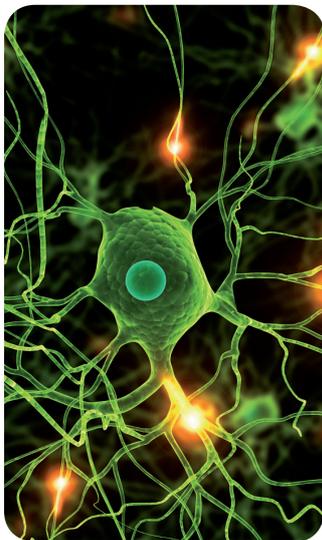




# MÁSTERES de la UAM

Facultad de Ciencias  
/ 15-16

Biodiversidad



**Diversidad  
morfológica  
y molecular de  
*Forficula auricularia*  
Linnaeus, 1758  
(Insecta: Dermaptera)  
en la península  
ibérica**

*Eva Nozal Muñoz*

# Diversidad morfológica y molecular de *Forficula auricularia* Linnaeus, 1758 (Insecta: Dermaptera) en la península ibérica.

EVA NOZAL MUÑOZ  
TRABAJO FIN DE MÁSTER - MÁSTER EN BIODIVERSIDAD



Este trabajo ha sido realizado bajo la dirección del Dr. Mario García París y Paloma Mas Peinado. Se desarrolló en el Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN – CSIC). Fue tutelado por el Dr. Enrique García Barros de la Universidad Autónoma de Madrid (UAM). La foto de la portada es propiedad de Mario García París.

# Contenido

---

Resumen .....	3
Introducción .....	4
Objetivos.....	10
Materiales y Métodos.....	11
Material estudiado .....	11
Estudio morfométrico .....	13
Análisis estadísticos .....	14
Extracción, amplificación y secuenciación del ADN mitocondrial.....	14
Análisis filogenéticos .....	16
Resultados .....	19
Análisis morfométricos.....	19
Análisis filogenéticos .....	22
Discusión.....	30
Conclusiones.....	37
Agradecimientos.....	38
Bibliografía.....	39
Anexos .....	48
Anexo I: Lista de ejemplares.....	48

## Resumen

---

La tijereta europea, *Forficula auricularia* Linnaeus, 1758, es probablemente la especie del Orden Dermaptera más conocida en el mundo ya que tienen una distribución cosmopolita. Sin embargo, al hondar en su filogenia se descubrió que en realidad esta especie constituye un complejo de especies, formada por dos linajes distribuidos tanto por Europa occidental y central como por Norteamérica. Teniendo en cuenta la distribución de este complejo y su variabilidad morfológica en la península ibérica, se llevó a cabo este estudio con el fin de conocer y confirmar la posible existencia de los linajes en dicha área. Pudiendo así estimar de manera correcta la biodiversidad de dermápteros. Para ello, tomando una visión integradora de la taxonomía, se han realizado estudios de caracterización morfométrica y molecular utilizando el marcador mitocondrial *cox1*. Gracias a los estudios filogenéticos, se determinó que el complejo de especie *F. auricularia* está formado por, al menos, cuatro linajes diferentes y que tres de ellos están presentes en la península ibérica. Con el estudio morfométrico se concluyó que dos de los tres linajes de la península ibérica son crípticos. Los resultados de este trabajo invitan a pensar que los cuatro linajes constituyen especies válidas y deben ser validadas a nivel taxonómico para alcanzar el estatus de especie. Las conclusiones que se extraen de este trabajo resaltan la estimación incorrecta de la biodiversidad de dermápteros y pone de manifiesto todo el trabajo que falta por hacer en el estudio de la biodiversidad.

# Introducción

---

Los dermápteros, Orden Dermaptera De Geer, 1773, constituyen uno de los grupos de insectos más fácilmente identificables a simple vista. A los integrantes de este orden se les conoce comúnmente como '*tijeretas*' porque poseen los cercos terminales en forma de pinza. Se trata de un orden relativamente pequeño con alrededor de 2.000 especies descritas en todo el mundo (Popham, 2000). A pesar del número tan bajo de especies, tienen una increíble capacidad de colonización ya que encontramos especies en todos los puntos del planeta (salvo en las regiones polares), con una diversidad especialmente alta en los trópicos (Colgan *et al.*, 2003). En la península ibérica e islas Baleares encontramos unas 30 especies de tijeretas, lo que constituye una diversidad muy baja si comparamos con las 21 especies, de las cuales 16 son endémicas, que encontramos en las islas Canarias (Ortuño & Martínez-Pérez, 2011; Herrera Mesa, 2015).

Los dermápteros tienen desarrollo hemimetábolo con 4-6 estadios larvarios según la especie. Uno de los aspectos más interesantes de la biología reproductiva de estos insectos es su comportamiento subsocial, es decir, que presentan cuidados parentales hacia su prole durante los primeros estadios larvarios (Tawfik *et al.*, 1972; Kölliker & Vancassel, 2007). La mayoría de las especies son de vida libre y omnívoras. Suelen encontrarse en ambientes húmedos, ocupando pequeños recovecos bajos pierdas, la hojarasca o sobre árboles. Sin embargo, algunas familias tropicales son simbioses de mamíferos (Cook & Richardson, 2010).

Morfológicamente, las tijeretas de vida libre siguen un patrón general que varía ligeramente según la especie. Son animales delgados, alargados y dorso-ventralmente aplanados. Su tamaño oscila entre los 4-80 milímetros. La coloración normalmente es oscura, predominando los marrones o parduscos junto con los ocres y rojos, aunque en

ocasiones podemos ver coloraciones más peculiares. Tienen una cabeza prognata y un aparato bucal de tipo masticador (Popham, 1959). La mayoría de las especies poseen alas y vuelan grandes distancias (Pavón-Gozalo *et al.*, 2011). Una de las características taxonómicas más importantes de este grupo son los cercos terminales. Estos no se encuentran segmentados y presentan un dimorfismo sexual marcado, siendo más grandes y vistosos en machos que en hembras. Los cercos se utilizan para muchísimas funciones: caza y defensa; cópula y puesta; el despliegue y repliegue de las alas (Jarvs *et al.*, 2004; Kocarek *et al.*, 2013).

A pesar de tratarse de un grupo fácilmente reconocible y de amplia distribución, la literatura disponible ofrece un panorama taxonómico confuso, puesto que constantemente se añaden y eliminan grupos taxonómicos y las sinonimias no están correctamente tratadas. Tradicionalmente, el orden Dermaptera se ha dividido en tres subórdenes vivos: Hemimerina, Arixeniina y Forficulina (Steinmann, 1989). Los dos primeros subórdenes estaban compuestos por especies ectosimbiontes de mamíferos (anteriormente se les consideraba ectoparásitos) (Cook & Richardson, 2010; Kocarek *et al.*, 2013). En el suborden Forficulina se incluían todas las especies que se corresponden con el concepto clásico de tijeretas. Este suborden se dividía a su vez en nueve familias: Anisolabididae Verhoeff, 1902; Apachyidae Verhoeff, 1902; Chelisochidae Verhoeff, 1902; Diplatyidae Verhoeff, 1902; Forficulidae Latreille, 1810; Karschiellidae Verhoeff, 1902; Labiduridae Verhoeff, 1902; Pygidicranidae Verhoeff, 1902; y Spongiphoridae Verhoeff, 1902. Estos subórdenes se han considerado tradicionalmente monofiléticos (Steinmann, 1989).

Sin embargo, Kocarek y colaboradores (2013) publicaron una revisión filogenética del orden Dermaptera en la que confirmaron la polifilia de la familia Spongiphoridae (sugerida anteriormente por Jarvis *et al.*, 2004). De tal manera que esta familia queda

dividida en dos linajes. Incluyeron además a los arixeninos y a los hemimerinos dentro de la Superfamilia Forficuloidea, siendo los primeros el grupo hermano de Chelisochidae y los segundos grupo hermano de Forficulidae. Esto supone un vuelco en la taxonomía clásica de dermápteros, que está necesitada de una profunda revisión sistemática para poder esclarecer las relaciones filogenéticas entre grupos.

Uno de los problemas que complica la taxonomía del orden Dermaptera es que no existe una concordancia entre los datos taxonómicos y moleculares, lo que lleva a error en cuanto a la sinonimización. Este trabajo se centra en el complejo de especies *Forficula auricularia*, enfocado a la península ibérica. La tijereta europea *Forficula auricularia* Linnaeus 1758, es una de las especies más comunes y conocidas; se trata de una especie de gran tamaño (entre 10-20 mm de longitud) y con un amplio rango de hábitats. Ha sido citada en gran parte del planeta por lo que se la considera una especie cosmopolita (Herrera Mesa, 1999). Es común encontrarla en cultivos de frutas y hortalizas, donde puede ser tanto una plaga como un agente controlador de estas (Cañellas *et al.*, 2005).

