

MÉTODOS PARA ESTUDIOS EN SISTEMÁTICA DE MEGALOPTERA (INSECTA: NEUROPTERIDA) CON BASE EN MORFOLOGÍA

Atilano Contreras-Ramos

Instituto de Biología, U.N.A.M., Departamento de Zoología

Apdo. Postal 70-153, 04510 México, D.F.

E-mail: atilano@mail.ibiologia.unam.mx

RESUMEN

Se presentan los métodos para el trabajo en sistemática de Megaloptera con base en morfología. Los métodos expuestos incluyen el planteamiento de los objetivos del proyecto, la obtención de ejemplares de museos, la recolecta y preservación de los ejemplares, las técnicas de disección para la observación e ilustración bajo el microscopio, así como aspectos básicos para efectuar los análisis filogenéticos y su importancia para inferir la biogeografía histórica del grupo. Algunos métodos tienen utilidad en estudios ecológicos.

ABSTRACT

Methods for morphological systematic studies on Megaloptera are presented. They include the delimitation of goals of the project, acquisition of museum specimens, collection and preservation of specimens, dissecting techniques for observation and illustration under the microscope, as well as basic aspects of phylogenetic analyses and their importance for inferring the historical biogeography of the group. Some methods might be useful in ecological studies.

INTRODUCCIÓN

La sistemática, ciencia de la diversidad biológica, comprende el descubrimiento y descripción de las especies, la propuesta de hipótesis sobre sus relaciones filogenéticas y el análisis de atributos biológicos y biogeográficos en el marco comparativo de la filogenia. Interpretar la evolución de caracteres o la historia biogeográfica de un grupo taxonómico resulta de la integración de bloques de información, desde la recolecta de ejemplares en el campo y el análisis morfológico en el laboratorio, hasta la propuesta de hipótesis sobre homologías y el subsecuente análisis filogenético. La estimación de la diversidad biológica será tan buena como lo extenso e intenso de las recolectas, pero también dependerá directamente de la calidad de las colecciones en los museos, incluyendo su funcionalidad y la pronta disponibilidad del material de estudio.

Este ensayo presenta los métodos generales para un estudio en sistemática de Megaloptera, utilizando ejemplos de trabajos recientes, además de describir lo que implica un estudio comprensivo en sistemática de un grupo de insectos.

OBJETIVOS DEL PROYECTO

Hay dos enfoques básicos para llevar a cabo un trabajo taxonómico. En el primero, se toma como punto central una cierta área, desde un parque, reserva o estación biológica, hasta

una zona fisiográfica, estado o país. Estos estudios estiman la porción de la diversidad del grupo presente en el área de trabajo. Algunos productos son las descripciones de especies, claves, listas de especies, así como la inferencia sobre el estado de conservación del grupo. El segundo enfoque estima la diversidad de un taxón (presumiblemente un grupo monofilético *sensu* Hennig, 1965, 1966). La cobertura del estudio puede ser mundial si el grupo es suficientemente pequeño, pero frecuentemente es un continente o una área geográfica menor a la cual puede estar restringido el taxón. Los resultados son similares a los anteriores, pero el énfasis es en la sistemática con productos como revisiones taxonómicas y filogenias, y menor cobertura de aspectos ecológicos como hábitat, distribución, abundancia y fenología. El enfoque utilizado dependerá del grado de conocimiento del grupo (*v. gr.*, si el grupo está bien conocido excepto en una determinada zona, se justifica el primer enfoque), el tamaño del taxón (*v. gr.*, si se trata de un grupo pequeño bien representado en colecciones se facilita el segundo enfoque) y de la disposición de tiempo y factores logísticos. Un ejemplo de un megaproyecto con enfoque de área, es el que se canceló recientemente en el Área de Conservación Guanacaste, Costa Rica (INBITTA, Inventario de Biodiversidad de Todos los Taxa o ATBI por sus siglas en inglés; Janzen, 1993; Miller, 1993). Aparentemente tampoco se ha efectuado un inventario mundial de un taxón mayor, al menos no de invertebrados y en un solo proyecto, aunque se ha propuesto en algunos foros (Wheeler, 1993; Platnick, 1994). Una desventaja de este último enfoque es cómo motivar a la comunidad sistemática hacia un solo grupo, la desventaja del primero es cómo motivarla hacia una sola área. Estudios en varias zonas geográficas y revisiones de grupos diversos, simultáneamente, producirían un conocimiento sistemático más completo y con uso eficiente de recursos.

En el Nuevo Mundo, la diversidad de Megaloptera en la región neártica es mayor en Sialidae y Chauliodinae (Corydalidae), cuyas faunas han sido bien conocidas en el nivel de taxonomía alfa por varios años (42 especies, según Evans y Neunzig, 1996). En la región neotropical, la mayor riqueza corresponde a Corydalinae (Corydalidae), 46 especies descritas, aunque la provincia biogeográfica chilena posee endemismos en Chauliodinae (ocho especies y subespecies) y se han descrito ocho especies de síalidos neotropicales (Contreras-Ramos, 1999a). En cuanto a los tres géneros de Corydalinae americanos, *Platysneuromus* (tres especies en México y Centroamérica; Glorioso y Flint, 1984) y *Chloronia* (14 especies en los neotrópicos; Penny y Flint, 1982; Flint, 1991, 1992; Contreras-Ramos, 1995) ya habían sido revisados antes del estudio sistemático de *Corydalus* (30 especies en el continente), recientemente concluido (Contreras-Ramos, 1998). Tomando como ejemplo la revisión de *Corydalus*, los objetivos fueron:

1. Clarificar la taxonomía alfa del género, lo cual incluyó la observación de los ejemplares tipo (en ocasiones designando lectotipos y un neotipo), la propuesta de sinonimias, la redescrición de especies conocidas, la descripción y nominación de especies nuevas.
2. Llevar a cabo un análisis filogenético de las especies del género. Sin embargo, la presencia de especies atípicas de América del Sur hizo necesario un análisis previo, donde se puso a prueba la monofilia del grupo. Es decir, fue requerido demostrar que todas las especies puestas *a priori* en *Corydalus* no eran más cercanas filogenéticamente a ningún otro género de

Corydalinae que entre sí. Éste último análisis constituyó a la vez una estimación de las relaciones filogenéticas entre los géneros de Corydalinae del mundo.

