



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



FACULTAD DE
CIENCIAS
UDELAR | fcien.edu.uy



“Morfometría geométrica alar para detectar heteromorfismos entre poblaciones de *Trichocera (Saltrichocera) maculipennis* Meigen, 1818 (Diptera: Trichoceridae), especie no nativa en la Isla Rey Jorge, Antártida Marítima.”

Bach. Mathías Andrés Jabs Alonzon

ORIENTADOR: Enrique Morelli

CO-ORIENTADOR : Mónica Remedios-De León



Tesina de grado
Sección Entomología
Facultad de Ciencias
Universidad de la República
Montevideo, 2023

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Índice de contenido.....	1
Agradecimientos.....	2
Introducción.....	3
Objeto de estudio.....	3
Morfometría Tradicional y Morfometría Geométrica.....	6
Objetivos.....	9
Hipótesis.....	9
Materiales y métodos.....	10
Diseño de muestreo.....	11
Resultados.....	15
Procrustes ANOVA.....	15
Análisis de componentes principales (PCA).....	16
Análisis de variación canónica (CVA).....	18
Análisis de función discriminante.....	19
Regresión lineal.....	21
Conclusiones y discusión.....	22
Consideraciones finales.....	24
Bibliografía.....	26

Agradecimientos

Primeramente a mis Tutores, Enrique Morelli y Mónica Remedios-De León, por acompañarme no solo en el proceso de realización de este trabajo con el cual me recibo de la carrera, sino también por la guía que han sido a lo largo de mis últimos años de carrera, no solo en lo académico sino también en lo personal, estando siempre presentes cuando necesitaba ayuda o consejo.

Al Tribunal compuesto por Ana Verdi, Vitor Cezar Pacheco da Silva y Enrique Morelli.

Hugo Benítez, cuya ayuda fue crucial a la hora de comprender la importancia y magnitud de muchos de los resultados obtenidos.

A Laura Mendaro, mi pareja, por estar siempre en los momentos más pesados y estresantes de esta carrera, brindándome apoyo incondicional así como también la fuerza para seguir adelante.

A mis padres, María de los Ángeles Alonzon y Javier Jabs, por otorgar todo lo necesario para haber llegado tan lejos, respaldo, educación y sustento, logrando ser el primer universitario de mi familia.

A mi difunta abuela Graciela Carbone, que me dio no solo apoyo dándome un lugar donde vivir cuando había la necesidad pasar algunos días en Montevideo, sino que también supo compartir conmigo momentos de charla y debate de los más interesantes que he tenido y ni hablar del amor incondicional, el cual siempre será mutuo.

Y por último pero no menos importante a mi amigos y colegas, tanto dentro del ámbito universitario, como de la vida misma y el trabajo.

Introducción

Objeto de estudio

Distintas especies de género *Trichocera* Meigen, 1803 (Diptera: Trichoceridae), se encuentran ampliamente distribuidas en el Hemisferio Norte, particularmente en las regiones boreales (Dahl & Alexander, 1976; Dahl & Krzemińska, 1997). *Trichocera maculipennis* Meigen (1818) en particular es una especie holártica, diferenciándose de la mayoría de sus especies congénicas por su capacidad de tolerancia a climas tanto cálidos como fríos. Esta especie se distribuye en el Hemisferio Norte, desde el Ártico al Mediterráneo (Krzemińska, 2005) y en el este en las Islas Kuril (Petrašius & Paramonov, 2014). *Trichocera maculipennis* es un díptero no nativo introducido en territorio antártico en las Islas Shetland del Sur (Volonterio et al., 2013; Chown & Convey, 2016; Potocka & Krzemiska, 2018), y anteriormente en las islas sub-Antárticas Kerguelen (Séguy, 1940, 1953; Dahl, 1966). Su flexibilidad fisiológica y el tipo de desarrollo, han hecho exitosa su adaptación a los ecosistemas antárticos, lo que podría generar un riesgo potencial de impactos negativos al ecosistema (Potocka & Krzemiska, 2018). Existe amplia documentación que comprueba la capacidad de numerosos organismos antárticos de sobrevivir en condiciones extremas (stress selected), debido a que invierten una gran cantidad de recursos en estrategias que los ayuden a minimizar el estrés (Convey, 1996). En parte, esto es posible debido a que las interacciones biológicas son particularmente diferentes en estos ecosistemas antárticos (o polares) donde la predación y la competencia son insignificantes diferenciándose de otros ejemplos fuera del continente antártico (Convey, 1996). Teniendo en cuenta que las especies nativas enfocan sus recursos en estrategias de control de estrés y las especies invasoras son altamente competitivas, las especies nativas se ven desplazadas de sus hábitats naturales (Convey, 1996).

Los adultos de *T. maculipennis* (Fig. 1) han probado poseer una gran resiliencia, soportando temperaturas entre -10°C a 32°C (Dahl, 1967). El rango de supervivencia por exposición a corto plazo de *T. maculipennis* es muy similar a los observados en las especies de quironómidos nativos: *Belgica antarctica* (Jacobs) y *Parochlus steinenii* (Gerke), siendo que *B. antarctica* sobrevive hasta temperaturas de aproximadamente -10°C hasta 40°C y *P. steinenii* de -5°C a 31°C (Contador et al., 2020). *Trichocera maculipennis* es calificada en algunas localidades como sinantrópica, encontrándose asociada a edificaciones humanas (Lindroth, 1931; Dahl, 1966, 1967). *Trichocera maculipennis* posee cuatro estadios larvales, las larvas pueden desarrollarse dentro de sustratos líquidos o semi-líquidos gracias a sus espiráculos y a cuatro lóbulos anales que le permiten absorber oxígeno de la superficie y de ser necesario, proteger los espiráculos (Karandikar, 1931). También se pueden desarrollar dentro de excrementos o materia vegetal en descomposición (Volonterio et al., 2013). Estas capacidades le permiten a la larva colonizar ambientes líquidos, particularmente cámaras sépticas. Los huevos y larvas se desarrollan en temperaturas con un rango entre -2°C y 5°C , prefiriendo hábitats como minas, bodegas y almacenes (Grimshaw, 1906), así como en cuevas naturales en las cuales la temperatura suele ser estable (Plachter, 1983). Estos hábitats proporcionan fuentes de alimento para las larvas, materia orgánica en descomposición o

excrementos animales (guano en las cuevas), abono y desechos de aguas residuales (Remedios-De León et al., 2021). Por fuera de los rangos previamente establecidos, tanto los adultos como las larvas sufren desecación y estrés, causando la muerte de los individuos. La pupación transcurre en unas pocas horas y para los ambientes nórdicos naturales, se han registrado emergencias de adultos a través de una gruesa capa de nieve, manteniéndose activos sobre la superficie de la misma (Hågvar & Krzemińska, 2008).



Fig. 1 -Hembra adulta de *Trichocera maculipennis*. (Tomado de Potoka, M. 2018).

La duración del ciclo de vida de *T. maculipennis* tiene una gran dependencia con las condiciones ambientales, pudiendo durar hasta un año en su ambiente natural (Karandikar, 1931), mientras que en condiciones de laboratorio, con temperaturas iguales a las encontradas en las cuevas donde los individuos fueron colectados ($\pm 0.5^\circ \text{C}$), puede completarse en 40 días (Plachter, 1983).

Los primeros registros de *T. maculipennis* en la isla Rey Jorge fueron en las estaciones Frei y Escudero (Chile) en el año 2006 (Remedios-De León et al., 2020). Posteriormente se sumaron nuevos registros en la estación Artigas (Volonterio et al., 2013), en la estación Frei (2009/2010) y en la Base coreana King Sejong (2013/2014) (Remedios-De León et al., 2020). Más recientemente, se recolectaron adultos en el entorno del lago Uruguay (M. Remedios-De León, obs. Pers.) y se encontraron larvas y adultos en el sistema de alcantarillado de la Base polaca de Arctowsky (Potocka & Krzemiska, 2018). Esto podría sugerir una posible dispersión desde el área de Bahía Maxwell hasta Bahía Admiralty, totalizando más de 20 km de distancia entre las bahías, necesitando sobrepasar la barrera natural del glaciar Collins para completar este desplazamiento (Remedios-De León et al., 2021). Hasta ahora no se han confirmado los medios de propagación de esta especie en territorio antártico (Potocka & Krzeminska, 2018), el vuelo parece una posibilidad, sin embargo los Trichoceridae son malos voladores y episodios de viento dificultarían los vuelos voluntarios (Dahl, 1965), en cuanto a

los vuelos no voluntarios se observó en otros dípteros que, cuando más grande o amplia el ala, más fácil su dispersión por viento (Johnson, 1969).

Belkin (1962) sugiere que la única forma en que los nematoceros pudieron colonizar varias islas del Pacífico fue a través de la dispersión por barcos o aviones. *Anopheles albimanus* Wiedemann (Diptera: Culicidae) fue introducido por barco a Barbados en 1927, lo que resultó en unos 1.000 casos de malaria, pero aparentemente el mosquito no pudo sobrevivir en este nuevo territorio (Hackett 1949). En contraste, *Anopheles gambiae* Giles invadió y se estableció en Mauricio en la primera mitad del siglo XIX (Service, 1997). Se cree que la introducción fue por un buque naval francés que monitoreaba la ruta del servicio aéreo propuesto desde Dakar, Senegal, hasta Natal, Brasil, o un avión pionero en la etapa de ida, transportó *An. gambiae*, uno de los vectores de malaria más notorios del mundo, al último país, donde se estableció en 1930 (Soper y Wilson 1943). Durante 1942-1944, Egipto también fue invadido por *Anopheles arabiensis* Patton (Diptera: Culicidae), esta vez procedente de Sudán, y parece probable que los aviones fueran responsables de esta introducción (Bruce, 1970).

Existen registros de especies de *Aedes* de agua dulce que también viajan largas distancias, como la captura de *Aedes vexans* Meigen (Diptera: Culicidae) en una plataforma petrolífera no tripulada a 32 km de la costa (Sparks et al., 1986) y *A. pulcherrimus* Theobald en un barco que se encontraba a 25 km de la costa de Arabia (Wright, 1918). En el noreste de la India, se capturaron más de 10 especies de *Anopheles*, *Aedes*, *Mansonia* y *Culex*, incluyendo *C. quinquefasciatus* Say y *C. tritaeniorhynchus* Giles, a alturas de ≥ 150 m en viajes impulsados por el viento de unos 70-110 km (Reynolds et al., 1996). Ming et al. (1993) consideraron que *C. tritaeniorhynchus* (Giles) era un mosquito altamente migratorio y que en el área de Shanghai de China los adultos diapausados son llevados por el viento hacia el sur por al menos 35 km, pero posiblemente hasta 200 km, en otoño. En primavera, después de la hibernación, los adultos viajan hacia el norte para reproducirse. Reisen (1978) observó que en la provincia de Punjab de Pakistán, *An. subpictus* Grassi desapareció regionalmente alrededor de diciembre debido al inicio del clima frío o seco. Sin embargo, estas áreas eran repobladas anualmente al comienzo de la temporada de lluvias del monzón. Parece que los vientos que barren desde el sureste traen adultos, que colonizan rápidamente los numerosos hábitats larvarios recién creados. En Illinois, Horsfall (1954) informó de la rápida dispersión después de la emergencia de *Ae. vexans*, aparentemente hasta 370 km y posiblemente incluso hasta 740 km desde los hábitats larvarios más cercanos adecuados. Aunque hay varios casos de insectos que son arrastrados por sistemas frontales.