Debido a su extensa distribución y a sus diferentes hábitos reproductivos ciertos autores pusieron en duda que se tratara de una única especie (Fabricius, 1775; Marsham 1802; Karny 1911). En principio, se pensaba que era una especie con diferentes estrategias reproductoras que variaba según la población. Estudios posteriores han puesto de manifiesto que las diferencias entre las poblaciones no son solamente biológicas sino también moleculares (Wirth *et al.*, 1998; Guillet *et al.*, 2000a, 2000b). Wirth y colaboradores (1998) demostraron por primera vez que las diferencias entre las poblaciones no eran debidas a adaptaciones climáticas locales sino que las poblaciones de *F. auricularia* constituían, en realidad, un complejo de especies hermanas no identificadas hasta el momento. Un complejo de especies es un grupo de especies cercanas filogenéticamente que representan un estado temprano tras el proceso de especiación o

bien que no se han diferenciado morfológicamente a pesar del tiempo transcurrido desde el evento de especiación (Wake, 1997).

Wirth y colaboradores (1998) diferenciaron dos especies dentro de este complejo en base a marcadores moleculares y diferencias en su biología reproductiva, denominándolas especies “A y B” (que nosotros trataremos como linajes A y B ya que uno de ellos correspondería a la descripción original de *F. auricularia*). Para la caracterización molecular utilizaron la región de ADN mitocondrial (ADNmit) que comprende el citocromo c oxidasa subunidad I y II (*cox1* y *cox2* respectivamente). La caracterización biológica se realizó mediante cruzamientos entre ejemplares de las diferentes poblaciones estudiadas (Francia, Italia, Canadá y Estados Unidos). Según Wirth y colaboradores (1998) la “especie A” se caracteriza por tener un único ciclo reproductivo al año y, por tanto, una única cohorte cuya puesta se realiza a principios de invierno. Se encuentra en zonas de climas más fríos y continentales. Por contrapartida, la “especie B” tiene dos ciclos reproductivos al año y, por tanto, dos puestas al año (finales de invierno y en primavera). La diferencia temporal entre ambas puestas es debida a una diapausa imaginal post-vitelogénica. Este linaje se extendería por regiones de climas templados. Wirth y colaboradores (1998) describieron también un subtipo de la “especie A” (subtipo A<sub>2</sub>) que tiene dos puestas al año pero que no tienen una diapausa invernal. Ambos subtipos del linaje A son fértiles entre sí, pero aisladas reproductivamente del linaje B. Los dos linajes (A y B) viven en simpatría sin aparente hibridación en Europa (Pirineos) (imposibilidad de conseguir ejemplares híbridos F1 en el laboratorio) (Wirth *et al.*, 1998; Guillet *et al.*, 2000a).

El linaje A, con una única puesta (subtipo A<sub>1</sub>), se extiende por las zonas altas de montaña (en Pirineos, por encima de los 1500 metros) y las áreas más al este de Europa muestreadas (Francia oriental y central). El subtipo A<sub>2</sub>, con dos puestas, se encuentra por el sureste de Francia e Italia (Roma). El linaje B se distribuye por zonas de montaña a

menor altitud que el linaje A y por el oeste de Francia. Este complejo de especies hermanas se extiende además por Norteamérica (Wirth *et al.*, 1998; Guillet *et al.*, 2000b). En primer lugar, se pensó que habían invadido Norteamérica a principios del siglo XX en dos oleadas, el linaje A por el este y el linaje B por el oeste. Sin embargo, Guillet y colaboradores (2000b) demostraron, por una parte, que los linajes A y B que encontramos en Norteamérica son los mismos que encontramos en Europa y, por otra, que fueron introducidos en múltiples ocasiones puesto que encontramos ambos linajes viviendo en simpatría en la costa este atlántica y la zona de los grandes lagos (clima frío y continental). La distribución de ambos linajes sería probablemente fruto de una adaptación climática y es posible que en la costa oeste (clima más templado o similar al mediterráneo en el suroeste de Estados Unidos) se encuentren en simpatría. En los Pirineos, ambos linajes se distribuyen a lo largo de un gradiente altitudinal, encontrándose el linaje B en las zonas más bajas (inferiores a 1200 metros) y el linaje A en zonas altas. En la zona de contacto entre ambas (alrededor de los 1200 metros) ambos linajes se encuentran viviendo simpátricamente sin aparente hibridación (Guillet *et al.*, 2000a).

El aislamiento reproductivo y las diferencias moleculares existentes entre los linajes (Wirth *et al.*, 1998; Guillet *et al.*, 2000a, 2000b) confirman que se trata de dos especies válidas, aún sin definir taxonómicamente. Sin embargo, en ningún momento se hace referencia a la morfología de estas dos especies (Wirth *et al.*, 1998). En caso de que ambas especies fuesen indistinguibles entre sí, hablaríamos de un complejo de especies crípticas. Las especies crípticas son aquellas que, aunque genéticamente diferenciadas, son muy similares entre sí morfológicamente y, por tanto, han sido consideradas una única especie (Bickford *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2010). Las especies crípticas se encuentran en todos los grupos taxonómicos y en todas las regiones biogeográficas (Grundt *et al.*, 2006; Pfenninger & Schwenk., 2007). El número de especies crípticas descubiertas se ha incrementado de manera exponencial desde el comienzo del uso de técnicas moleculares

a gran escala, como el DNA Barcoding (Hebert *et al.*, 2000b, 2003a; Dincă *et al.*, 2013). Este desarrollo ha contribuido a facilitar la reconstrucción filogenética, lo que ha llevado a un aumento en el conocimiento de la biodiversidad verdadera que encontramos sobre el planeta; cuestión que a día de hoy sigue sin estar resuelta. Ha impulsado, también, a que se instale en la comunidad científica la necesidad de reconsiderar tanto los conceptos tradicionales de especie y de delimitación de estas, como a descubrir que un número importante de especies no ha sido detectado con nuestros métodos tradicionales, que son fundamentalmente visuales, es decir, morfológicos. Esto pone de manifiesto lo infraestimada que está la biodiversidad actual y todo el trabajo que queda aún por hacer.

Uno de los problemas del estudio de Wirth y colaboradores (1998) radica en que la muestra analizada está muy limitada geográficamente (casi exclusivamente poblaciones francesas y las introducidas en Norteamérica). Sin embargo, la enorme distribución nativa del complejo nos lleva a pensar que la diferenciación real posiblemente no se limite a dos únicos linajes. *Forficula auricularia* se extiende por toda la península ibérica y tiene una gran variabilidad morfológica. Teniendo en cuenta esta gran diversidad y la antigüedad del poblamiento ibérico en otros grupos taxonómicos (Gómez *et al.*, 2002; Sanmartín 2003; Ribera *et al.*, 2010; Cunha *et al.*, 2011), así como el hecho de que la península ibérica sea un punto caliente de biodiversidad ('biodiversity hotspot'; zona rica en endemismos, pero cuya biodiversidad está amenazada por diferentes motivos) (Myers, 2000), parece lógico pensar que la península ibérica albergase al menos los dos linajes detectados por Wirth y colaboradores (1998).