3. Elaborar una clave para la identificación de las especies, presentar datos detallados de distribución para cada especie, revisar la morfología y terminología utilizada en el grupo y describir la variación en morfología y tamaño por especie.

4. Presentar un panorama de la biogeografía histórica y las tendencias evolutivas de algunos caracteres de las especies, con base en los resultados del análisis filogenético. Indicar nuevas direcciones en la investigación taxonómica y de historia natural del grupo.

FUENTES DE EJEMPLARES

En todo estudio de sistemática debe aprovecharse el acervo de los diferentes museos nacionales e internacionales, complementándose con trabajo de campo. Dada la amplia distribución geográfica de *Corydalus* (en general por todo el Nuevo Mundo), fue crucial comunicarse con el mayor número de museos norteamericanos, de América Latina y algunos de Europa (éstos especialmente para localizar ejemplares tipo). La respuesta fue muy favorable, aunque en ocasiones no se obtuvo y en otras hubo que insistir para lograr un préstamo o incluso cubrir el costo del envío dado el bajo presupuesto operativo de algunos museos. No obstante, se obtuvieron aproximadamente 3000 ejemplares adultos de alrededor de 45 museos. Es muy recomendable obtener información sobre permisos de importación y exportación para ejemplares de uso científico del Instituto Nacional de Ecología, y evitar así el retraso en el desarrollo del proyecto o quizá una confiscación lamentable de ejemplares de alto valor científico como holotipos.

La reciente edición del compendio de Arnett *et al.* (1993) incluye las direcciones, nombres de curadores y enfoque de las principales colecciones entomológicas del mundo. A través de una búsqueda por internet pueden localizarse en minutos los sitios en la red de muchas instituciones con museos entomológicos u otros sitios con información pertinente (Apéndice 1), lo cual agiliza el contacto institucional y la obtención de ejemplares. El material tipo puede ofrecer obstáculos adicionales y no es raro tener que visitar en persona los museos depositarios. Sin embargo, una carta extensa y convincente puede lograr el envío de ejemplares tipo de museos con políticas más liberales. De ser necesario el proyecto debe contemplar la búsqueda de fondos para gastos de viaje y por servicios postales. Éstos últimos pueden ser considerables cuando deben regresarse varias decenas de cajas por correo internacional.

RECOLECTA, PRESERVACIÓN Y CULTIVO

Las larvas de Megaloptera habitan en arroyos y ríos de limpios a moderadamente contaminados, sin embargo el registro ocasional de los Sialidae en el país indica la posibilidad de encontrarlas en ambientes lénticos (zona litoral de lagos y lagunas) o remansos y zonas no erosionales de hábitats lóticos. Las larvas pueden recolectarse con una red de bentos perturbando el substrato, como rocas, piedras y grava, con los pies, causándose el desprendimiento de las larvas y su captura contra la corriente. Deben también inspeccionarse microhábitats como bajo

la corteza de troncos, musgo sumergido y sobre todo los acúmulos de hojas. En ríos profundos y con vegetación riparia densa, la recolecta se dificulta o imposibilita con red de bentos. En estas condiciones, una alternativa es la utilización de substratos artificiales, tales como un costal relleno de hojas y ramas o una bolsa de alambre con piedras (cf. Merritt *et al.*, 1996). Dichos substratos se dejan sumergidos y asegurados con una cuerda por un período aproximado de un mes, al término del cual se revisan para la obtención de ejemplares. Las larvas deben inyectarse oralmente con alcohol ácido (9 partes de alcohol etílico al 80%, 1 parte de ácido acético glacial; modificado de Stehr, 1987), con una jeringa de tuberculina de 1 cc y portando guantes de cirujano (Contreras-Ramos y Harris, 1998). No deben sobreinyectarse, ya que se distorsiona la forma natural de su cuerpo. Con práctica, puede sujetarse a la larva viva por los lados de la cabeza e inyectarse o bien puede dejarse morir en el alcohol e inyectarse. Las larvas deben permanecer en alcohol ácido por 14–24 hrs y transferirse a alcohol etílico al 80% para su preservación permanente. Los ejemplares preservados de esta manera conservan su color y flexibilidad, facilitándose su observación, mientras que la preservación directa en alcohol o líquido de Kahle causa el endurecimiento y a veces la pérdida del aspecto normal del material. Ya que este procedimiento incluye la inyección oral de preservador, posiblemente sea adecuado para observar el contenido estomacal y determinar la dieta de las larvas. Stewart *et al.* (1973) observaron contenido estomacal en larvas preservadas en alcohol al 50%, aunque concluyeron que se obtenían mejores resultados extirpando el buche y el proventrículo (la mayor parte del estomodo) y preservándolos en alcohol al 50%.