Un ejemplo a menudo citado de dispersión de larga distancia es la invasión en 1942 de campamentos militares en Egipto por un gran número de *Anopheles pharoensis* Theobald en un momento de fuertes vientos. Se consideraba que eran adultos recién emergidos originarios de al menos 29-45 km al noreste. Esto respaldó el informe anterior de Kirkpatrick (1925) de que en Egipto este mosquito se había dispersado al menos 72 km en el viento. En contraste, hay pruebas circunstanciales sólidas de que los *An. pharoensis* más antiguos, infectados con parásitos de la malaria, han sido transportados en los vientos predominantes en Israel durante

al menos 280 km. El repentino brote de mixomatosis en la isla Woody frente a la costa australiana fue atribuido por F. N. Ratcliffe a los mosquitos que habían sido llevados al menos 320 km desde el continente (Service, 1997).

Aunque la dispersión a larga distancia, como todos los extremos y récords, atrae la mayor atención y tiene un valor de curiosidad, la dispersión a corta distancia es, sin duda, la norma en la biología del mosquito. Este tipo de dispersión (vuelo apetitivo) se llama a veces dispersión activa para distinguirla de la dispersión pasiva (vuelo no apetitivo), que se aplica al transporte por cualquier otro medio, como el viento, aviones o barcos (Service, 1997).

Puede argumentarse que las distancias dispersadas son más una función de la topografía local y el ambiente que de factores intrínsecos (Service, 1997). Sin embargo, algunas especies tienden a dispersarse más que otras porque se reproducen en áreas expuestas y porque el comportamiento de vuelo de algunas especies las lleva a estar en contacto con los vientos predominantes. Por ejemplo, cuando especies como *Ae. taeniorhynchus* (Wiedemann) vuelan en ángulo agudo a unos 12 m poco después de la emergencia en las tardes antes de nivelarse (Haeger 1960), esto las saca de la capa límite y, por lo tanto, es más probable que sean arrastradas por los vientos, a veces durante largas distancias. Este comportamiento parece ser una respuesta a la alta densidad larvaria, porque en el laboratorio el hacinamiento temporal de las larvas produce una fase migratoria en los adultos. Estos adultos muestran fuertes ráfagas de actividad de vuelo durante los cambios de luz a oscuridad, que se considera equivalente al éxodo al crepúsculo de los adultos en la naturaleza. Los adultos criados a partir de larvas no hacinadas no muestran tal vuelo con el cambio de intensidad de la luz. Desde el punto de vista ecológico, puede ser ventajoso para una población dispersarse de un área cuando las densidades aumentan a niveles en los que hay una feroz competencia por los recursos, como los alimentos en estado larvario o adulto. *Aedes taeniorhynchus* es el díptero nematócero al que más a menudo se hace referencia como migratorio.

Morfometría Geométrica y Tradicional

La morfometría geométrica (en lo sucesivo MG) se utiliza para estudiar la forma de los organismos al remover los efectos de la escala, rotación y traslación (Adams & Funk 1997; Rohlf, 1996; Rohlf & Slice, 1990). Es una herramienta valiosa para la visualización y cuantificación de la variación morfológica en diferentes contextos ecológicos y evolutivos (Adams & Rohlf, 2000; Alibert et al., 2001; Benítez De La Fuente et al., 2010), y ha mejorado significativamente el conocimiento en taxonomía, ecología, sistemática y en estudios de diferenciación sexual (Alibert et al., 2001). A pesar de la potencialidad de esta herramienta, los estudios de variación morfológica han recibido una atención moderada debido a la falta de exactitud estadística en los métodos de morfometría tradicional a nivel intraespecífico (Thomas et al., 1998; Adams et al., 2004).

En taxonomía, la MG se utiliza para detectar diferencias morfológicas entre organismos (Peres-Neto, 1995), brindando resultados muy confiables y comparativos que permiten estudiar los cambios ambientales que afectan al organismo, con un alto grado de precisión, siendo una alternativa de análisis muy eficiente (Calle *et al.*, 2008; Zelditch *et al.*, 2012). Diferentes investigaciones sostienen que la MG es más precisa al mostrar un mayor porcentaje de discriminación y es más simple en su aplicación que la morfometría tradicional (Tofilski, 2008; Miguel *et al.*, 2011). Esta metodología se ha utilizado en diversidad de organismos, y particularmente en artrópodos, donde se ha aplicado en estudios de estructura poblacional de insectos (Soto-Vivas *et al.*, 2007), determinación de especies de dípteros, diferenciación entre subpoblaciones de la misma especie (Vasquez & Liria, 2012), discriminación entre adultos de hemípteros de campo parentales y descendencia de laboratorio (Jaramillo & Wolff, 2002). También se ha utilizado para diferenciar taxas, por ejemplo en el caso de los dípteros *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) y *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae), comparando la dimensión del ala (Vasquez & Liria, 2012), para la identificación taxonómica de especies de Muscidae, que puede resultar difícil dada la complejidad de sus caracteres morfológicos (Ruiz Marín, 2020) y también se han publicado trabajos aplicando la MG en la determinación de heteromorfismos morfológicos entre dos poblaciones de *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Martínez Barragán, 2018).

De manera general, la MG permite identificar individuos a partir de la conformación de estructuras específicas, con base en métodos de discriminación y análisis estadístico de la variación de la forma en estructuras particulares en y entre individuos (Vasquez & Liria, 2012). Esta técnica permite un mejor acercamiento a las medidas de variación de formas entre organismos y su relación con el medio (Benítez & Püschel, 2014).

La morfometría tradicional emplea la estadística multivariada para abordar problemas relacionados con la forma de los organismos. A diferencia de la MG, los datos primarios de la morfometría tradicional no son coordenadas cartesianas, sino que son distancias, índices o ángulos. Estos métodos rara vez preservan las relaciones geométricas del objeto en estudio durante el análisis, lo que dificulta en gran medida la visualización de los cambios morfológicos. Como resultado, la generación de gráficos o visualizaciones de los resultados se suele realizar mediante tablas poco intuitivas. Otra diferencia importante se refiere a la estandarización de las variables. Aunque las distancias son inherentemente independientes de la posición y orientación del objeto del cual se obtienen, no permiten eliminar los efectos de la escala/tamaño de manera matemáticamente comparable a lo que se logra con la MG mediante el análisis de Procrustes (Toro Ibacache, et al. 2010). La distancia Procrustes es una medida utilizada para comparar la posición de los puntos de referencia (landmarks) en diferentes configuraciones. Este método se basa en un ajuste por mínimos cuadrados iterativos, que alinea todas las configuraciones de landmarks a una configuración de referencia (por ejemplo, la primera configuración de landmarks).

Para realizar este ajuste, se utiliza el método de Procrustes por mínimos cuadrados (Benítez & Püschel, 2014), que minimiza la suma de las distancias al cuadrado entre los landmarks

correspondientes en cada configuración y la configuración de referencia. De esta manera, se busca obtener una alineación óptima de los landmarks en todas las configuraciones, lo que se traduce en una distancia Procrustes mínima entre ellas. Para minimizar errores de lo obtenido por este ajuste, se toma en cuenta también la distancia de Mahalanobis, la cual es una medida estadística utilizada para determinar la distancia entre dos puntos en un espacio multidimensional, teniendo en cuenta la correlación entre las variables. Este método también nos permite identificar valores atípicos (outliers) y clasificar objetos en función de su similitud (Benítez & Püschel, 2014).

La diferencia entre la distancia de Procrustes y la de Mahalanobis consiste en que, la primera se utiliza para comparar dos conjuntos de puntos en un espacio n-dimensional, mientras que la segunda se utiliza para medir la similitud o diferencia entre dos puntos en un conjunto de datos multivariado. Además, la distancia de Mahalanobis tiene en cuenta la varianza y la correlación entre las variables, mientras que la distancia de Procrustes no considera estos aspectos (Portillo, et al., 2008).

Hipótesis

Se están registrando heteromorfismos alares en poblaciones de *T. maculipennis* en territorio antártico.

Objetivos

Objetivo general

Determinar la existencia de heteromorfismo alar entre poblaciones de *T. maculipennis* en la Antártida marítima.

Objetivo específico

Identificar la posible heteromorfosis alar utilizando morfometría geométrica en poblaciones de *T. maculipennis* en territorio antártico.

Materiales y métodos

Este estudio se realizó con ejemplares recolectados en las campañas antárticas de verano (2017 al 2019 y 2022) en la Base Científica Antártica Artigas (BCAA) ($62^{\circ}11'04''\text{S}$ $58^{\circ}54'14''\text{W}$) (Uruguay) (Fig. 2) y 2018 para la Base Bellingshausen ($62^{\circ}19'82''\text{S}$ $58^{\circ}96'01''\text{W}$) (Rusia) (Fig. 3), seleccionada como punto de muestreo por su proximidad a la BCAA. Ambas bases están ubicadas en la Isla Rey Jorge, Antártida marítima.

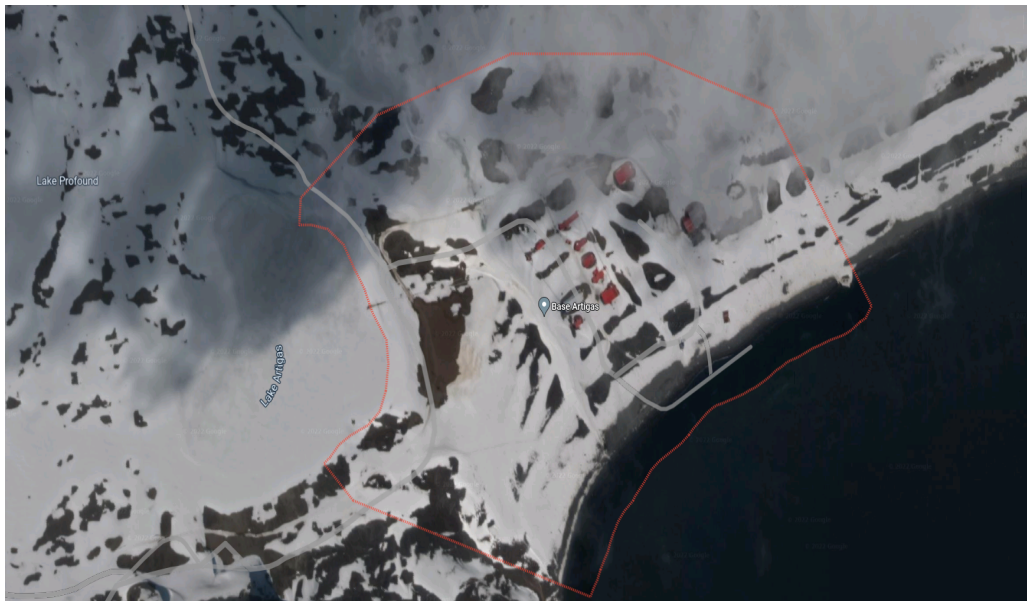


Fig. 2 - Base Científica Antártica Artigas (BCAA) (Google maps).