# Objetivos

---

Los objetivos del presente trabajo son:

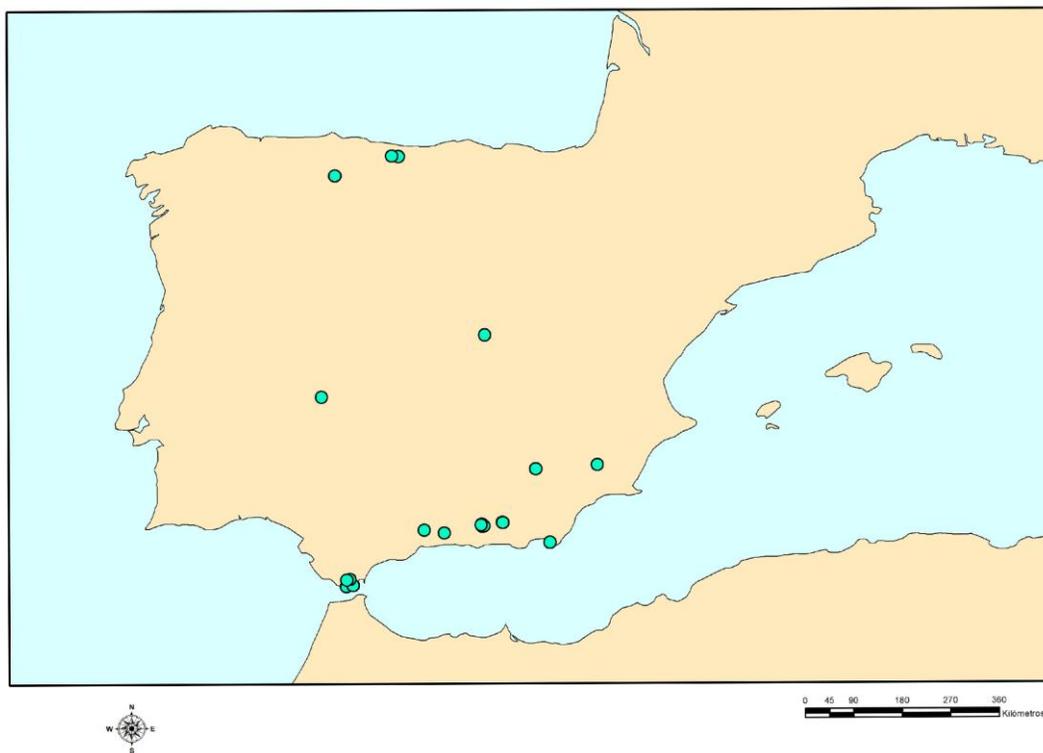
1. Determinar cuántos linajes de tijeretas del complejo de *Forficula auricularia* se encuentran en la península ibérica y su distribución geográfica a partir de secuencias parciales del gen mitocondrial *cox1*.
2. Determinar si existe diferenciación morfológica significativa entre los linajes caracterizados a nivel molecular o si por el contrario corresponden a especies crípticas.

Para alcanzar estos objetivos se tomó un enfoque multidisciplinar: se realizó una caracterización morfométrica y molecular.

# Materiales y Métodos

## Material estudiado

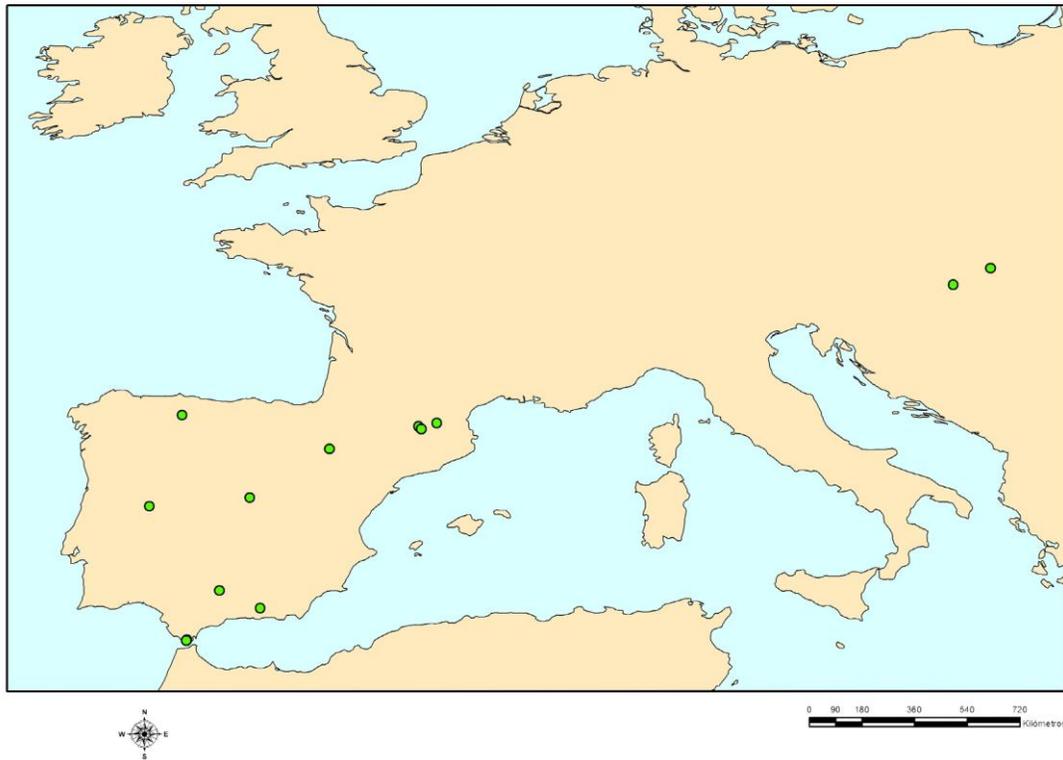
Para el estudio morfométrico se examinaron un total de 116 ejemplares adultos de ambos sexos conservados en etanol al 96% y almacenados a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Los ejemplares proceden de diferentes localidades de la península ibérica (**Fig. 1**) y están depositados en el Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN-CSIC).



**Figura 1:** Mapa con las localidades de los ejemplares utilizados para el estudio morfométrico.

Para la caracterización molecular se utilizaron las secuencias de ADNmit del gen *cox1* de 16 ejemplares de *F. auricularia* diferentes a los utilizados para el estudio morfométrico. Los ejemplares de este lote pertenecen a diferentes localidades de la

península ibérica, Francia (Pirineos) y Hungría (**Fig. 2**). Los ejemplares utilizados fueron elegidos por pertenecer a poblaciones diferentes y separadas espacialmente entre sí, con el fin de muestrear la mayor variabilidad genética posible. Se incluyeron ejemplares muestreados en las mismas localidades utilizadas por Guillet y colaboradores (2000a) (Mijanes, Francia) y de Hungría con el objetivo de trabajar con los dos linajes establecidos por Wirth y colaboradores (1998). Se utilizó *Labidura riparia* Pallas, 1773, familia Labiduridae, como grupo externo. Se decantó por utilizar esta especie como grupo externo porque pertenece a una familia relativamente alejada a la familia Forficulidae (Kocarek *et al.*,2013). La secuenciación de las muestras se realizó antes del desarrollo del estudio morfométrico, quedando inservibles para utilizarse en el mismo.

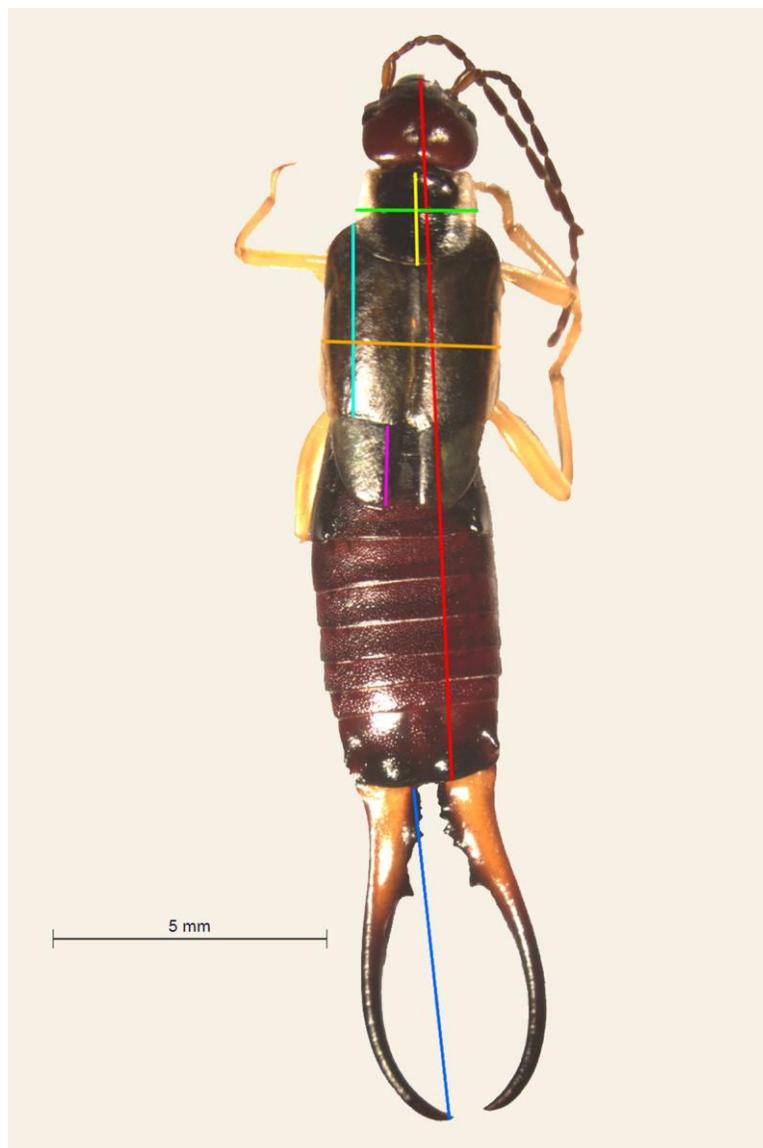


**Figura 2:** Mapa con las localidades de los ejemplares utilizados para el estudio molecular.

Los ejemplares utilizados tanto para el estudio morfológico como molecular fueron recogidos por diversos investigadores pertenecientes al MNCN-CSIC tras obtener los permisos necesarios para ellos. La información detallada de los ejemplares muestreados está disponible en el anexo que acompaña a este trabajo (anexo I).