Los adultos de las especies de México son nocturnos, con la posible excepción de los *Sialidae* y *Neohermes* (Corydalidae: Chauliodinae). La manera más sencilla de recolectarlos es con una trampa de luz negra (luz ultravioleta) al lado de un río o arroyo, ya sea con una manta blanca como pantalla o colocando el tubo de luz sobre una charola con alcohol al 70% (o con alguna otra modalidad de trampa de luz, por ejemplo con luz de vapor de mercurio). La recolecta con manta posibilita la preservación en seco y montaje en alfiler, lo cual resulta en ejemplares con la mejor calidad de preservación y por tanto más sencilla identificación. Se recomienda inspeccionar los alrededores de la manta con una linterna, ya que ocasionalmente los megalópteros se posan en vegetación cerca de la luz, pero no en la manta. La ventaja de la recolecta en una charola con alcohol es que puede dejarse la luz por varias horas o incluso toda la noche, lo cual aumenta la posibilidad de captura. Considerando que los adultos no siempre son abundantes, la combinación de ambos métodos resulta en una mayor cobertura de área (v. gr., varias trampas de alcohol) con material preservado en alcohol y en seco. Los ejemplares deben capturarse en un frasco letal, pero en su ausencia pueden colocarse en un sobre de papel. Si el material es almacenado seco en sobres, puede ser rehidratado y montado posteriormente. De manera similar, los ejemplares secos en alfiler se rehidran para que sus alas les sean extendidas. Ejemplares preservados en alcohol también pueden ser montados en alfiler, de preferencia no mucho después de su recolecta. Durante el día a veces se encuentran grupos de adultos posados a la sombra bajo estructuras como puentes o, por la noche, a hembras en paredes rocosas ovipositando. Otra manera de obtener adultos es criándolos a partir de estados inmaduros. Para esto se pueden mantener larvas en acuarios, permitiéndoles el acceso a una

charola con tierra donde puedan iniciar su pupación (Smith, 1970). Sin embargo, es más sencillo y rápido inducir la pupación (Contreras-Ramos, 1999b), para lo cual se toman larvas maduras (las de mayor tamaño) del hábitat acuático natural y se colocan en un frasco (aproximadamente de 500 cc) con tierra del lugar. Se hace un hoyo o surco con el dedo, se coloca a la larva en dicha depresión y se cubre con una piedra plana. Dentro de uno a unos cuantos días la larva construye una cámara pupal, dejando sólo un pequeño orificio en la superficie bajo la piedra. En varios días se obtiene el megalóptero adulto. Las exuvias larvales y pupales se preservan en alcohol al 80%, mientras que el adulto, al que debe permitirse el endurecimiento de la cutícula por varias horas, se maneja de la manera estándar. Debe considerarse que en ocasiones las larvas no pupan y se produce cierta mortalidad, también que en ocasiones las larvas se tardan varios días en construir su cámara pupal. Si se desea, pueden preservarse algunas pupas, las que pueden también inyectarse con alcohol ácido como se describió para las larvas. Una forma más segura para la obtención de adultos es encontrando prepupas (larvas en su cámara pupal) y pupas fuera del agua, en la cercanía a los arroyos y ríos, bajo piedras y otros substratos. Las prepupas y pupas se transfieren a frascos como se describió arriba y se les permite terminar su desarrollo. Los adultos, ya sean recolectados con luz negra u obtenidos a partir de larvas o prepupas, pueden colocarse en un terrario grande acondicionado para simular el ambiente natural. Con una luz roja es posible observar el comportamiento copulatorio nocturno (Contreras-Ramos, 1999b), un aspecto muy poco estudiado en los megalópteros; además, las hembras fertilizadas ovipositan en las paredes del acuario o algún otro substrato y pueden obtenerse las larvas de primer estadio en un período de varios días.

DISECCIÓN, ILUSTRACIÓN Y FOTOGRAFÍA

Los ejemplares montados en alfiler deben primero ser rehidratados. Esto puede efectuarse dentro de una campana de cristal hermética con vapor de agua conteniendo algún desinfectante como fenol, por aproximadamente 24 horas. Aprovechando la flexibilidad de los ejemplares, éstos pueden someterse a la extensión de las alas en una tabla de montaje estándar como las utilizadas ampliamente para macrolepidópteros. Para la observación del aparato genital externo, el abdomen de los machos es cortado entre los segmentos VI y VII y el de las hembras entre los segmentos V y VI (para determinar la presencia o ausencia del saco esternal). Si se desea observar la segmentación y áreas sensoriales de los palpos maxilares y labiales, las partes bucales (típicamente la maxila izquierda y el prementón) deben cortarse con tijeras quirúrgicas finas como las de iridectomía. Los abdómenes deben aclararse en KOH (hidróxido de potasio) al 10% de preferencia frío y durante toda la noche o, si se calienta, debe hacerse por unos minutos sin que el hidróxido hierva y la cutícula quede demasiado flexible y las estructuras pierdan su forma natural. Las partes bucales en general no necesitan ser aclaradas, aunque dicho proceso puede mejorar su observación; no obstante, a veces hay rompimiento de partes membranosas. Si el material está en alcohol no es necesario rehidratar. Tanto partes bucales como el aparato genital son colocados en tubos viales con glicerina (de tamaño "genitalia" para partes bucales y de entre 5 x 20 mm a 9 x 30 mm para el aparato genital). Por su tamaño grande puede ser necesario montar los viales con estructuras genitales al lado del ejemplar, con un

número único para correlacionarlos. Esto es preferible a aplastar un espécimen, y quizá hacerlo inservible, para que un vial pequeño pueda montarse en el mismo alfiler que el ejemplar. La observación directa de estructuras reproductoras internas membranosas de las hembras requiere el corte longitudinal del abdomen, por la línea dorsal media e incluyendo el tubérculo anal. Posteriormente, hasta un poco antes de la observación, es recomendable sumergir la parte terminal del abdomen por unos segundos en el colorante Chlorazole Black E, enjuagando en alcohol al 80% para remover el exceso de tinción y moviendo el ejemplar con ayuda de pinzas o aplicando alcohol a presión con una jeringa. Las partes bucales y el aparato genital estarán entonces listos para su observación. Generalmente es suficiente un microscopio estándar de disección o estereoscópico, con un intervalo de aumento entre 1–4x en el objetivo y oculares de 15x (aunque para dibujar puede requerirse mayor aumento), pero con una buena fuente de iluminación tal como las de fibra óptica.