Fig. 3 - Base Bellingshausen (Google maps).

Diseño de muestreo

El diseño de muestreo consistió: para la BCAA en la colocación de trampas de caída con propilenglicol distribuidas en la base hasta un radio de 500 metros, tomando como límite el Glaciar Collins (sur), Caleta Norte y Lago Uruguay (este). Se colocaron 11 trampas en la BCAA de acuerdo al siguiente orden: una trampa en AINA (habitaciones científicas), una en la fosa séptica del AINA, una en la casa del jefe, una en la fosa séptica de la misma, una en el comedor, una en el depósito debajo del comedor, una en las habitaciones de la dotación, una en la casa de radio, una en el lavadero, una en el almacén y una en el laboratorio (Figura 4). Las trampas permanecieron en el sitio durante 5 días y se colocaron nuevamente otros 5 días. El muestreo en la Base Bellingshausen el muestreo consistió en la colocación de 11 trampas distribuidas en un radio de 500 metros de la Base, tomando como límite sur del Lago Slalom, límite norte Iglesia Trinity, límite oeste Cañada, cinco de las trampas colocadas a lo largo de la cañada próxima a base, dos en los dormitorios, una en la cámara séptica, una en el depósito, una en el incinerador y una junto al comedor principal, con una permanencia de 5 días (Figura 5). Para todas las trampas los ejemplares recogidos fueron conservados en alcohol 70% en envases de plástico y transportados al laboratorio de entomología de la Facultad de Ciencias para su acondicionamiento definitivo



Fig. 4 - Trampa de caída colocada.

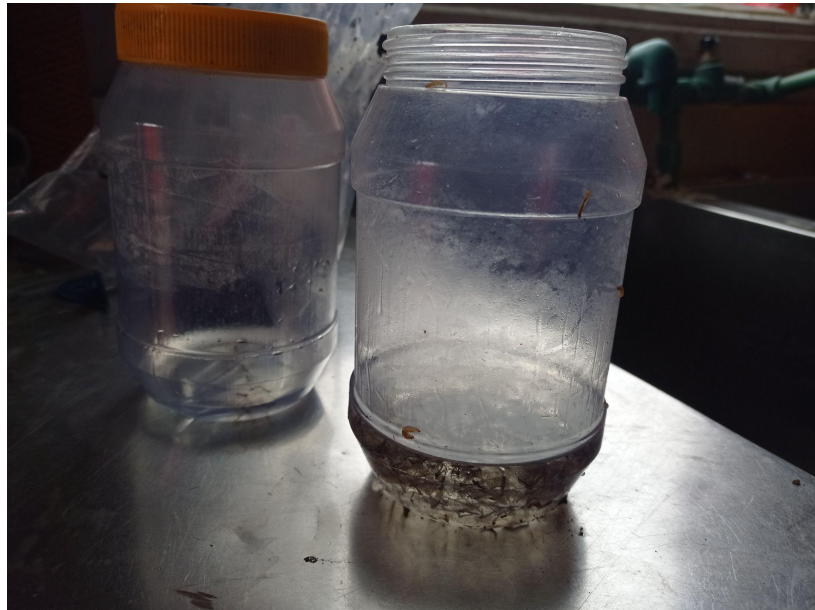


Fig. 5 - Ejemplo de trampa pitfall con ejemplares adultos recolectada en BCAA.

Para la realización de análisis morfométricos se seleccionó un lote de la BCAA y uno de la Base Bellingshausen. De acuerdo al estado de conservación, las alas, derecha e izquierda, de cada ejemplar fueron removidas para su posterior montaje. Estas alas fueron montadas entre porta y cubreobjeto, utilizando alcohol 70% como soporte. Cada ala montada fue fotografiada individualmente con una cámara fotográfica Dino-Eye incorporada a un microscopio estereoscópico. Dichas imágenes fueron ingresadas a un banco de datos con la identificación de procedencia, trampa y año de muestreo. Se separó un lote de preparados que fueron depositados en la Colección de Entomología de la Facultad de Ciencias (Fig. 6).

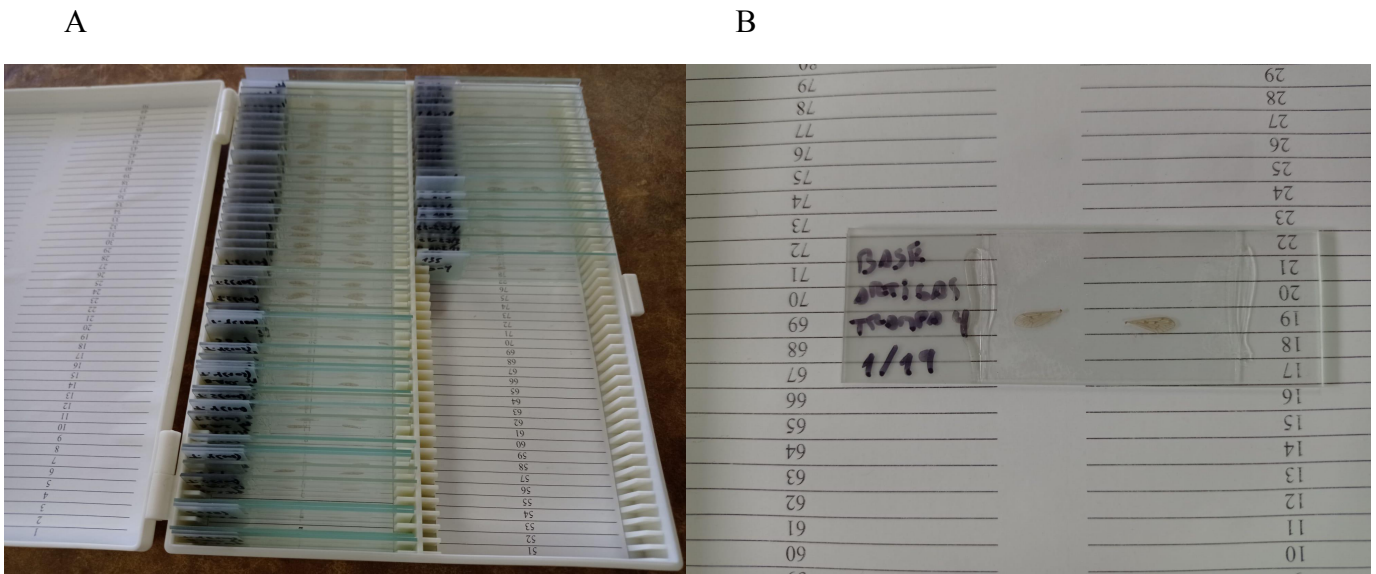


Fig. 6 - A) pares alares montados . B) código identificador (sitio, número de trampa y fecha).

A partir de las imágenes tomadas, se empleó el programa tpsUtil libre para la digitalización de las imágenes. Se seleccionaron manualmente 36 landmarks (en adelante LMs), para cada una de las imágenes de las alas, mediante el software libre tpsDIG2 de la serie TPS (Fig. 7) .

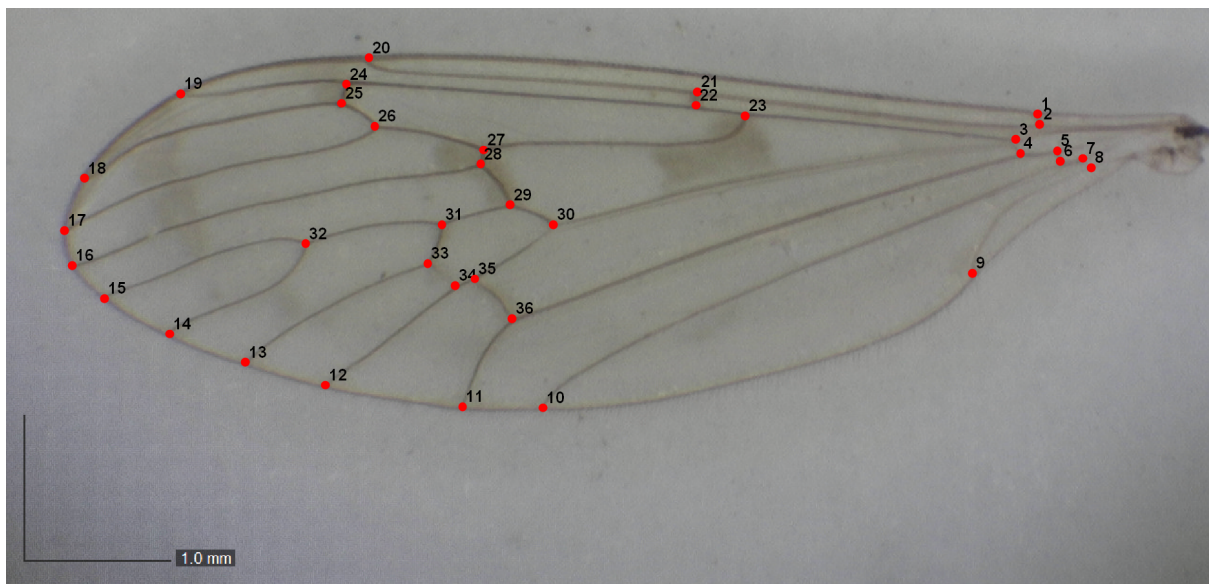


Fig. 7 - Fotografía del ala de *Trichocera maculipennis* mostrando los 36 Landmarks.

Para los análisis de morfometría geométrica se utilizó el programa open source MorphoJ. Mediante el Análisis de Procrustes se eliminaron los aspectos de escala, traslación y rotación para estandarizar cada muestra según el tamaño de centroide. Dicho programa superpone las imágenes (LMs) y escalar el tamaño de las mismas para así poder comparar la forma de las alas. Los pasos de este análisis son: 1) se escala el tamaño de centroide para poder comparar LMs; 2) se traslada la configuración de las alas poniéndolas en el mismo set de coordenadas de centroide (0,0) y 3) se rota la configuración sobre el centroide para poder superponer las imágenes (Rohlf, 1990).