## Estudio morfométrico

Los estudios morfométricos en insectos ayudan a detectar nuevas especies morfológicamente similares, ya que permiten detectar la variación intraespecífica (Daly, 1985). Para el estudio morfométrico todos los ejemplares fueron examinados, medidos y fotografiados utilizando la lupa binocular Leica MZ16A. Las medidas tomadas fueron: (1) longitud total; (2) longitud de los cercos; (3) longitud y (4) anchura del pronoto; (5) longitud y (6) anchura de los élitros; (7) la longitud de la parte visible del ala posterior (**Fig. 3**). Para medir la longitud total se tomaron como puntos de referencia la sutura epistomal (que separa el clípeo de la frente) y el final del abdomen (Popham, 1959). En caso de que los cercos fueran irregulares, se tomaban como referencia el cerco más largo.



**Figura 3:** Ejemplar macho con las medidas tomadas. Los colores se corresponden con: rojo = longitud total; azul oscuro = longitud de los cercos; verde = anchura del pronoto; amarillo = longitud de pronoto; azul claro = longitud de élitros; naranja= longitud de élitros y morado = longitud del ala posterior.

## Análisis estadísticos

Para los análisis estadísticos se utilizó el programa IBM SPSS Statistics for Windows™ 21.0 (IBM corporation, 2012). Primero, se realizó un análisis descriptivo para comprobar los supuestos de normalidad y homocedasticidad de nuestras variables de estudio. Se llevó a cabo un análisis de autocorrelación para comprobar la independencia de nuestros datos. Se ejecutaron regresiones lineales de cada variable frente a la longitud total con el objetivo de eliminar el efecto de la talla. Los residuos obtenidos de las regresiones fueron utilizados para realizar los análisis discriminantes. El análisis discriminante permite identificar cuál de las variables estudiadas diferencian a los ejemplares de estudio y clasificarlos en base a estas.

Se efectuó un análisis discriminante para describir el grado de efectividad de separación de los grupos previamente definidos por localidad y así obtener la función discriminante. Los grupos se definieron por provincias con el fin de determinar si existían diferencias significativas entre la morfología de ejemplares de una zona u otra. Las localidades estudiadas fueron: Asturias, Almería, Cáceres, Cádiz, Granada, León, Madrid y Murcia.

## Extracción, amplificación y secuenciación del ADN mitocondrial

Para la extracción de ADN fue necesario obtener tejido muscular, de manera que se extirpó una pata a cada ejemplar. Se utilizó el 'kit' Qiagen BioSprint 15 DNA, siguiendo el protocolo establecido por el fabricante. Una vez extraído el ADN de manera satisfactoria, las muestras fueron almacenadas a una temperatura de 4°C.

Posteriormente, se procedió a la amplificación del fragmento del gen que interesaba secuenciar usando los siguientes cebadores: HCO2198 y LCO1490, ambos de Folmer *et al.* (1994).

HCO2198: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'

LCO1490: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'

El ciclo de PCR consistió en una etapa de desnaturalización previa de 96°C durante 5 minutos, seguido de 40 ciclos con las siguientes etapas:

- Desnaturalización: 94°C durante 30 segundos.
- Apareamiento de cebadores: 42°C durante 45 segundos.
- Síntesis de ADN: 72°C durante 1 minuto.

Para finalizar el ciclo de PCR se continuó con una etapa de elongación final a 72° durante 5 minutos. Para las PCR se utilizó un volumen final de 25 µL compuesto por 18,8 µL de agua, 2,5 µL de tampón de reacción (Buffer 10X con MgCl<sub>2</sub>) (Biotools, B&M Labs, S.A), 1 µL de dNTPs, 0,5 µL de MgCl<sub>2</sub>, 0,5 µL de cada uno de los cebadores y 0,2 µL de Taq polimerasa (Biotools).

La purificación y secuenciación del ADN amplificado fue realizada por la empresa MacroGen. Una vez obtenidas las muestras se inspeccionaron con el programa Sequencher 5.0.1 (Gene Codes Corp., Ann Arbor, MI, USA), eliminándose las secuencias de los cebadores y verificándose la correcta posición de las bases en la secuencia consenso.

La longitud de los fragmentos amplificados fue constante al no presentar el *cox1* ni inserciones ni deleciones ya que se trata de un gen mitocondrial codificante. Las secuencias fueron alineadas a mano con el programa Mesquite 2.75 (Maddison & Maddison, 2011) y guardadas en formato .fasta y .nexus para su posterior análisis.

## Análisis filogenéticos

Los análisis filogenéticos se realizaron a partir de las secuencias del gen mitocondrial *cox1* obtenidas. Se optó por trabajar con el gen codificante mitocondrial *cox1* porque permite trabajar en escalas temporales evolutivamente recientes. Por tanto, nos permite reconstruir filogenias y establecer ritmos de evolución en procesos de especiación (Folmer *et al.*, 1994; Saccone *et al.*, 1999).

Se aplicaron dos métodos de análisis filogenético: Inferencia Bayesiana y Máxima Verosimilitud. El primero, Inferencia Bayesiana (IB) estima la probabilidad con la que los datos explican correctamente el árbol filogenético. El segundo método, Máxima Verosimilitud (MV), estima la probabilidad con la que el árbol filogenético (y su modelo de evolución) explica los datos observados (Peña 2011; Irrisari & Zardoya, 2013).

Se utilizaron los programas jModelTest 2.1.1 (Darriba *et al.*, 2012) y PartitionFinder 1.1.1 (Lanfear *et al.*, 2012) para seleccionar el modelo de sustitución que más se ajustaba a la matriz de datos. Con el primero se obtiene un modelo de sustitución general de la matriz, mientras que con el segundo se obtiene uno para cada partición (en este caso, cada posición dentro del codón). Se siguió el criterio de información bayesiano (BIC por sus siglas en inglés) para comparar los modelos de ambos programas. El análisis bayesiano se llevó a cabo con el programa MrBayes en XSEDE 3.2.6 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003). Se realizaron varias ejecuciones de 1.000.000 de generaciones cada una, tomando

muestras cada 1.000 generaciones. Se aplicó el modelo de particiones obtenido con PartitionFinder y se designó la opción `lset nset=mixed rates= invgamma` que realiza un muestreo de los diferentes modelos de sustitución. El análisis de MV se llevó a cabo con el programa RAxML-HPC2 en XSEDE 8.2.8 (Stamatakis, 2014) usando 1000 pseudoréplicas de bootstrap para comprobar el soporte de los nodos. Ambos análisis fueron puestos en marcha en el portal de internet 'CIPRES Science Gateway' (Miller *et al.*, 2000). Los árboles resultantes de estos análisis se visualizaron y editaron con FigTree 1.4.2 (disponible en <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

Se utilizó el programa BEAST 1.8.2 (Drummond *et al.*, 2012) en XSEDE a través del portal 'Cipres Science Gateway' (Miller *et al.*, 2000). Este programa realiza un análisis de coalescencia y da una calibración aproximada del tiempo de divergencia de los diferentes nodos del árbol. El análisis se realizó utilizando como modelo de especiación 'Birth-Death incomplete Sampling' (Stadler, 2009) y un reloj molecular 'lognormal' relajado. Se aplicó un intervalo que cubre tasas de sustitución entre el 1% y el 4%. Esta calibración es la establecida en otros estudios de insectos basada en la tasa de sustitución molecular del gen *cox1* (Papadopoulou *et al.*, 2010). Se realizaron 100.000.000 generaciones, tomando muestras cada 10.000. La convergencia de los análisis (valores de 'Effective Sample Size' mayores de 200) se determinó con el programa Tracer 1.5 (disponible en <http://beast.bio.ed.ac.uk>), a partir de cuyos resultados se eliminaron el 10% de las generaciones como "burnin".