Por su tamaño grande, la ilustración de estructuras reproductivas de Megaloptera puede llevarse a cabo bajo un microscopio estereoscópico (excepto las de hembras de síalidos y coridálidos pequeños que podrían requerir el microscopio compuesto), ya sea con cuadrículas de referencia en el ocular y bajo el papel o delineando las siluetas de las estructuras usando un tubo de dibujo (cámara lúcida) adaptado al microscopio. Un intervalo de aumentos para el dibujo con cámara lúcida es de 15–20x en objetivos para vista dorsal y ventral del aparato genital externo, 40–50x para el esternito X del macho, 20–30x para el margen clipeal y 20–35x para las mandíbulas de hembras, todos con oculares de 15x. Ya que en este grupo es común un amplio rango de variación en tamaño, especialmente en *Corydalus* que manifiesta alometría en las mandíbulas de los machos, es recomendable registrar mediciones corporales como el ancho de la cabeza, longitud de las mandíbulas, longitud antenal y longitud alar en los machos y, en las hembras, por lo menos la longitud alar. Un vernier económico (v. gr., con una precisión de 0.05 mm) es suficiente para medir los ejemplares. Si se considera importante denotar la variación de tamaño (por ejemplo la variación en longitud mandibular con respecto al ancho de la cabeza) debe incluirse una barra o escala de referencia (v. gr., 1 mm), que puede marcarse fácilmente en papel por medio de una regla común y la cámara lúcida. Para el registro sistemático de series grandes de material es recomendable elaborar hojas de registro estándar con el número de entradas seleccionado, tales como especie, sexo, localidad, fecha, recolector, colección o museo, mediciones y observaciones. Tradicionalmente, las ilustraciones en tinta para publicación se alcanzan de los dibujos originales con lápiz previamente remarcados con trazos finales, sobre un papel semitransparente especial para trabajo artístico (que es tratado para eliminar irregularidades en las fibras, que es más liso y evita que la tinta se corra). El entintado (v. gr., tinta color negro India) debe hacerse sobre una mesa de dibujo semitransparente con luz fría inferior o una caja con luz interna, similar a las utilizadas para observar diapositivas o negativos. Ambas ilustraciones, en lápiz y en tinta, deben protegerse contra el corrimiento con un aerosol protector especial para trabajos artísticos. Las ilustraciones finales se recortan y pegan con aerosol adhesivo para papel o con lápiz adhesivo transparente sobre cartoncillo blanco que no se doble, o se escanean y se elaboran las láminas en la computadora.

Las fotografías de megalópteros grandes, como los coridálidos, pueden tomarse con un lente macro o lentillas de aumento, ya que bajo el microscopio sólo serían posibles acercamientos (*v. gr.*, de la cabeza o aparato genital). Un lente macro de aproximadamente 50 mm y un flash de anillo funcionan muy bien para fotografías *in situ* y casi sin preparación. Se puede colocar una hoja blanca sobre una caja entomológica y encima el ejemplar en alfiler sin etiquetas ni viales. Esto es ideal para la toma de series grandes de fotografías, así como para la visita a museos, que generalmente son con tiempo limitado, pues no se requiere de mesa de copiado fotográfico. De ser posible, deben tomarse fotografías en blanco y negro, útiles para una publicación, y diapositivas a color, útiles para una presentación oral, y si se desea hacer impresiones a color o en blanco y negro. En ambos casos puede utilizarse película de ASA 100, las diapositivas con película para luz de día si se usa flash y corregida para tungsteno si se toman con lámparas. En un trabajo de revisión es recomendable fotografiar todos los tipos, al igual que sus etiquetas y anotar literalmente el texto de las mismas, su color, orden en el alfiler y cualquier otra información pertinente que forme parte de la identidad del ejemplar, para incluirse en la sección de material examinado.

ANÁLISIS FILOGENÉTICOS

Por lo general el taxónomo morfológico posee poca información de atributos poblacionales a lo largo de la zona de distribución de una especie, como el flujo genético, la dispersión, introgresión, etc. Sin embargo, con frecuencia tiene a su alcance series de ejemplares representativas de la variación en ambos sexos del grupo bajo estudio a lo largo de su distribución geográfica. El estudio detallado de este material le da al taxónomo la oportunidad de determinar o delimitar sus especies, atomizarlas en caracteres hipotetizados como homólogos y efectuar un análisis filogenético. Desafortunadamente no es muy común encontrar en forma explícita las suposiciones del autor de un estudio taxonómico respecto al tipo de especiación, origen de la variación y conceptos de especie. Esto es en parte debido a que la conexión de la información morfológica disponible con un cierto concepto de especie (*v. gr.*, que se trate de especies biológicas *sensu* Mayr) o tipo de especiación (*v. gr.*, que la vicarianza o la introgresión son factores medulares en la especiación del grupo) no es fácil. Aún así, postular un significado para las unidades consideradas como especies puede ser un ejercicio productivo, si bien a veces no más que para indicar nuevas preguntas. Por ejemplo, si se asume que las especies bajo estudio son especies biológicas, es de esperarse un aislamiento reproductivo que podría someterse a prueba con marcadores moleculares (demostrándose la ausencia o presencia de flujo genético entre especies simpátricas o parapátricas; *cf.* Avise, 1994). Similarmente, si la hipótesis es que una especie ha resultado del intercambio genético entre otras dos en una zona de traslape, podría diseñarse una estrategia de investigación para corroborar o rechazar dicha hipótesis. Si por otra parte, se supone que la vicarianza es el modo principal de especiación en el grupo, deberían encontrarse otros grupos con un patrón de endemismo similar, con una historia biogeográfica congruente entre las áreas habitadas por especies hermanas. Por tanto, el taxónomo debe estar informado sobre los conceptos de especie y modos de especiación (*cf.*, Wiley, 1981;

Brooks y McLennan, 1991; Ereshefsky, 1992) y de preferencia expresar su adherencia o rechazo a alguno, respectivamente y las razones para ello.