Una vez realizado el análisis de Procrustes, se elaboró una matriz de covarianza utilizando los clasificadores “año de muestreo” y “Base” para poder analizar los posibles cambios en la morfología alar según el año y el lugar de colecta. Se asignó un clasificador mixto (año de muestreo y Base) con el cual se evaluó las características de forma alar que agruparon a los ejemplares analizados. Esto es necesario para que el programa pueda leer ordenadamente los valores a modo de una tabla compuesta de los datos obtenidos en el análisis de Procrustes ordenados en filas de diferentes valores o covarianzas.

Se calculó la distancia de Procrustes así como también la de Mahalanobis, cuya mayor ventaja es que tiene en cuenta la varianza y la correlación de las variables, lo que significa que es especialmente útil en situaciones en las que las variables no están independientes entre sí o tienen diferentes escalas. Además, se puede utilizar para eliminar variables irrelevantes o redundantes en la selección de variables.

Se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA), una técnica estadística que se utiliza para reducir la dimensionalidad de un conjunto de datos. En esencia, el PCA busca una combinación lineal de las variables originales que capture la mayor cantidad posible de la varianza en los datos, de modo que los datos se puedan representar en un espacio de menor dimensión. En otras palabras, el PCA permite reducir un conjunto de datos con muchas variables a un conjunto de datos con menos variables, manteniendo la mayor cantidad posible de información. Esto es útil en muchas aplicaciones, como la visualización de datos, la reducción del ruido en los datos, la identificación de patrones en los datos y la eliminación de la correlación entre las variables. Se aplicó un Análisis de Variación Canónica (CVA), mediante el cual obtenemos una gráfica que nos permite interpretar la posible separación o no, en grupos, de nuestro set de datos dependiendo de los componentes con mayor varianza, relativos a la Base y al año.

Resultados

Procrustes ANOVA

Para evaluar el error de medición se utilizó un análisis de Procrustes ANOVA, en la Tabla I se muestra que el cuadrado de la variación individual superó el error de medición (error de MS $0.0000771868 < \text{individual MS } 0.0001327627$).

Tamaño de centroide:					
Effecto	SS	MS	df	F	P (param.)
Individual	806220,1844	806220,1844	1	3,06	0,1787
Error 1	791329,5599	263776,52	3	2920,34	<.0001
Residual	830710,7259	1892,279558	439		

Forma, Procrustes ANOVA:							
Effecto	SS	MS	df	F	P (param.)	Pillai tr.	P (param.)
Individual	0,0090278 7	0,0001327627	68	1,72	0,002		
Error 1	0,01574611	0,0000771868	204	4,7	<.0001	1,12	<.0001
Residual	0,4872484 2	0,0000164344	29648				

Tabla I - Procrustes ANOVA para forma alar de *T. maculipennis* SS (suma de los cuadrados) y MS (media de los cuadrados) en distancias Procrustes.

Análisis de componentes principales (PCA)

A la hora de analizar la forma de las alas debemos tener en cuenta que la cantidad de dimensiones analizadas va a depender de la cantidad de LMs de acuerdo a la siguiente fórmula $2 \cdot k - 4$, donde k es la cantidad de LMs (36), por lo tanto, se trabajó con 68 dimensiones. El análisis PCA nos permite reducir este número de dimensiones a las dos más importantes, dimensiones en las que se encuentra gran parte de la varianza. Estos dos primeros componentes, PC1=22,147% y PC2=11,500%, totalizando 33,647%, esto nos permite concluir que los análisis a realizar son representativos (Fig. 8). Para visualizar la diferencia entre las alas más claramente, se creó a modo de representación visual un esquema (Wireframe), que nos muestra el ala promedio para cada Base/Año (Fig. 9). También se realizó una gráfica en la cual se combinan los promedios de las alas con la gráfica de componentes principales pudiendo observar como las alas de BCAA, al pasar el tiempo se vuelven más amplias, asemejándose más a la forma y tamaño de las alas de Bellingshausen (Fig. 10). Por último se realizó una gráfica superponiendo las alas promedio mencionadas para facilitar la observación de las diferencias de forma y tamaño (Fig. 11).

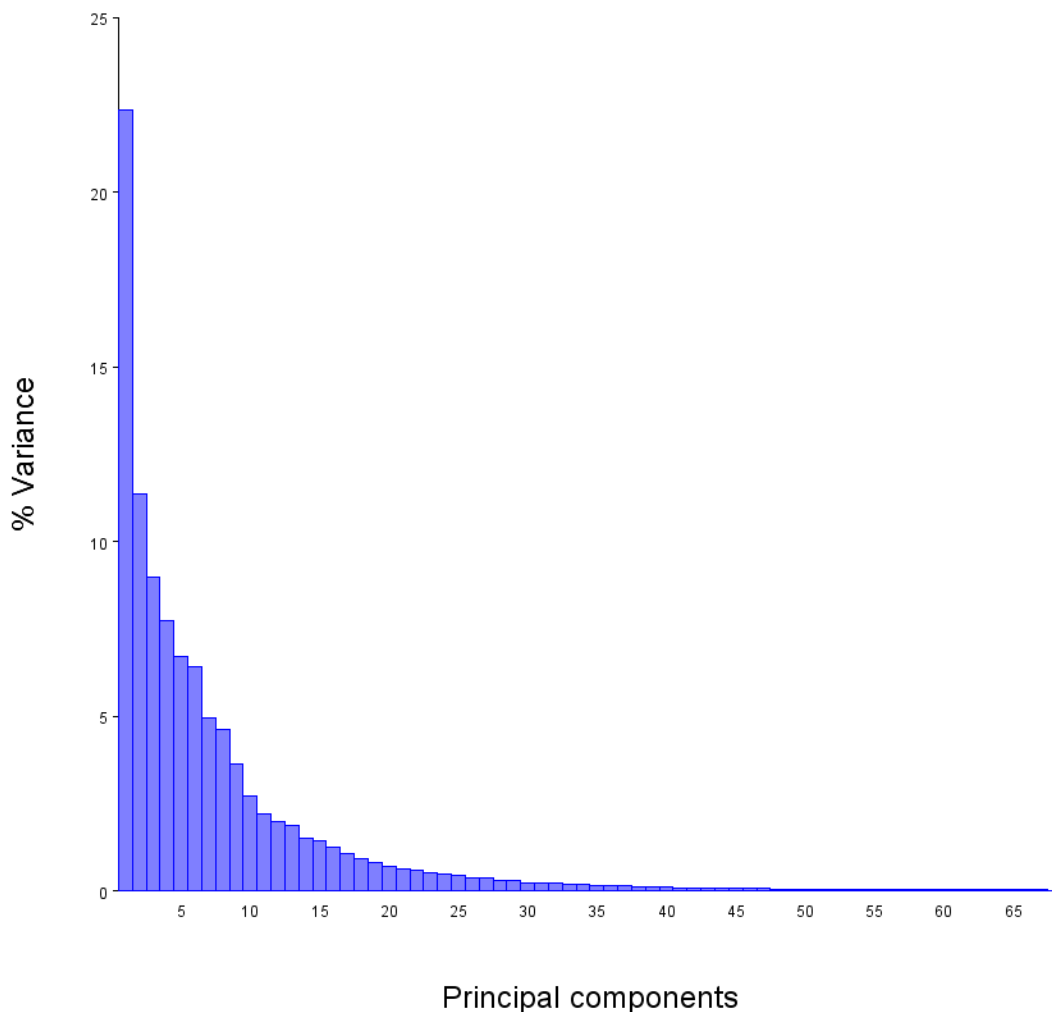


Fig. 8 - Gráfica del PCA obtenida desde “Eigenvalues” en el archivo del proyecto (MorphoJ), donde se observan los componentes principales de la varianza.

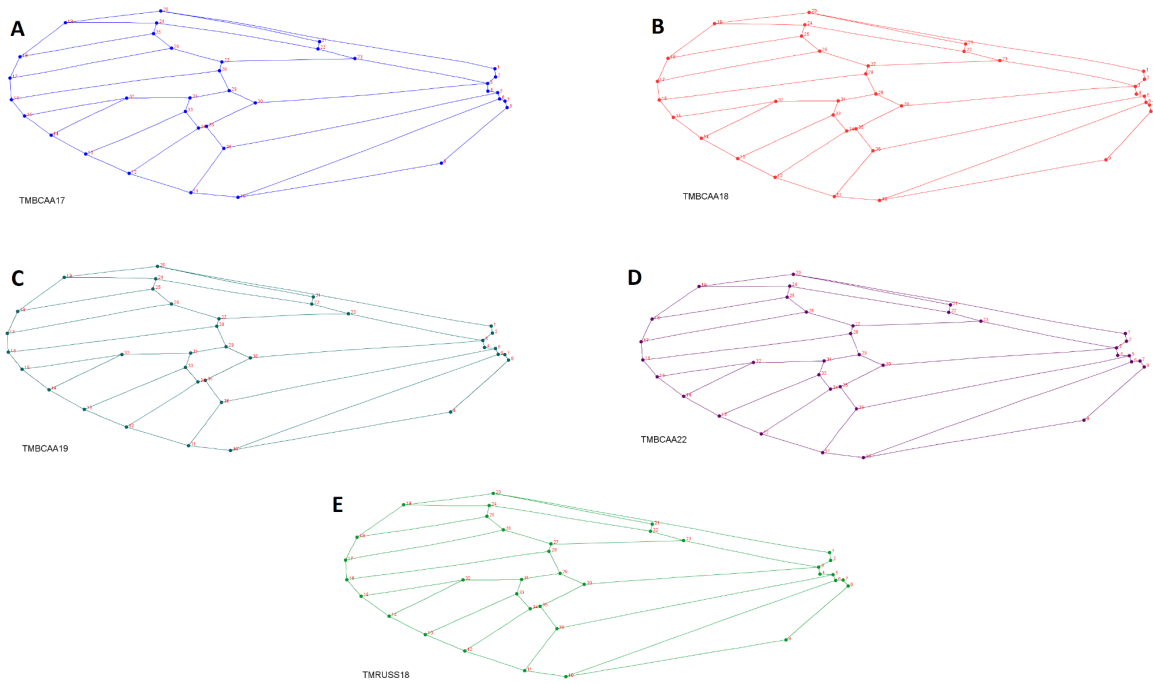


Fig. 9 - Esquema (Wireframe) que permite comparar las formas promedio de las alas. A) BCAA 2017; B) BCAA 2018; C) BCAA 2019; D) BCAA 2022 y E) Bellingshausen 2018.

