution*. Obtenido de Genome Biology and evolution.
- Wiley, E., & Lieberman, B. (2011). *Phylogenetics: Theory and Practice of Phylogenetic Systematics*.
- Xu, S., Errabeli, R., Will, K., Arias, E., & Attygalle, A. (2019). 3-Methyl-1-(methylthio)-2-butene: a component in the foul-smelling defensive secretion of two *Ceroglossus* species (Coleoptera: Carabidae). *Chemoecology*, 171-178.
- Zarazaga, M.-Á. (2015). Orden Coleoptera. *Revista IDE@ - SEA*, 1-18.
- Zelditch, M., Swiderski, D., Sheets, H., & Fink, W. (2004). *Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer*. Elsevier Science.
- Zhang, Z.-Q. (2013). Phylum orthoptera. *Zootaxa*, 017-026.