Un análisis filogenético brinda una o con mayor frecuencia varias hipótesis sobre las relaciones filogenéticas entre los miembros del grupo analizado, así como sobre la evolución de los caracteres en el grupo de estudio. Por ejemplo, es posible inferir si el alargamiento de las mandíbulas de los machos ha ocurrido una o varias veces en la historia evolutiva del género *Corydalus*, o de toda la subfamilia Corydalinae si el estudio es lo suficientemente amplio. Si se posee o cree poseerse un grupo monofilético *sensu* Hennig (1965, 1966), se tiene una oportunidad magnífica para un análisis filogenético. La presencia de caracteres únicos (posibles sinapomorfias) en el grupo de estudio, es una buena razón para sospechar monofilia. Si no existe información sobre la posición filogenética del grupo estudiado, es justificable partir de las clasificaciones preexistentes. Si se tienen sólo algunos representantes del grupo, pero todos de una misma región o país y sea difícil obtener ejemplares del resto de las especies, aún así es válido llevar a cabo un análisis filogenético, por las siguientes razones: 1) en esencia nunca se sabe estrictamente cuándo las especies de un grupo se conocen en un 100% y, aunque así fuera, puede haber ocurrido extinción y estarse omitiendo alguna; 2) la hipótesis de relaciones es válida para los taxones utilizados, es decir, si proponemos que A es más cercano a B que a C, dicha hipótesis no se contrapone con una nueva al incorporarse el taxón D que es el grupo hermano de B; como ejemplo general, si un análisis propone que Coleoptera es más cercano a Corydalidae que a Lepidoptera, al agregar Sialidae y ésta ser más cercana a Corydalidae que a Lepidoptera); 3) de existir subgrupos, la hipótesis de relaciones entre éstos puede ser más general y perdurar, aunque se afinen detalles de relaciones cuando se incorporen otros taxones; 4) un estudio puede complementarse y mejorarse, y no debe menospreciarse la contribución de indicar caracteres de valor filogenético en un grupo de organismos. No obstante, lo anterior no significa que se abuse de libertad y se intente un análisis filogenético con una mezcla heterogénea de taxones, sin argumento sólido *a priori* para justificar el valor de los resultados.

Si se tienen razones para dudar de la monofilia del grupo, debe diseñarse un análisis más general que cubra taxones más lejanos pero potencialmente emparentados con el mismo, o sea agrandar nuestro grupo interno y buscar un nuevo grupo externo. Ya que algunas especies suramericanas, supuestas *a priori* dentro de *Corydalus*, son bastante distintas de las de Norte y Centroamérica (es decir, son atípicas), fue necesario efectuar un análisis como prueba de la monofilia del género. Se recurrió a grupos externos más lejanos (del Viejo Mundo) para descartar que alguna especie atípica fuera más cercana a *Chloronia* o a *Platyneuromus* (los otros dos géneros de Corydalinae del Nuevo Mundo). Es común que se propongan nuevos géneros sin que se tenga una filogenia del grupo al que pertenecen, como la subfamilia o grupo de géneros cercanos, con la posibilidad de que se erijan taxones supraespecíficos innecesarios. Con base en aspecto general y en algunos caracteres de estructuras genitales, ciertas especies suramericanas de *Corydalus* justificaban *a priori* la propuesta de géneros nuevos. Es decir, eran especies notoriamente diferentes de las demás, pero el análisis demostró que todas forman parte de un solo grupo que se mantuvo como *Corydalus* (Contreras-Ramos, 1998). Es decir, existen

sinapomorfias que definen al grupo como un clado o grupo monofilético. Conservadoramente, pueden ahorrarse varios nuevos géneros.