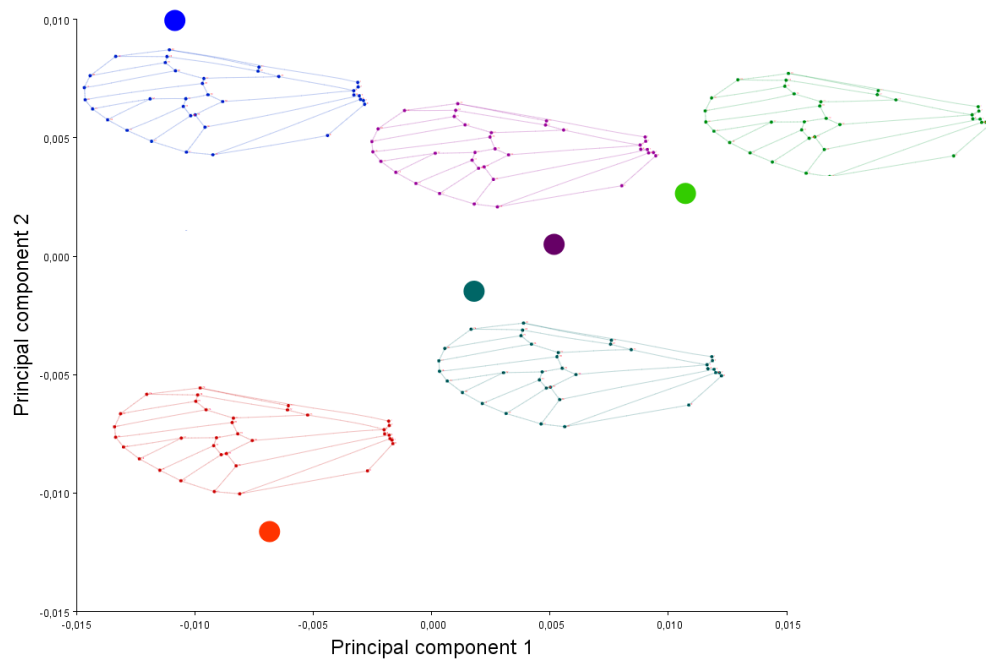


Fig. 10 - Gráfica de componentes principales con formas promedio de las alas relativas a la base/año. BCAA 2017 (Azul); BCAA 2018 (Rojo); Bellingshausen 2018(Verde claro); BCAA 2019 (Verde oscuro); BCAA 2022 (Violeta).

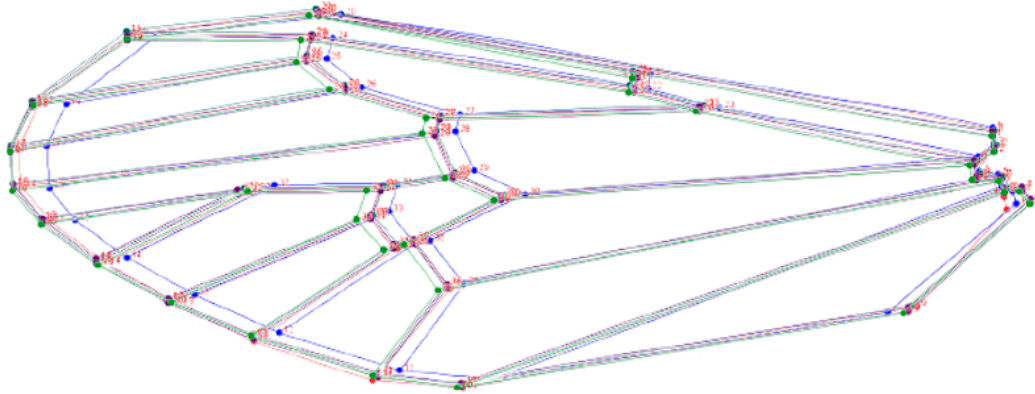


Fig. 11 - Superposición de las alas promedio en función de la base/año.

Análisis de variación canónica

Aplicando el análisis de variación canónica (CVA) se pudo observar una superposición entre las poblaciones de *T. maculipennis* relativas a la BCAA y la base Bellingshausen en función a los años de muestreo. Este análisis nos muestra diferencias significativas en la forma alar entre los individuos recolectados en las diferentes campañas realizadas en ambas bases. Al comparar las poblaciones observamos que, relativo a Bellingshausen 2018, la que más se solapa es BCAA 2018, así como también observamos una separación entre los elipses de los años 2017, 2018 y 2019 con 2022 de BCAA, que sin embargo continúan teniendo un área de solapamiento (Fig. 12).

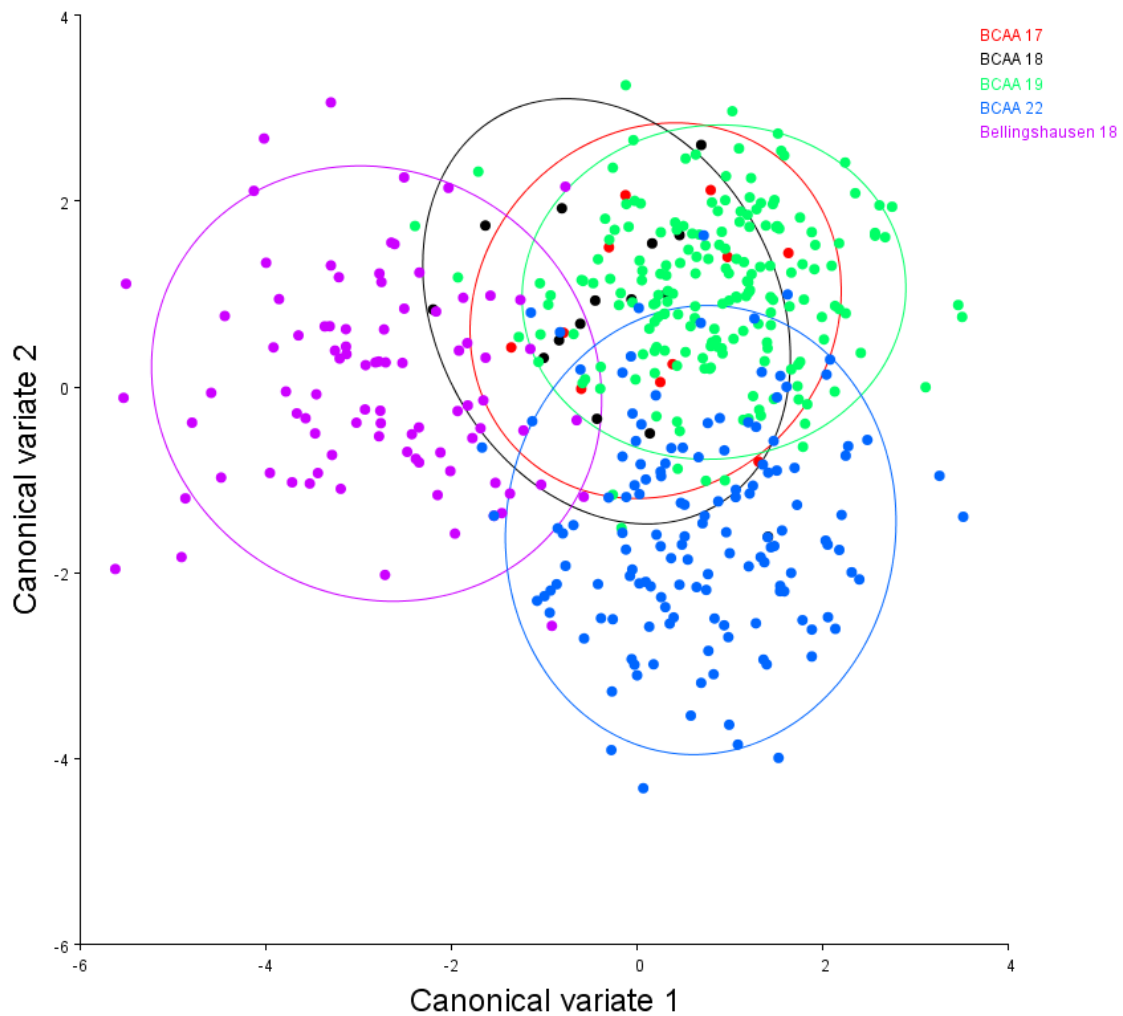


Fig. 12 - Gráfica del CVA a partir de “CVscores” en el archivo del proyecto (MorphoJ) que ilustra el análisis de variación canónica.

Análisis de función discriminante

Realizando una Función Discriminante podemos comparar más fácilmente las diferencias entre los individuos recolectados en la BCAA y Base Bellingshausen en el año 2018, para así notar que relación se encuentra entre las similitudes y las diferencias presentes entre los mismos. Esto sumado a la información dada por las distancias de Procrustes y Mahalanobis obtenidas (esta vez para todos los años de muestreo), nos permite analizar esas diferencias entre los individuos recolectados (Fig. 13, 14 y Tabla II).

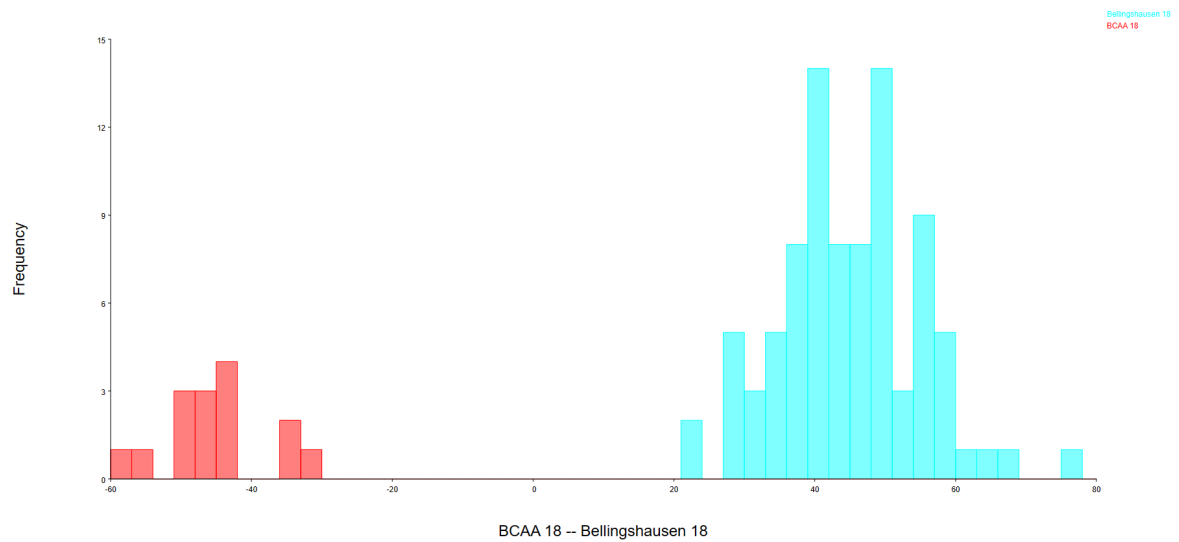


Fig. 13 - Función discriminante entre las correlaciones de forma de los individuos muestreados en BCAA y Bellingshausen en el año 2018, a partir de “Discriminant scores” en el archivo del proyecto (MorphoJ). El contorno rojo simboliza el consenso mientras que el azul las deformaciones de los ejemplares de ambos sitios.