Para complementar nuestros análisis, se realizó un \*BEAST (pronunciado STAR-BEAST, por sus siglas en inglés, Species Tree Ancient Reconstruction) En este análisis, cada taxón es asignado a priori a un linaje. El término 'taxón' hace referencia a cualquier grupo de individuos en el que no haya flujo génico con otros individuos fuera de ese grupo. El análisis \*BEAST coestima simultáneamente el árbol de especies o árbol filogenético y

todos los árboles del gen en un único análisis MCMC bayesiano bajo un modelo de coalescencia (Heled & Drummond, 2009). El análisis recuperará un árbol con una topología en la que resaltarán si los ejemplares han sido correctamente clasificados.

Se reconstruyó la red de haplotipos del marcador mitocondrial *cox1* con HaploViewer (disponible en <http://www.cibiv.at/~%20greg/haploviewer>) que permite obtener una genealogía haplotípica a partir del árbol obtenido mediante IB. Se obtuvo la matriz de divergencias genéticas basadas en distancias sin corregir mediante el programa PAUP\* 4.0a147 (Swofford, 2002).

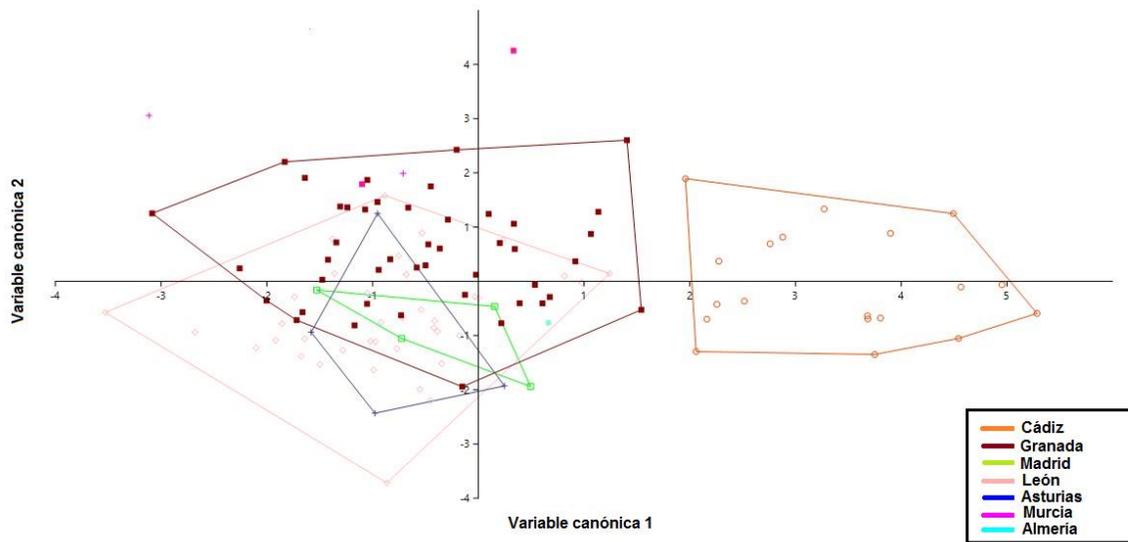
# Resultados

---

## Análisis morfométricos

Trabajamos con una matriz de datos que contenía un total de 115 ejemplares, uno tuvo que ser descartado al estar en mal estado y no poder ser medido. Los resultados de los análisis de regresión de cada variable frente a la longitud total y la comprobación de los supuestos de los análisis están en el material suplementario disponible en el soporte digital que acompaña este trabajo.

Los resultados del análisis multivariante discriminante muestran un grupo claramente diferenciado (ejemplares del municipio Tarifa, Cádiz) mientras que los demás se encuentran solapados (**Fig. 4**). Esto nos indica que existe una diferencia significativa entre la morfología de los ejemplares de Cádiz frente a los demás. Sin embargo, los resultados del análisis discriminante deben ser interpretados con cautela puesto que el tamaño de muestra no era equivalente entre las localidades analizadas.



**Figura 4:** Análisis discriminante de todos los ejemplares de *Forficula auricularia* obtenido a partir de seis variables morfométricas.

La función discriminante se construyó con 5 de las 6 variables analizadas (residuos estandarizados de las variables morfométricas medidas, excluyendo tamaño total) (**Fig. 5**). Todas las variables resultaron buenos discriminantes excepto los residuos estandarizados de la anchura del pronoto, por lo que esta variable fue excluida del análisis.

### Coeficientes de la función de clasificación

	Localidad							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Res_cercos	2,960	-5,583	1,868	3,149	-,182	-1,226	,979	,062
Res_LP	-1,210	7,836	,620	-7,408	2,539	,299	-,986	10,033
Res_AAA	-,819	1,252	-,145	-5,479	,958	1,924	1,616	-13,713
Res_LAA	-3,726	2,575	-1,165	,896	-2,310	1,082	-,128	11,224
Res_APOS	3,332	-3,330	-1,601	8,508	-1,363	-1,830	-2,639	-3,371
(Constante)	-6,454	-9,912	-4,029	-6,839	-1,818	-1,372	-4,262	-17,133

Funciones discriminantes lineales de Fisher

**Figura 5:** Función discriminante para distinguir entre los ejemplares de *Forficula auricularia*. Las localidades se corresponden con: 1= Almería; 2= Asturias; 3= Cáceres; 4= Cádiz; 5= Granada; 6= León; 7= Madrid; 8= Murcia. Las variables se corresponden con los residuos estandarizados de las variables morfométricas: Res\_cercos= residuos de la longitud de los cercos; Res\_LP= residuos de la longitud del pronoto; Res\_AAA= residuos de la anchura de los élitos; Res\_LAA= residuos de la longitud de los élitos; Res\_APOS= residuos de la longitud visible del ala posterior.

El hecho de que los demás grupos se encuentren superpuestos pone de manifiesto que no existen diferencias significativas entre los individuos con respecto a las variables analizadas. Esto significa que morfológicamente no son distinguibles entre sí. Con el análisis, el 77,4% de los ejemplares fueron correctamente clasificados. Cuando observamos la tabla de clasificación (**Fig. 6**) vemos que el 100% de los individuos de Cádiz han sido clasificados con éxito, mientras que este patrón no se mantiene en la mayoría de los demás grupos. Sin embargo, ningún ejemplar no perteneciente a la localidad de Cádiz es clasificado como perteneciente a dicha localidad. El resto de los ejemplares se distribuyen, o bien en su grupo original, o bien dentro del grupo formado por la provincia de León o de Granada. Esto indica que los ejemplares incorrectamente clasificados no presentan ninguna diferencia significativa con respecto a los ejemplares del grupo al que han sido asignados. Por tanto, de nuevo queda de manifiesto la imposibilidad de diferenciar, utilizando las variables estudiadas, a los ejemplares que no pertenecen a la provincia de Cádiz.

Resultados de la clasificación								
Grupo de pertenencia pronosticado								
Localidad real	1	2	3	4	5	6	7	8
1 (n=1)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
2 (n=2)	0 (0%)	1 (50%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (50%)	0 (0%)	0 (0%)
3 (n=4)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (35%)	1 (25%)	0 (0%)	0 (0%)
4 (n=19)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	19 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
5 (n=37)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	26 (70,3%)	11 (29,7%)	0 (0%)	0 (0%)
6 (n=46)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (13%)	40 (87%)	0 (0%)	0 (0%)
7 (n=4)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (50%)	1 (25%)	1 (25%)	0 (0%)
8 (n=2)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (100%)