El término análisis filogenético puede ser intimidante. De hecho, la búsqueda de caracteres, la materia prima para efectuar uno, requiere de una buena dotación de disciplina y esfuerzo. Pero un análisis filogenético no implica tener una varita mágica, una mente iniciada o membresía en alguna asociación altamente selectiva. No obstante, el taxónomo actual no puede evadir comprender los conceptos básicos de la sistemática filogenética o cladística, ahora ofrecidos en cursos básicos de la carrera de biólogo y que pueden consultarse en diversas obras como Eldredge y Cracraft (1980), Wiley (1981), Ax (1987), Funk y Brooks (1990), Wiley *et al.* (1991), Villaseñor y Dávila (1992), Minelli (1993), Quicke (1993), Llorente y Luna (1994), Maddison y Maddison (1995), Kitching *et al.* (1998). Para el mismo fin es muy útil consultar ejemplos de análisis filogenéticos en revistas como *Systematic Biology*, *Cladistics*, *Systematic Entomology* y varias más en el campo de la taxonomía de insectos, lo que da una idea concreta de los métodos, el número de taxones y caracteres utilizados y la posible cantidad de tiempo y trabajo necesarios para el estudio. De más importancia es consultar análisis previos del grupo de interés, o de grupos cercanos al mismo, lo cual da una muestra concreta de los caracteres que pueden ser usados en el análisis. Para su ventaja, antes de la erudición en el cladismo y solicitar membresía a asociaciones exclusivas, el taxónomo tampoco tiene escapatoria de conocer al máximo la morfología de su grupo de estudio. Ahí es donde radica la experiencia de un buen taxónomo. Para un análisis en particular, seleccionar ejemplares de cada especie, de ambos sexos y tener ejemplares de cada taxón enseguida uno del otro, acorta el largo trecho de tener que recorrer cajones en varias gavetas. Previamente, el estudioso debe tener una idea general de los caracteres que pudieran ser informativos en cuanto a relaciones evolutivas, descubiertos en las múltiples ocasiones en que identificó y determinó ejemplares de cada especie. Ahora es el momento de proponerlos como caracteres y estados de carácter homólogos entre sí (series de transformación de caracteres homólogos) y codificarlos como un número. Se tiene entonces un grupo interno, del cual se desea conocer las relaciones evolutivas o genealógicas y uno externo (taxón o taxones) que sirve como punto de referencia para conocer la dirección de cambio de los caracteres en el grupo interno. Técnicamente, proporcionará la raíz del árbol filogenético y polarizará los estados de carácter como primitivos, y derivados o plesiomorfos y apomorfos, respectivamente. En la historia evolutiva de un grupo de especies, el estado de carácter previo a un segundo es el estado primitivo o plesiomorfo, mientras que el segundo es el estado derivado o apomorfo. También se dice que el carácter previo a un segundo es el carácter primitivo, mientras que el segundo es el derivado de un par de caracteres homólogos miembros de una serie de transformación. Posiblemente, una parte considerable del entendimiento del cladismo consiste en manejar la terminología especializada, que no escapa a una buena dosis de sinonimia.

La determinación y codificación de caracteres puede hacerse por lo menos en dos pasos, o quizá en uno con mucha práctica. Una estrategia lógica es inspeccionar los ejemplares por región corporal, en secuencia desde la cabeza hasta el abdomen, machos y hembras, dorsal y ventralmente, carácter por carácter comparativamente, es decir inspeccionando un carácter o unos cuantos en la especie 1, luego en la 2 y así sucesivamente, y no inspeccionando todos los

caracteres del 1 al n, para entonces proceder a la especie 2 y así sucesivamente. En este primer paso se puede anotar con lápiz en extenso cada carácter y estado de carácter explicando en qué consiste, en una libreta grande donde los taxones ocupen las columnas (desde el grupo externo, siguiendo algún orden filogenético sospechado pero de ninguna manera aceptado) y los caracteres las hileras. Todo carácter potencialmente útil debe anotarse, aunque se encuentre que es variable intraespecíficamente o que no puede proponerse en una serie a través de las especies y se opte más tarde por su eliminación o que sea de difícil evaluación y se interrumpa su observación por falta de tiempo. En esta etapa se está trabajando a lápiz, antes de anunciar en voz alta que se tiene evidencia para proponer las relaciones de un grupo de especies. Si un carácter puede descomponerse en dos o más componentes que se distribuyen en los taxones independientemente uno del otro, debe hacerse, así puede aprovecharse con más eficiencia la información filogenética que contiene y comprenderse su evolución a una escala más fina. Por ejemplo, si se considera el carácter forma del esternito X, con los estados en forma de barra (0) y en forma de placa (1), tal vez pueda descomponerse en: A) forma de la base (estados recta o convexa), B) forma de los extremos de la base (estados agudos o redondos) y C) tamaño de la placa del esternito (estados corta y desarrollada). El objetivo es encontrar el mayor número de atributos equivalentes hipotetizados como homólogos, presentes en varias especies (posibles sinapomorfias) o en una sola especie (autapomorfias). Las autapomorfias no dan información sobre posibles grupos y es recomendable excluirlas del análisis, aunque sí enlistarlas en algún apartado. Potencialmente, una autapomorfia puede convertirse en sinapomorfia de una especie nueva y la previamente conocida. El segundo paso es expresar los atributos (sedas antenales en forma de pelo, espina o papiliformes) como números (0, 1, 2) y construir una matriz de caracteres (taxones en las hileras vs. caracteres y estados de carácter en las columnas). Ésta se incorpora a un programa de parsimonia como PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony, para Macintosh o Windows) o Hennig 86 (para IBM y compatibles) y se especifica qué taxón o taxones son el grupo externo (ver Apéndice 1 para información sobre dónde adquirir software). Puede introducirse alguna suposición *a priori* sobre la evolución de los caracteres (*v. gr.*, un orden en los cambios) o sobre si algún carácter tiene más peso que los demás, aunque ambas estrategias deben ser explícitas y justificadas plenamente. Finalmente, se selecciona el tipo de búsqueda del árbol más parsimonioso. La búsqueda exhaustiva garantiza el árbol más corto, pero es operable sólo si lo permite el número de caracteres y taxones, ya que el tiempo de búsqueda se incrementa muchísimo con una matriz grande con numerosos taxones. La búsqueda heurística no es un método exacto, aunque puede ser la única opción si el tiempo de búsqueda es prohibitivo, y su desventaja se contrarresta con réplicas (repeticiones no idénticas) del análisis, que reducen enormemente la probabilidad de no encontrar el árbol o los árboles más parsimoniosos. Entonces, se acciona una tecla de la computadora. En unos cuantos segundos o minutos se tienen los resultados. El árbol más parsimonioso o más corto es el que posee la explicación más “económica” de la distribución de cambios de carácter a lo largo del árbol. Por ejemplo, si dos taxones comparten un estado de carácter, es más parsimonioso asumir la homología (origen único, presencia del mismo estado de carácter en el ancestro de ambos taxones) de dicho estado de carácter, en lugar de proponer *a priori* una hipótesis de origen

MÉTODOS PARA ESTUDIOS SISTEMÁTICOS DE MEGALOPTERA

independiente del estado de carácter. Lógicamente, un árbol con más hipótesis de homología, es decir con mayor número de cambios de carácter únicos soportando grupos y subgrupos de taxones dentro de su estructura o topología, posee menos hipótesis de no homología (convergencias, paralelismos y reversiones, en conjunto homoplasia) que otro con más cambios de caracteres (mayor longitud) producto del análisis de la misma matriz de datos.