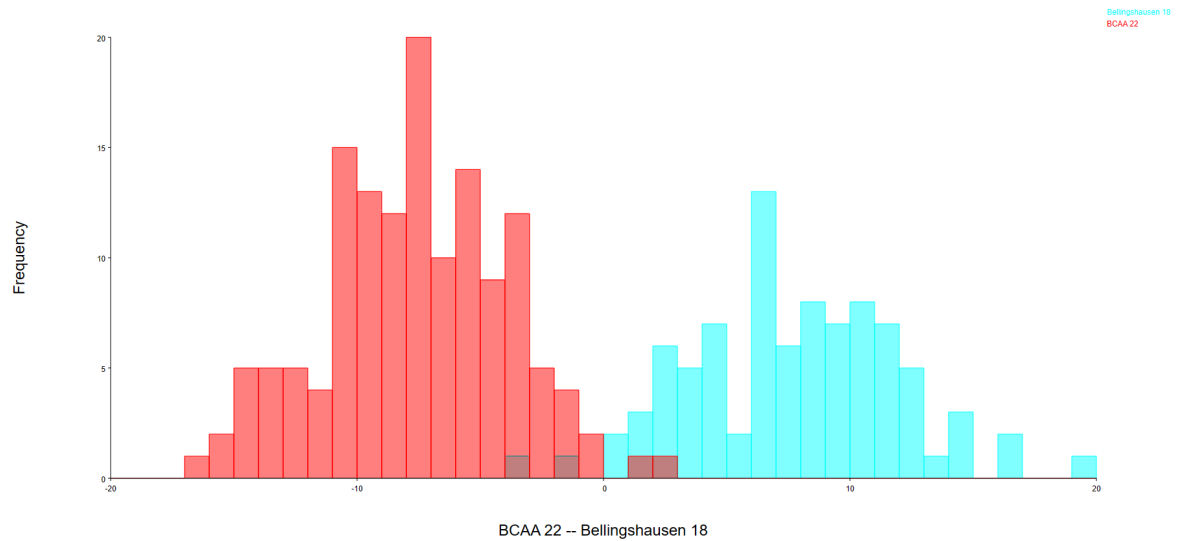


Fig. 14 - Función discriminante entre las correlaciones de forma de los individuos muestreados en BCAA en los años 2019 y 2022, a partir de “Discriminant scores” en el archivo del proyecto (MorphoJ). El contorno rojo simboliza el consenso mientras que el azul las deformaciones de los ejemplares de ambos sitios.

	BCAA 17	BCAA 18	BCAA 19	BCAA 22	Bellingshausen 18
BCAA 17		0,0134	0,0129	0,0155	0,013
BCAA 18	3,9293		0,0163	0,0184	0,0112
BCAA 19	3,4658	3,4118		0,0081	0,0141
BCAA 22	4,0094	3,9285	2,5747		0,0166
Bellingshausen 18	4,5397	4,102	3,7644	3,8312	

Tabla II - Distancia de Mahalanobis (azul) y distancia de Procrustes (rojo) entre la totalidad de sitios de muestreo/años (prueba de 1000 permutaciones, $P < 0,0001$).

Las distancias de Procrustes y Mahalanobis (siendo ambas medidas estadísticas que nos permiten calcular distancias entre puntos), coinciden en que los individuos con menor distancia (más parecidos), son los pertenecientes a BCAA en los años 2019 y 2022 con una distancia de Mahalanobis igual a 2,5747 y una distancia de Procrustes igual a 0,0081.

Regresión lineal

La regresión lineal nos permite relacionar el tamaño de centroide (forma de los individuos) contra la Regression score 1 (tamaño) (Fig. 15).

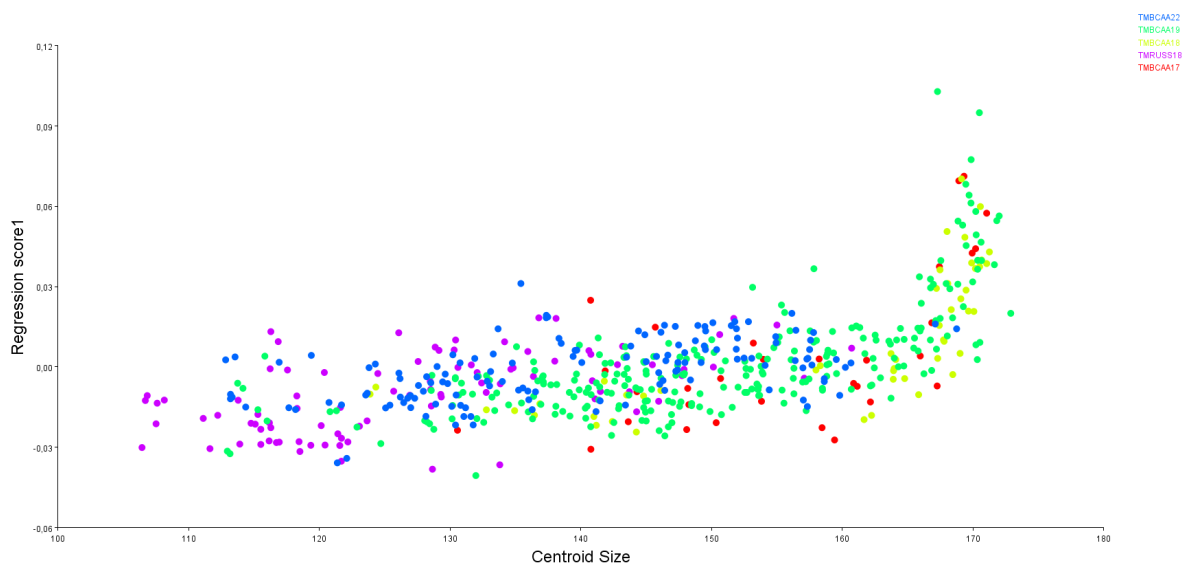


Fig. 15 - Regresión lineal en la que se observan las diferentes bases/años en relación a su forma y tamaño relativas, a partir de "Scores" en el archivo del proyecto (MorphoJ).

Conclusiones y discusión

Se utilizaron 346 alas de la BCAA y 90 de Bellingshausen, provenientes de 215 y 49 ejemplares respectivamente. Al ver los componentes principales 1 y 2 (PC1 y PC2) obtenidos en el PCA, observamos que 33,647% de la varianza se ve expresada en los mismos (Fig. 8), por lo cual podemos decir que los datos obtenidos posteriormente son representativos al estar utilizando los componentes con mayor variación o relevancia.

En los años estudiados se logró visualizar una morfología fluctuante en las alas, donde las alas de los individuos recolectados en BCAA son más pequeñas (cortas y angostas) que las de Bellingshausen (Fig. 11). Las primeras al pasar los años de muestreo, tienden a parecerse cada vez más en forma y tamaño a las alas de Bellingshausen (alargadas y amplias). Estos cambios pueden ser asociados con intentos de adaptación al medio antártico por parte de *T. maculipennis*. Tomando en cuenta los fuertes vientos presentes en la isla Rey Jorge y al ser estos insectos malos voladores, siendo que su vuelo voluntario ocurre mayormente en distancias cortas, mientras que el vuelo de largas distancias ocurre debido a corrientes de viento, tal como observó Johnson (1969) en otros dípteros, podemos pensar que al poseer alas más grandes, *T. maculipennis* pudiera desplazarse más distancia. De esta forma, no se generaría solo intercambio de individuos entre las poblaciones estudiadas (explicando esto la tendencia hacia el morfotipo alar de los individuos de Bellingshausen de los individuos colectados en BCAA), sino que también colonizando nuevas zonas de la isla, sugiriendo así su dispersión a las múltiples bases que reportan su presencia (Service, 1997). Service (1997) indica que familias emparentadas con *Trichocera*, pueden desplazarse 1-5 km, entrando en el rango de distancia entre BCAA y base Bellingshausen (2 km). La dispersión de especies de nematoceros sigue siendo un tema de debate (Service, 1997).

Si bien no se ha encontrado literatura que cite ejemplos de transporte de largas distancias para ejemplares de Trichoceridae, si hay ejemplos de otras y su transporte por el viento (Johnson 1969; Laird 1984). Por ejemplo, la salida masiva y dispersión de *Ae. taeniorhynchus* de los pantanos salados de la costa este de Estados Unidos y la captura de adultos en plataformas petrolíferas a 74 y 106 km de la costa de Louisiana y a bordo de un barco navegando a varios cientos de kilómetros de la costa del Mar de China Oriental (Hayashi et al. 1978a, b), recuperación de la especie de pantano salado *Aedes vigilax* Skuse a 96,5 km tierra adentro en Australia, recolección de *Aedes sollicitans* Walker, otro mosquito de pantano salado, a bordo de un barco que no pasó más cerca de 177 km de la costa oeste de los Estados Unidos (Service 1980 para referencias), y la captura de *Aedes squamiger* Coquillett marcados en California a 61 km del punto de liberación (Aarons et al. 1951).

Una revisión de la literatura (Service 1993a) muestra que la máxima distancia volada por los dípteros nematoceros, basada principalmente en métodos de captura-marca-recaptura, suele ser de solo 1-5 km, y alrededor de la mitad de los registros son <1 km. Estas fueron las distancias más lejanas registradas, y muchos más mosquitos son capturados dentro de distancias mucho más pequeñas de sus sitios de liberación. Es notable que las distancias más

largas voladas por *Ae. aegypti* suelen ser solo de unos pocos cientos de metros (Service 1997).

Service (1997) indica que los dípteros nematóceros necesitan dispersarse para encontrar sitios de descanso, alimento, poder copular y encontrar lugares adecuados para oviponer. Si estos están cerca, se acorta el área de dispersión. Por ejemplo, los adultos de *A. quadrimaculatus* en los Estados Unidos y *An. melas* en África Occidental generalmente se dispersan sólo unos pocos cientos de metros, pero Eyles et al. (1945) registraron vuelos de 3 km por la primera especie cuando las hembras tuvieron que cruzar un amplio pantano inhabitado para encontrar huéspedes. En Gambia, Giglioli (1964, 1965) descubrió que *A. melas* viajaba regularmente 1.6-4 km desde sus sitios de cría en los manglares hasta los aldeanos para alimentarse y luego regresar para oviponer. Observamos un solapamiento en las poblaciones, esto podría significar que las distintas poblaciones (BCAA y Base Bellingshausen), cuentan con un intercambio de individuos, pero que son relativamente independientes, dado que las nubes observadas en el CVA se identifican como diferentes (Fig. 12).