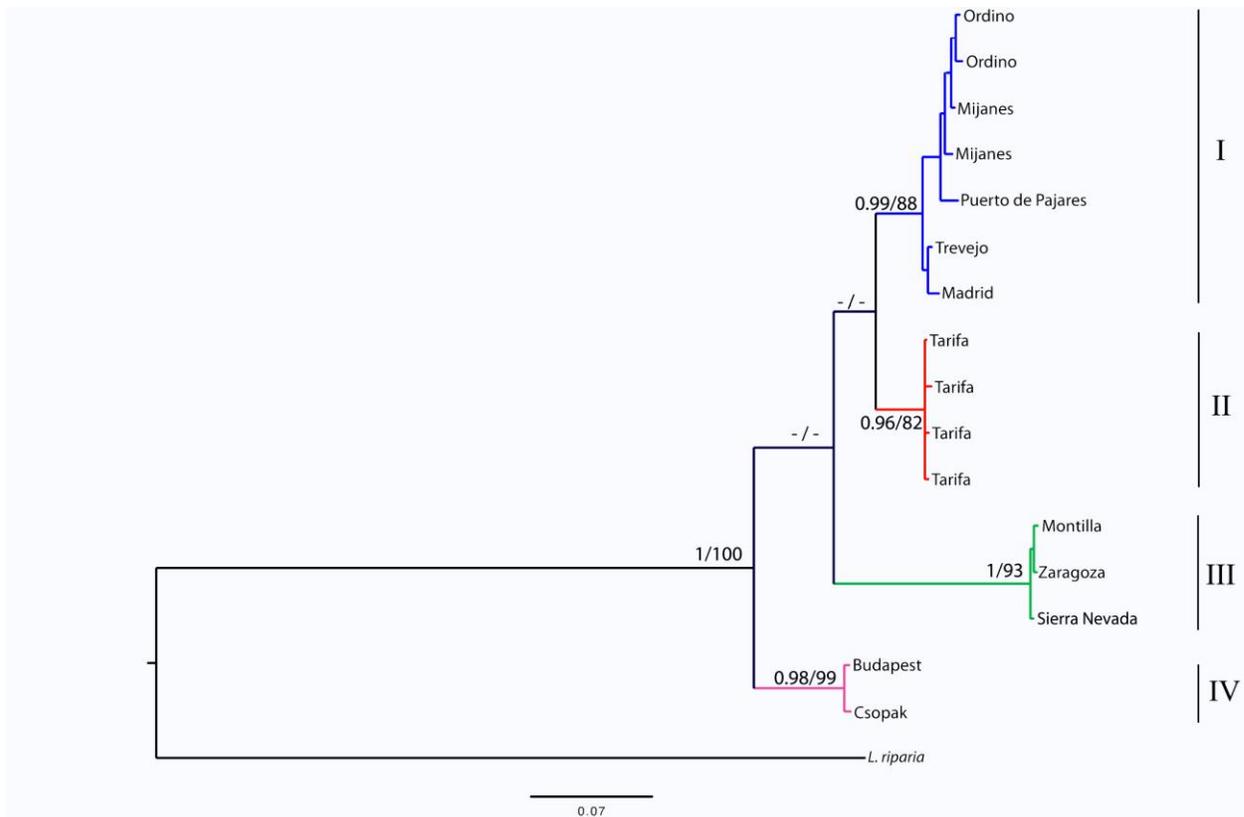
**Figura 6:** Tabla con el éxito de clasificación de los ejemplares a su grupo (provincia) asignado. Las localidades se corresponden con: 1= Almería; 2= Asturias; 3=Cáceres; 4= Cádiz; 5= Granada; 6= León; 7=Madrid; 8=Murcia.

## Análisis filogenéticos

Para los análisis filogenéticos se secuenciaron con éxito 16 ejemplares. Se amplificó con éxito un fragmento de 658 pares de base (pb) del gen *cox1*. Las frecuencias de los nucleótidos son 23,93% de adenina, 16,72% de citosina, 21,19% de guanina y 38,16% de timina.

Los modelos de sustitución con particiones obtenidos con PartitionFinder fueron TrNef + I para la primera partición (2-656\3), F81 para la segunda partición (3-657\3) y HKY para la tercera partición (1-658\3). Se siguieron los modelos de partición obtenidos para los análisis de IB. El modelo de sustitución sin particiones obtenido con JModelTest fue HKY + I, este modelo se aplicó a los análisis con BEAST.

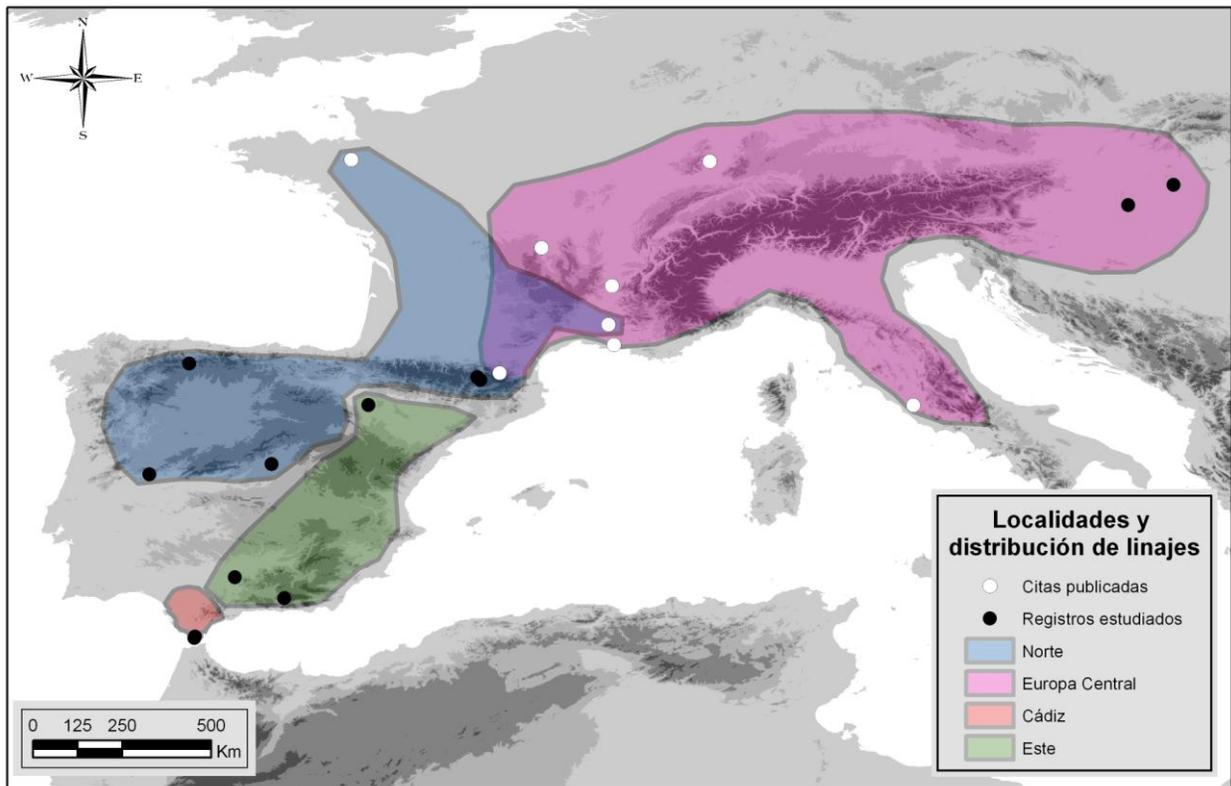
El análisis de Inferencia Bayesiana y Máxima Verosimilitud recuperan una topología similar representada en el árbol consenso (**Fig. 7**). Según Irisarri & Zardoya (2013) se aceptan como soporte alto valores de 'bootstrap' superiores al 70% para MV y probabilidad posterior bayesiana mayor de 0.90 para IB.