Las computadoras dan una cantidad enorme de información, como varios índices o "estadísticas" por carácter y globales para todo el árbol, de los cuales los más comunes son el índice de consistencia y el de retención. Estos índices estiman qué tan bien corresponden los caracteres con la estructura del árbol, pero no en sí la calidad de una hipótesis de homología particular de un carácter o el apoyo brindado por uno o más cambios de carácter a una porción determinada del árbol. También puede obtenerse una lista de cambios de carácter (una lista mostrando detalladamente el comportamiento de cada carácter, del 1 al n, a lo largo del árbol), así como una lista de apomorfias (un recorrido a lo largo del árbol mostrando los cambios de carácter que ocurren en cada punto de ramificación del árbol). Debe inspeccionarse cada árbol más corto, carácter por carácter, para emitir un juicio sobre el panorama evolutivo más plausible. Si se obtienen varios árboles igualmente parsimoniosos en un mismo análisis, un árbol de consenso estricto resume la información congruente a lo largo de los resultados. Esencialmente, dicho árbol mantiene los grupos que están presentes en todos los árboles, aunque detalles discrepantes se pierden. Finalmente, la información biogeográfica contenida en un solo análisis filogenético, evidente al sustituir las áreas de cada taxón por la posición de los mismos en el cladograma, da información sobre dónde pudieron darse eventos de especiación a lo largo de la historia del grupo, pero no indica directamente zonas de endemismo o puntos de vicarianza aplicables a otros taxones. La búsqueda de sucesos generales, geológicos y climáticos, causa de patrones de distribución en varios grupos, es parte de la biogeografía histórica y requiere de la síntesis de información aportada por el conocimiento filogenético de varios grupos de organismos, de preferencia a partir de análisis cladísticos.

CONCLUSIONES

Termina aquí un recorrido breve de un estudio sistemático, con ejemplos de los Megaloptera. Puede concluirse que la calidad de una revisión taxonómica dependerá de la de los museos en los que se basó, y la de éstos a su vez en lo extenso e intenso de las recolectas que los conforman, lo cual queda rezagado sin una funcionalidad y apertura progresistas de los museos. Análogamente, un análisis filogenético y la interpretación evolutiva de los caracteres del grupo serán tan sólidos y útiles como lo intenso de la búsqueda de caracteres y lo completo de la representación taxonómica. En consecuencia, una hipótesis biogeográfica será tan sólida como los análisis en los que se base y el número de los mismos. Las revisiones taxonómicas ocupan un lugar central en el conocimiento de la biota de un país o región y deben incorporar análisis filogenéticos como parte de su protocolo, lo cual incrementa el valor y la aplicabilidad de las mismas.

AGRADECIMIENTOS

A R. Barba, M. Reguero, J. A. Rodríguez y tres revisores anónimos, por haber leído versiones previas del manuscrito y sus sugerencias para incrementar la claridad del mismo.

LITERATURA CITADA

- Arnett, R. H., Jr., G. A. Samuelson and G. M. Nishida. 1993. *The Insect and Spider Collections of the World*. St. Lucie Press, Delray Beach, Florida.
- Avise, J. C. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman & Hall, New York.
- Ax, P. 1987. *The Phylogenetic System: The Systematization of Organisms on the Basis of their Phylogenesis*. John Wiley & Sons, New York.
- Brooks, D. R. and D. H. McLennan. 1991. *Phylogeny, Ecology, and Behavior: A Research Program in Comparative Biology*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Contreras-Ramos, A. 1995. New species of *Chloronia* from Ecuador and Guatemala, with a key to the species in the genus (Megaloptera: Corydalidae). *Journal of the North American Benthological Society*, 14: 108-114.
- Contreras-Ramos, A. 1998. *Systematics of the dobsonfly genus Corydalus Latreille (Megaloptera: Corydalidae)*. Thomas Say Publications, Entomological Society of America, Lanham, Maryland.
- Contreras-Ramos, A. 1999a. List of species of Neotropical Megaloptera (Neuropterida). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 101: 274-284.
- Contreras-Ramos, A. 1999b. Mating behavior of *Platyneuromus* (Megaloptera: Corydalidae), with life history notes on dobsonflies from Mexico and Costa Rica. *Entomological News*, 110: 125-135.
- Contreras-Ramos, A., and S. C. Harris. 1998. The immature stages of *Platyneuromus* (Corydalidae), with a key to the genera of larval Megaloptera of Mexico. *Journal of the North American Benthological Society*, 17: 489-517.
- Eldredge, N., and J. Cracraft. 1980. *Phylogenetic Patterns and the Evolutionary Process*. Columbia University Press, New York.
- Ereshefsky, M. (ed.). 1992. *The Units of Evolution: Essays on the Nature of Species*. The MIT Press, Cambridge, Massachusetts.
- Evans, E. D., and H. H. Neunzig. 1996. Megaloptera and aquatic Neuroptera, pp. 298-308. In: R. W. Merritt and K. W. Cummins (Eds.). *Aquatic Insects of North America*. Kendall/Hunt Publishing Company, Dubuque, Iowa.
- Flint, O. S., Jr. 1991. On the identity of *Chloronia bogatana* [sic] Weele (Neuropterida: Megaloptera: Corydalidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 93: 489-494.
- Flint, O. S., Jr. 1992. A review of the genus *Chloronia* in Costa Rica, with the description of two new species (Neuropterida: Megaloptera: Corydalidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 105: 801-809.