Mediante los resultados de la Función Discriminante se observó la diferencia entre el consenso y las deformaciones relativas a un mismo año en los individuos recolectados en ambas bases. Esto permite visualizar la diferencia alar entre los individuos, siendo que en los datos del año 2018 (Fig. 13), la BCAA tiene menos consenso con los datos de la base Bellingshausen en el año 2018 al compararla con la BCAA en 2022, donde el consenso es mayor, así como también se observa menos cantidad de deformaciones (Fig. 14). Esto podría significar que al pasar el tiempo las poblaciones de ambas bases se van homogeneizando, lo cual podría ser un indicio de la adaptación de esta especie no nativa al ecosistema de la isla Rey Jorge. Al ver las variaciones morfológicas, notamos continuidad entre las nubes pertenecientes a BCAA, que podría indicar la presencia de una población que, a pesar de los cambios que surgen año a año, mantiene una tendencia. Las distancias de Procrustes y Mahalanobis podrían indicar que las poblaciones se vuelven cada vez más estables, tendiendo a parecerse a los ejemplares de la base Bellingshausen (2018), dificultando la aplicación de protocolos para su erradicación (Tabla II).

Los resultados obtenidos en este trabajo podrían ser de utilidad en proyectos futuros que continúen con el estudio de esta especie no nativa en los ecosistemas antárticos, dado que se analizaron y recopilaron datos de varias campañas antárticas ocurridas en diferentes años. Un programa de monitoreo continuo debería ser incluido en un protocolo para seguir analizando posibles cambios en la morfología alar de los individuos dentro del área de muestreo. Los programas de erradicación o mitigación de las especies invasoras requieren protocolos complejos en su aplicación. En especial la fragilidad de los ecosistemas antárticos hacen que estos protocolos deben ser aprobados por todas las partes y en lo posible no dilatar su puesta en marcha (Hughes et al., 2005). En la actualidad hay varios métodos con los cuales analizar las posibles vías de introducción de una especie invasora. Un ejemplo son los análisis genéticos y otro es la morfometría geométrica (Benítez & Püschel, 2014).

Analizando los resultados, podemos concluir que la Morfometría Geométrica, es una herramienta útil para cuantificar posibles variaciones en la forma alar del insecto dentro de una o varias poblaciones, tal como han concluido en trabajos anteriores (Jaramillo & Wolff, 2002; Martínez Barragán, 2018; Soto-Vivas *et al.*, 2007; Vasquez & Liria, 2012).

Como conclusión final, aceptamos la hipótesis planteada ya que, considerando los resultados obtenidos, se puede afirmar que las poblaciones estudiadas de *T. maculipennis* en BCAA y base Bellingshausen presentan heteromorfismos alares.

Consideraciones finales

Las invasiones biológicas son una de las mayores amenazas para la biodiversidad en la Tierra (McKinney y Lockwood, 1999; McNeely, 2001). Representa un gran riesgo para la supervivencia de las especies nativas y es responsable de los mayores cambios en la estructura y funcionamiento de los ecosistemas (Mack *et al.*, 2000; Scott & Kirkpatrick, 2008). La introducción de especies invasoras puede ocurrir por razones económicas, científicas y/o sociales, con consecuencias imprevistas (Mack *et al.*, 2000). En general, estas especies no tienen depredadores en los nuevos ambientes que colonizan, por lo que carecen de controladores naturales (McNeely, 2001). Con la llegada del hombre a la Antártida a finales del siglo XVIII y principios del XIX, se viene registrando un aumento en el número de especies no autóctonas en esta región del planeta (Frenot *et al.*, 2005; Convey & Lebouvier, 2009). El aislamiento espacial del continente antártico, sus condiciones climáticas extremas y la falta de hábitat adecuado llevaría a pensar que ofrecen cierta protección contra la colonización de especies no nativas (Hughes & Convey, 2014), sin embargo actualmente tanto las islas que rodean la Antártida como el continente mismo se han visto afectados por especies invasoras (Frenot *et al.*, 2005; Convey & Lebouvier, 2009; Hughes & Worland, 2010; Hughes *et al.*, 2015).

Dentro de las alas procesadas, se esperaba que prácticamente todas constaran de un mapa de venaciones bastante similar, sin embargo se encontraron algunas que estaban fuera de lo esperado debido a la falta, duplicación o aparición de venaciones particulares (Fig. 16).

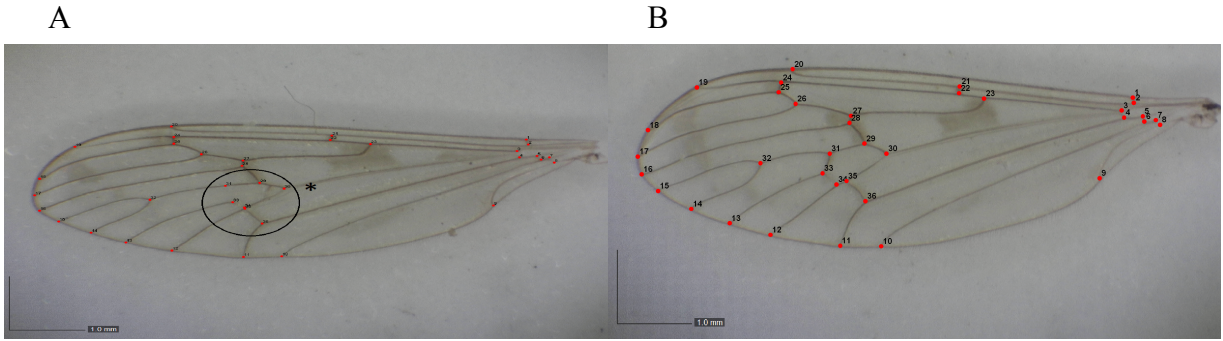


Fig. 16 - A) Ala con cambios en la venación B) Ala con venación normal

Bibliografía

- Aarons, T., Walker, J. R., Gray, H. F., & Mezger, E. G. (1951). Studies of the flight range of *Aedes squamiger* (Coquillett). *Proc. California Mosquito Control Association*, 19, 65-9.
- Adams, D. C., & Funk, D. J. (1997). Morphometric inferences on sibling species and sexual dimorphism in *Neochlamisus bebbianae* leaf beetles: multivariate applications of the thin-plate spline. *Systematic biology*, 46(1), 180-194.
- Adams, D. C., & Rohlf, F. J. (2000). Ecological character displacement in *Plethodon*: biomechanical differences found from a geometric morphometric study. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(8), 4106-4111.
- Adams, D. C., Rohlf, F. J., & Slice, D. E. (2004). Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Italian journal of zoology*, 71(1), 5-16.
- Alibert, P., Moureau, B., Dommergues, J. L., & David, B. (2001). Differentiation at a microgeographical scale within two species of ground beetle, *Carabus auronitens* and *C. nemoralis* (Coleoptera, Carabidae): a geometrical morphometric approach. *Zoologica Scripta*, 30(4), 299-311.
- Belkin, J. N. (1962). The Mosquitoes of the South Pacific (Diptera, Culicidae), Vol. 2. *The Mosquitoes of the South Pacific (Diptera, Culicidae), Vol. 2*.
- Benítez, H. A., & Püschel, T. A. (2014). Modelando la varianza de la forma: Morfometría Geométrica Aplicaciones en Biología Evolutiva. *International Journal of Morphology*, 32(3), 998-1008.
- Bruce, L. J. (1970). Global review of malaria control and eradication by attack on the vector. In *Conference on Anopheline Biology and Malaria Eradication* (p. 7). Entomological Society of America.
- Calle, D. A., Quiñones, M. L., Erazo, H. F., & Jaramillo, N. (2008). Discriminación por morfometría geométrica de once especies de *Anopheles* (Nyssorhynchus) presentes en Colombia. *Biomédica*, 28(3), 371-385.
- Chown, S. L., & Convey, P. (2016). Antarctic entomology. *Annual review of entomology*, 61, 119-137.
- Convey, P. (1996). The influence of environmental characteristics on life history attributes of Antarctic terrestrial biota. *Biological Reviews*, 71(2), 191-225.
- Convey, P., & Lebouvier, M. (2009). Environmental change and human impacts on terrestrial ecosystems of the sub-Antarctic islands between their discovery and the mid-twentieth century. In *Papers and proceedings of the royal society of Tasmania* (Vol. 143, No. 1, pp. 33-44).

- Contador, T., Gañan, M., Bizama, G., Fuentes-Jaque, G., Morales, L., Rendoll, J., & Convey, P. (2020). Assessing distribution shifts and ecophysiological characteristics of the only Antarctic winged midge under climate change scenarios. *Scientific Reports*, *10*(1), 9087.
- Dahl, C. (1965). *Studies on swarming activity in Trichoceridae (Diptera) in Southern Sweden*. Entomologiska sällskapet.
- Dahl, C. (1966). Notes on the taxonomy and distribution of Swedish Trichoceridae (Dipt. Nemat.). *Opusc. Ent.*, *31*, 93-118.
- Dahl, C. (1967). Notes on the taxonomy and distribution of Arctic and Subarctic Trichoceridae (Dipt. Nem.) from Canada, Alaska and Greenland. *Opuscula entomologica*, *32*(1-2), 49-78.
- Dahl, C., & Alexander, C. P. (1976). A world catalogue of Trichoceridae Kertész, 1902*(Diptera). *Insect Systematics & Evolution*, *7*(1), 7-18.
- Dahl, C., & Krzemińska, E. (1997). Family: trichoceridae. *Contributions to a manual of Palaearctic Diptera*, *2*, 227-236.
- de La Fuente, H. B., Jerez, V., & Briones, R. (2010). Proporción sexual y Morfometría para dos poblaciones de *Ceroglossus chilensis* (eschsoltz, 1829)(Coleoptera: Carabidae) en la Región del Biobio Chile (text spanish). *Revista Chilena de Entomología*, *35*(1), 61-70.
- Eyles, D. E., Sabrosky, C. W., & Russell, J. C. (1946). *Long-range dispersal of Anopheles quadrimaculatus*. US Government Printing Office.
- Frenot, Y., Chown, S. L., Whinam, J., Selkirk, P. M., Convey, P., Skotnicki, M., & Bergstrom, D. M. (2005). Biological invasions in the Antarctic: extent, impacts and implications. *Biological reviews*, *80*(1), 45-72.
- Giglioli, M. E. C. (1964). Tides, salinity and the breeding of *Anopheles mêlas* (Theobald, 1903) during the dry season in the Gambia. *Rivista di malariologia*, *43*(4-6).
- Giglioli, M. E., & Thornton, I. (1965). The mangrove swamps of Keneba, Lower Gambia River Basin. I. Descriptive notes on the climate, the mangrove swamps and the physical composition of their soils. *Journal of applied ecology*, 81-103.
- Grimshaw, P. H. (1906). On the occurrence of a new British fly (*Trichocera maculipennis*, Mg.) in the fourth district. *Annals of Scottish natural history*, *15*(59), 210.
- Hackett, L. W. (1948). *Distribution of malaria*, pp. 722-735. In M.F. Boyd [ed.], *Malaria. A comprehensive survey of all aspects of this group of diseases from the global standpoint, vol. 1*. Saunders, Philadelphia, PA.
- Haeger, J. S. (1960). Behavior preceding migration in the salt-marsh mosquito, *Aedes taeniorhynchus* (Wiedemann). *Mosquito News*, *20*(2).
- Hågvar, S., & Krzemińska, E. (2008). Contribution to the winter phenology of Trichoceridae (Diptera) in snow-covered southern Norway. *Stud. Dipterol*, *14*, 271-283.