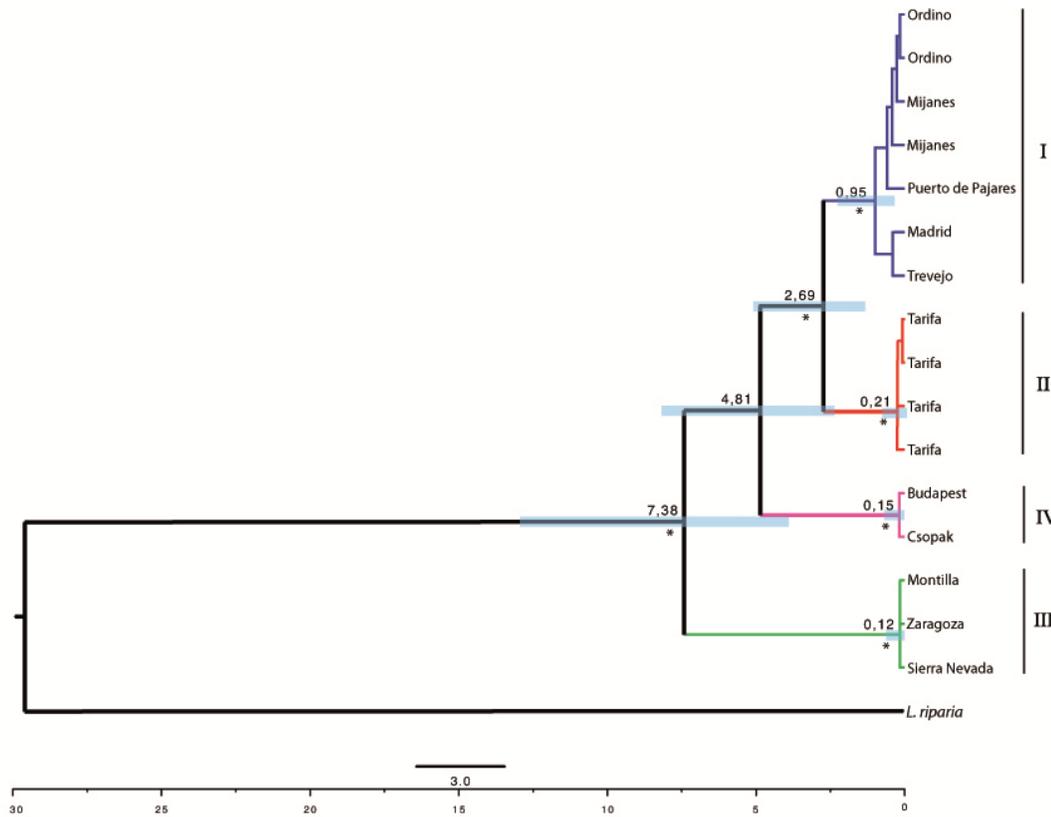
**Figura 7:** Árbol filogenético obtenido por inferencia bayesiana. Los valores del análisis están indicados sobre cada nodo de la siguiente manera: probabilidad posterior bayesiana / bootstrap.

En el árbol obtenido podemos diferenciar claramente cuatro clados monofiléticos (clado I, II, III y IV) con soporte alto tanto de probabilidad posterior bayesiana (PP) como de bootstrap (BS) aunque las relaciones entre los clados no quedan resulta. Los cuatro clados conforman un grupo monofilético con alto soporte. El clado I - Norte, (PP= 0.99; BS= 88) incluye a los ejemplares del noroeste (Puerto de Pajares - Asturias) y centro (Madrid, Trevejo – Cáceres) de la península ibérica, Andorra (Ordino) y Francia (Mijanes). El clado II – Cádiz, (PP=0.96; BS= 82) está formado por los ejemplares Tarifa (Cádiz). El clado III – Este, (PP=1; BS=93) está formado por ejemplares de Sierra Nevada (Granada), Montilla (Córdoba) y Zaragoza. El clado IV – Europa Central, (PP=0.98; BS=99) está

formado por los ejemplares de Budapest y Csopak ( Hungría). La relación entre los tres primeros clados no queda resulta. La única relación clara en el árbol obtenido es que el clado IV es el grupo hermano de los demás clados. La distribución de los linajes y la localización de los puntos muestreados se puede observar en la **figura 8**.



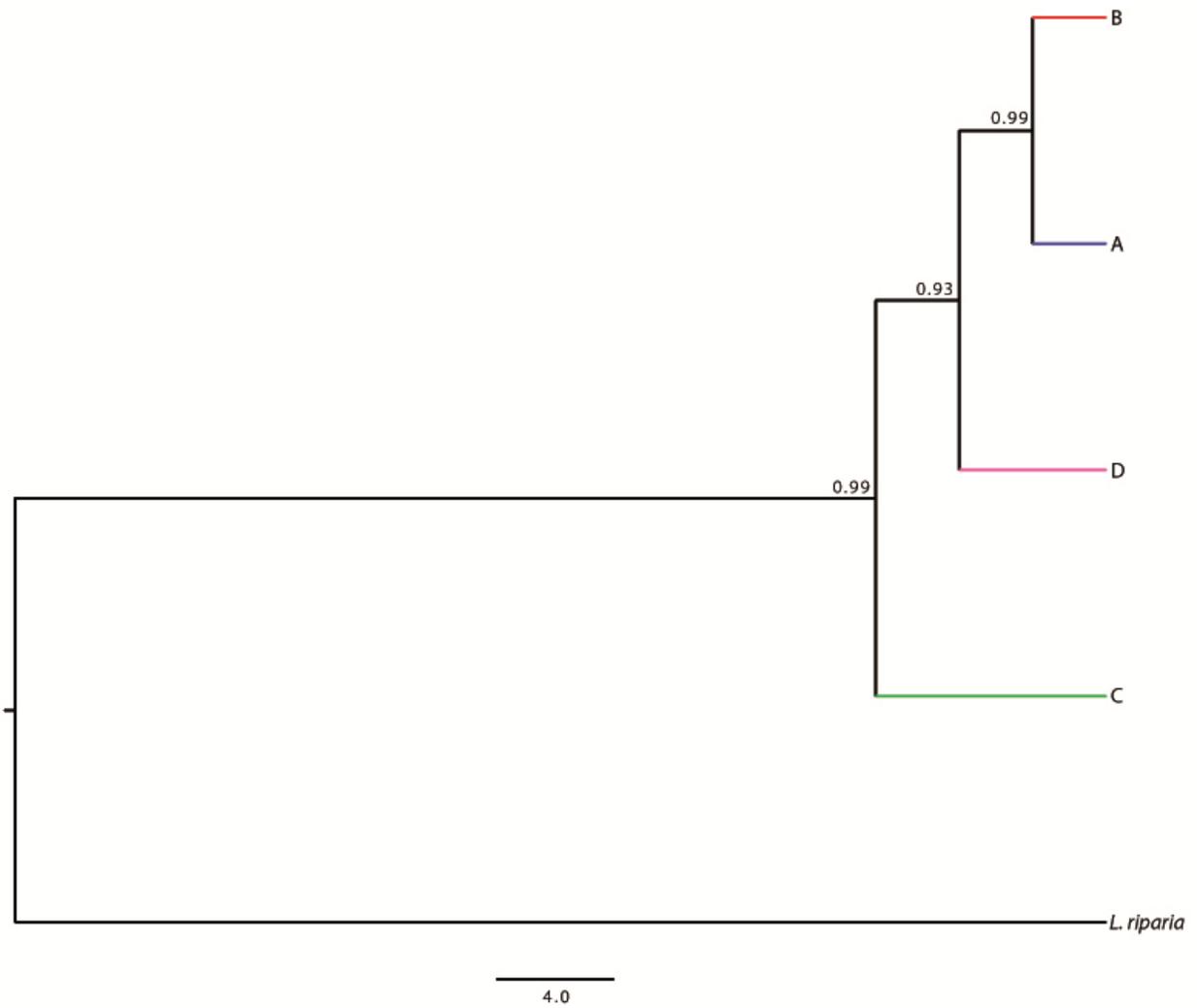
**Figura 8:** Mapa con la distribución de los cuatro clados recuperados con los análisis filogenéticos. Los puntos negros se corresponden con los ejemplares utilizados en este estudio y los puntos blancos se corresponden con los ejemplares estudiados por Wirth y colaboradores (1998).



**Figura 9:** Árbol de coalescencia obtenido con BEAST. La edad de divergencia de los nodos se encuentra indicado encima de cada nodo. El asterisco (\*) que se encuentra por debajo de los nodos indica una probabilidad posterior superior a 0.95. Las barras azules en los nodos indican los intervalos de confianza. La edad y la escala tienen como unidad millón de años.