- Funk, V. A., and D. R. Brooks. 1990. *Phylogenetic Systematics as the Basis of Comparative Biology*. Smithsonian Institution Press, Washington D.C.
- Glorioso, M. J., and O. S. Flint, Jr. 1984. A review of the genus *Platyneuromus* (Insecta: Neuroptera: Corydalidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 97: 601-614.
- Hennig, W. 1965. Phylogenetic systematics. *Annual Review of Entomology*, 10: 97-116.
- Hennig, W. 1966. *Phylogenetic Systematics*. University of Illinois Press, Urbana.
- Janzen, D. H. 1993. Taxonomy: universal and essential infrastructure for development and management of tropical wildland biodiversity. *UNEP Expert Conference on Biodiversity (Norway)*: 100-113.
- Kitching, I. J., P. L. Forey, C. J. Humphries and D. M. Williams. 1998. *Cladistics: The theory and practice of parsimony analysis*. Oxford University Press, Oxford.
- Llorente B., J. e I. Luna V. (Comps.) 1994. *Taxonomía Biológica*. Fondo de Cultura Económica, México, D. F.
- Maddison, W. P., and D. R. Maddison. 1995. *MacClade: Analysis of Phylogeny and Character Evolution*, versión 3.05. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Merritt, R. W., K. W. Cummins, and V. H. Resh. 1996. Design of aquatic insect studies: Collecting, sampling and rearing procedures, pp. 12-28. In: R. W. Merritt, and K. W. Cummins (Eds.). *Aquatic Insects of North America*. Kendall/Hunt Publishing Company, Dubuque, Iowa.
- Miller, S. 1993. All taxa biological inventory workshop. *Association of Systematics Collections Newsletter*, 21: 41, 46-47.
- Minelli, A. 1993. *Biological Systematics: The State of the Art*. Chapman & Hall, London.
- Penny, N. D. and O. S. Flint, Jr. 1982. A revision of the genus *Chloronia* (Neuroptera: Corydalidae). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 348: 1-27.
- Platnick, N. I. 1994. Presentación oral. *Entomological Collections Network, Reunión Annual*, Dallas, Texas.
- Quicke, D. L. J. 1993. *Principles and Techniques of Contemporary Taxonomy*. Chapman & Hall, London.
- Smith, E. L. 1970. Biology and structure of the dobsonfly, *Neohermes californicus* (Walker) (Megaloptera: Corydalidae). *Pan-Pacific Entomologist*, 46: 142-150.
- Stehr, F. W. 1987. Techniques for collecting, rearing, preserving, and studying immature insects, pp. 7-18. In: F. W. Stehr (Ed.). *Immature Insects, Vol. I*. Kendall/Hunt Publishing Co., Dubuque, Iowa.
- Stewart, K. H., G. P. Friday, and R. E. Rhame. 1973. Food habits of hellgrammite larvae, *Corydalis cornutus* (Megaloptera: Corydalidae), in the Brazos River, Texas. *Annals of the Entomological Society of America*, 66: 959-963.
- Villaseñor, J. L. y P. Dávila. 1992. *Breve introducción a la metodología cladística*. Facultad de Ciencias, UNAM, México, D.F.
- Wheeler, Q. D. 1993. Systematics and inventory (presentación oral). *Entomological Society of America, Annual Meeting*. Indianapolis, Indiana.

- Wiley, E. O. 1981. *Phylogenetics: The Theory and Practice of Phylogenetic Systematics*. John Wiley & Sons, New York.
- Wiley, E. O., D. Siegel-Causey, D. R. Brooks, and V. A. Funk. 1991. *The Compleat Cladist: A Primer of Phylogenetic Procedures*. The University of Kansas, Museum of Natural History, Special Publication No. 19

Apéndice 1. Algunas fuentes de información en Megaloptera y sistemática a través del internet.

Banco de datos del conocimiento filogenético:

<http://herbaria.harvard.edu/treebase/>

Colecciones de insectos y arañas del mundo:

<http://www.bishop.hawaii.org/bishop/ento/codens-r-us.html>

Directorio mundial de entomólogos sistemáticos:

gopher://nmnhgoph.si.edu:70/11/.entomology/.sysent

El árbol de la vida:

<http://phylogeny.arizona.edu/tree/phylogeny.html>

Índices entomológicos de recursos por internet:

<http://www.ent.iastate.edu/List/>

Información sobre programas de computadoras para inferir filogenias:

<http://phylogeny.arizona.edu/tree/programs/programs.html>

NeuroWeb (sitio en la red de los neuropterólogos):

<http://entowww.tamu.edu/research/neuropterida/neuroweb.html>

PAUP (información en la red):

<http://www.sinauer.com/>

Sociedad Bentológica Norteamericana (NABS):

<http://www.benthos.org/>

Sociedad de Biólogos Sistemáticos:

<http://www.utexas.edu/ftp/depts/systbiol/>

Sociedad Entomológica de América (ESA):

<http://www.entsoc.org/>

Sociedad Willi Hennig:

<http://www.vims.edu/~mes/hennig/hennig.html>

Recibido: 5 de octubre de 1998

Aceptado: 5 de abril de 1999