- Hayashi, K. (1978). Ecology of Japanese encephalitis virus in Japan, particularly the results of surveys in every interepidemic season from 1964 to 1976. *Trop. Med.*, 20, 81-96.
- Hayashi, K., H. Suzuki, and S. Asahina. (1978b). *Note on the transoceanic insects captured on East China Sea in 1977. Trop. Med.* 20: 131-142 (in Japanese, English summary).
- Horsfall, W. R. (1954). A migration of *Aedes vexans* Meigen. *Journal of Economic Entomology*, 47(3).
- Hughes, K.A. & Convey, P. (2014). *Alien invasions in Antarctica — is anyone liable?* Polar Research 33, 22103. <http://dx.doi.org/10.3402/polar.v33.22103>.
- Hughes, K. A., Pertierra, L. R., Molina-Montenegro, M. A., & Convey, P. (2015). Biological invasions in terrestrial Antarctica: what is the current status and can we respond?. *Biodiversity and Conservation*, 24, 1031-1055.
- Hughes, K. A., & Worland, M. R. (2010). Spatial distribution, habitat preference and colonization status of two alien terrestrial invertebrate species in Antarctica. *Antarctic Science*, 22(3), 221-231.
- Johnson, C. G. (1969). *Migration and dispersal of insects by flight*. Methuen, London.
- Kirkpatrick, T. W. (1925). Preliminary Notes on the Determination of Egyptian Mosquitos, with Descriptions of three Species new to Science. *Bulletin de la Societe Entomologique d'Egypte*, 17.
- Kliwer, J. W., Miura, T., & Chapman, H. C. (1969). Seasonal occurrence and physiology of *Culex tarsalis* in foothills of Fresno County, California. *Annals of the Entomological Society of America*, 62(1), 13-18.
- Jaramillo O, N., Castillo, D., & Wolff E, M. (2002). Geometric morphometric differences between *Panstrongylus geniculatus* from field and laboratory. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97, 667-673.
- Karandikar, K. R. (1931). The early stages and bionomics of *Trichocera maculipennis* (Meig.) (Diptera, Tipulidae). *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, 79(2), 249-260.
- Krzemińska, E. (2005). Subfamily Paracladurinae. III. Phylogenetic biogeography: two new genera and three species described (Diptera, Trichoceridae). *New Zealand Journal of Zoology*, 32(4), 317-352.
- Laird, M. (1984). Commerce and the spread of pests and disease vectors. In *15th Pacific Science Congress, Dunedin, NZ (USA), 1983*. Praeger.
- León, M. R. D., Hughes, K. A., Morelli, E., & Convey, P. (2021). International response under the Antarctic Treaty System to the establishment of a non-native fly in Antarctica. *Environmental Management*, 67, 1043-1059.

- Lindroth, C. H. (1931). Die Insektenfauna Islands und ihre Probleme. Zool. Bidrag fr. *Uppsala. XIII. Uppsala.*
- Mack, R. N., Simberloff, D., Mark Lonsdale, W., Evans, H., Clout, M., & Bazzaz, F. A. (2000). Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological applications*, 10 (3), 689-710.
- Martínez Barragán, L. D. (2018). Morfometría geométrica en las alas de *Aedes aegypti* en dos poblaciones endémicas de dengue en Colombia. Retrieved from <https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia/35>.
- McKinney, M. L., & Lockwood, J. L. (1999). Biotic homogenization: a few winners replacing many losers in the next mass extinction. *Trends in ecology & evolution*, 14 (11), 450–453. [https://doi.org/10.1016/s0169-5347\(99\)01679-1](https://doi.org/10.1016/s0169-5347(99)01679-1).
- McNeely, J. A. (Ed.). (2001). *Global strategy on invasive alien species*. IUCN.
- Miguel, I., Baylac, M., Iriando, M., Manzano, C., Garnery, L., & Estonba, A. (2011). Both geometric morphometric and microsatellite data consistently support the differentiation of the *Apis mellifera* M evolutionary branch. *Apidologie*, 42, 150-161.
- Ji-guang, Ming., Hua, J., Riley, J. R., Reynolds, D. R., Smith, A. D., Ren-lai, Wang., & XIA-NIAN, C. H. E. N. G. (1993). Autumn southward ‘return’ migration of the mosquito *Culex tritaeniorhynchus* in China. *Medical and Veterinary Entomology*, 7(4), 323-327.
- Petrašiūnas, A. V., & Paramonov, N. M. (2014). New data on the distribution of winter gnats (Diptera, Trichoceridae) in Russia. *Entomological review*, 94, 190-199.
- Peres-Neto, P. R. (1995). Introdução a análises morfométricas. *Oecologia Brasiliensis* 2(1): 57-89.
- Plachter, H. (1983). Cave-dwelling flies in Central Europe: adaptation to environment, especially to low temperatures (Diptera, Nematocera: Trichoceridae et Sciaridae). *Oecologia*, 58(3), 367-372.
- Portillo, M. T. E., & Plata, J. A. S. (2008). P. CH. Mahalanobis y las aplicaciones de su distancia estadística. *CULCyT: Cultura Científica y Tecnológica*, 5(27), 13-20.
- Potocka, M., & Krzemińska, E. (2018). *Trichocera maculipennis* (Diptera)—an invasive species in Maritime Antarctica. *PeerJ*, 6, e5408.
- Reisen, W. K. (1978). A quantitative mosquito survey of 7 villages in Punjab Province, Pakistan with notes on bionomics, sampling methodology and the effects of insecticides. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 9(4), 587-601.
- Remedios-De León, M., Convey, P., Hughes, K. A y Morelli, E. (2020). The non-native Diptera *Trichocera* (Saltrichocera) *maculipennis* Meigen, 1818 (Diptera: Trichoceridae) on King George Island: status, trajectories and options. *SCAR Fellowship product*.

- Reynolds, D. R., Smith, A. D., Mukhopadhyay, S., Chowdhury, A. K., De, B. K., Nath, P. S., & Sujata, M. (1996). Atmospheric transport of mosquitoes in northeast India. *Medical and veterinary entomology*, *10* (2), 185-186.
- Rohlf, F. J. (1990). Morphometrics. *Annual Review of Ecology and systematics*, *21*(1), 299-316.
- Rohlf, F. J. (1996). Morphometric spaces, shape components and the effects of linear transformations. *Advances in morphometrics*, 117-129.
- Rohlf, F. J., & Slice, D. (1990). Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic biology*, *39*(1), 40-59.
- Ruiz Marín, M. A. (2020). *Morfometría geométrica en Muscidae (Insecta: Diptera) como aporte a su bionomía* (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- Scott, J. J., & Kirkpatrick, J. B. (2008). Rabbits, landslips and vegetation change on the coastal slopes of subantarctic Macquarie Island, 1980–2007: implications for management. *Polar Biology*, *31*, 409-419.
- Séguy, E. (1940). IV Diptères. In: Jeannel R, ed. *Crosière du Bougainville aux îles françaises*. New series 14, Paris: Mémoires du Museum d'Histoire Naturelle, 203–267.
- Séguy, E. (1953). Insectes Mallophages, Anoplures et Dipteres recueillis par MP Paulian aux Iles Kerguelen. *Mémoires de l'Institut Scientifique de Madagascar*, *4*, 553-615.
- Service, M. W. (1980). Effects of wind on the behaviour and distribution of mosquitoes and blackflies. *International Journal of Biometeorology*, *24*, 347-353.
- Service, M. W. (1997). Mosquito (Diptera: Culicidae) dispersal—the long and short of it. *Journal of medical entomology*, *34*(6), 579-588.
- Service, M. W., & Service, M. W. (1993). Sampling Adults with Non-attractant Traps. *Mosquito Ecology: Field Sampling Methods*, 291-348.
- Stallwood, B., Shears, J., Williams, P. A., & Hughes, K. A. (2005). Low temperature bioremediation of oil-contaminated soil using biostimulation and bioaugmentation with a *Pseudomonas* sp. from maritime Antarctica. *Journal of Applied Microbiology*, *99*(4), 794-802.
- Soto-Vivas, A., Liria, J., & Luna, E. D. (2011). Morfometría geométrica y filogenia en *Rhodniini* (Hemiptera, Reduviidae) de Venezuela. *Acta zoológica mexicana*, *27*(1), 87-102.
- Soto Vivas, A., Rodríguez, C., Bonfante-Cabarcá, R., & Aldana, E. (2007). Morfometría geométrica de *Triatoma maculata* (Erichson, 1848) de ambientes doméstico y peridoméstico, estado Lara, Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, *47*(2), 231-235.
- Sparks, A. N., Jackson, R. D., Carpenter, J. E., & Muller, R. A. (1986). Insects captured in light traps in the Gulf of Mexico. *Annals of the Entomological Society of America*, *79*(1), 132-139.

Taylor, F. H. (1943). Part II. Entomological, pp. 142-171. In G. F. Lumley and F. H. Taylor, [eds.], *Dengue*. 3. Service publications. School of Public Health and Tropical Medicine, University of Sydney, Australia.

Toro Ibacache, M. V., Manriquez Soto, G., & Suazo Galdames, I. (2010). Morfometría geométrica y el estudio de las formas biológicas: de la morfología descriptiva a la morfología cuantitativa. *International Journal of Morphology*, 28(4), 977-990.

Tofilski, A. (2008). Using geometric morphometrics and standard morphometry to discriminate three honeybee subspecies. *Apidologie*, 39(5), 558-563.

Vásquez, M. & Liria, J., (2012). Morfometría alar para la identificación de *Chrysomya albiceps* y *C. megacephala* (Diptera: Calliphoridae) de Venezuela. *Rev. Biol. Trop.* 60: 1249-1258.

Volonterio, O., Ponce de León, R., Convey, P., & Krzemińska, E. (2013). First record of Trichoceridae (Diptera) in the maritime Antarctic. *Polar Biology*, 36, 1125-1131.

Wright, M. R. (1918). The Distance Mosquitos can Ply. *Journal of the Bombay Natural History Society*, 25(3).

White, R. S., & Newman, C. D. Studies in Malaria as it affects Indian Railways. Part II. *Studies in Malaria as it affects Indian Railways. Part II.*, (268.-Part 2).

Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., & Sheets, H. D. (2012). *Geometric morphometrics for biologists: a primer*. academic press.