El árbol obtenido con BEAST nos da una calibración aproximada de la edad de divergencia de los diferentes nodos (**Fig. 9**). Se obtiene un árbol con los mismos cuatro clados que los recuperados por los análisis de IB y MV, pero con una topología diferente ya que las posiciones de los clados III y IV están invertidas. Los cuatro clados forman un grupo monofilético ( $PP > 0.95$ ) y el clado Este sería el grupo hermano de los otros clados. Todos los clados son monofiléticos y tienen un alto soporte ( $PP > 0.95$ ) aunque la relación entre los clados I, II y IV no queda resulta. El ancestro común más reciente (MRCA por sus

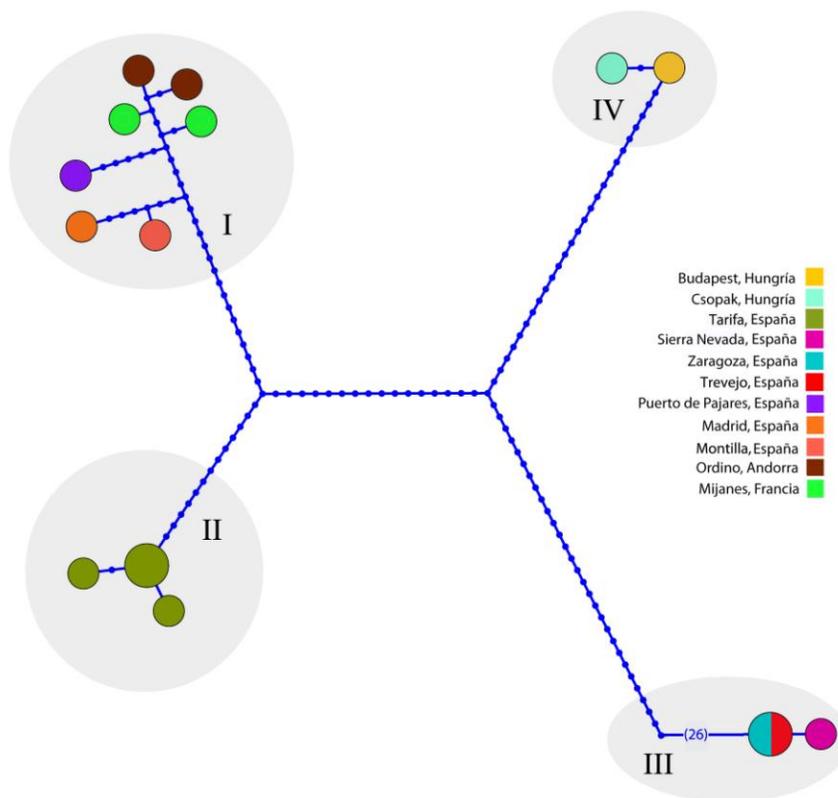
siglas en inglés) de los cuatro clados data de hace 7,38 millones de años (MA) (95% HDP: 3,64-12,51). El MRCA de la rama formada por los clados I, II y IV data de hace 4,81 MA (95% HDP: 2,45-8,1). El MRCA de los clados I y II se encontraría hace unos 2,69 MA (95% HDP: 1,29-4,88). Los clados son bastante recientes en la escala temporal, encontrando el MRCA del clado Norte hace 0,95 MA (95% HDP: 0,36-2,12), el del clado Cádiz hace 0,21 MA (95% HDP: 0,03-0,68), el del clado Este hace 0,12 MA (95% HDP: 0,01-0,46) y el del clado Europa central hace 0,15 MA (95% HDP: 0,01-0,52). Los intervalos de confianza de los clados son relativamente pequeños, lo que da robustez a nuestros resultados.



**Figura 10:** Árbol de coalescencia recuperado con \*BEAST. Sobre cada nodo se indica la probabilidad posterior. Los linajes asignados se corresponden con los clados obtenidos con IB e MV: linaje A es el clado I, el linaje B es el clado II, el linaje C es el clado III y el linaje D es el clado IV.

El árbol de especies obtenido con el análisis \*BEAST (**Fig. 10**) recupera los linajes asignados a priori. Estos se corresponden con los clados obtenidos en los anteriores análisis (MV e IB), es decir, los ejemplares del clado I fueron asignados como linaje A y así sucesivamente hasta el clado IV. En este caso, el árbol recupera una topología idéntica a la

obtenida mediante el análisis de coalescencia, de manera que los cuatro clados forman un grupo monofilético y el clado III y IV se encuentran en posiciones invertidas con respecto al árbol de IB y MV. Sin embargo, a diferencia de los demás análisis, la relación entre los clados queda resulta, siendo el clado Este el grupo hermano de los demás, con alto soporte (PP=0.99). Los clados Norte y Cádiz formarían un grupo monofilético (PP=0.99) cuyo grupo hermano sería el clado Europa Central. El hecho de que todos los ejemplares hayan sido correctamente clasificados confirma la separación antigua de los nodos y apoya el hecho de que nos encontremos ante linajes diferentes.



**Figura 11:** Red de haplotipos del gen mitocondrial *cox1*. Cada haplotipo está representado por un círculo y el tamaño del círculo es proporcional a la frecuencia de cada haplotipo; los círculos más grandes están formados por dos ejemplares. Los diferentes colores asignan los haplotipos a su ubicación geográfica. Cada

punto en las líneas azules representa una mutación (cambio evolutivo) entre los diferentes haplotipos. La línea que lleva a los haplotipos correspondientes al clado III ha sido recortada por cuestión de espacio, entre paréntesis se muestra el número de cambios que habría hasta llegar a los haplotipos en cuestión (26 cambios evolutivos).

Los resultados obtenidos en los análisis filogenéticos se ven reflejados en la red haplotípica (**Fig. 11**), que está formada por un total de 14 haplotipos. Se diferencian claramente los cuatro clados obtenidos. Vemos que el clado Norte tiene el mayor número de haplotipos (7). El clado Cádiz está compuesto por tres haplotipos, uno de ellos formado por dos ejemplares. En el clado Este únicamente se diferencian dos haplotipos, uno de ellos compartido por dos ejemplares (Trevejo y Zaragoza). El último clado (Hungría) tiene dos haplotipos diferentes.

Por último, se calcularon los valores de divergencia genética entre los clados basados en distancias sin corregir (**Fig. 12**). Los rangos de divergencia dentro del clado Norte son [0,45-2,58%], dentro del clado Cádiz [0,0-0,45%] y dentro del clado Este [0,0-0,15%]. La divergencia entre los dos ejemplares que conforman el clado Europa Central es de 0,3%. La divergencia total entre todos los clados abarca un rango [0,0-12,92%]. Estos rangos son bastante amplios (>3% indican especies diferentes en lepidópteros) (Hebert *et al.*, 2003a), lo que ponen de manifiesto la variabilidad intraespecífica e interespecífica existente entre los clados.

Localidad	Tarifa	Tarifa	Tarifa	Tarifa	Tarifa	Tarifa	Trevejo	Granada	Montilla	Madrid	Zaragoza	Pº Pajares	Ordino	Ordino	Mijanes	Mijanes	Budapest	Csopak
Tarifa	-																	
Tarifa	0.00304	-																
Tarifa	0.00152	0.00456	-															
Tarifa	0.00000	0.00304	0.00152															
Trevejo	0.05015	0.05319	0.05167	0.05015														
Granada	0.10790	0.10790	0.10942	0.10790	0.11550													
Montilla	0.10942	0.10942	0.11094	0.10942	0.11702	0.00152												
Madrid	0.05471	0.05775	0.05623	0.05471	0.00760	0.11702	0.11702	0.11854										
Zaragoza	0.10942	0.10942	0.11094	0.10942	0.11702	0.00152	0.00152	0.00000	0.11854									
Pº Pajares	0.05471	0.05775	0.05319	0.05471	0.02128	0.12158	0.12158	0.12006	0.07584	0.12006	0.12006	-						
Ordino	0.05471	0.05775	0.05319	0.05471	0.01672	0.12310	0.12310	0.12462	0.07280	0.012462	0.012462	0.01672						
Ordino	0.05927	0.06231	0.05775	0.05927	0.01824	0.12766	0.12766	0.12918	0.07280	0.012462	0.012462	0.01824	0.00456					
Mijanes	0.05319	0.05623	0.05167	0.05319	0.01672	0.12006	0.12006	0.12158	0.07280	0.12158	0.12158	0.01369	0.00912	0.00760				
Mijanes	0.05319	0.05623	0.05167	0.05319	0.01520	0.12158	0.12158	0.12310	0.01976	0.12310	0.12310	0.01216	0.00456	0.00608	0.00760			
Budapest	0.08815	0.08815	0.08967	0.08815	0.09119	0.12614	0.12614	0.12462	0.08967	0.12462	0.12462	0.09726	0.10182	0.10334	0.09726	0.09878		
Csopak	0.09119	0.09119	0.09119	0.09119	0.09119	0.09422	0.09422	0.12462	0.0971	0.12462	0.12462	0.10030	0.10486	0.10638	0.10030	0.10182	0.00304	

**Figura 12:** Divergencias genéticas basadas en distancias sin corregir.

## Discusión

---

El enfoque tradicional de la taxonomía, basada únicamente en caracteres morfológicos, está anticuada y necesitada de una renovación. Por tanto, en este trabajo tomaremos una visión integradora de la taxonomía (Padial *et al.*, 2010). A través de la cual aunaremos información procedente de diferentes metodologías (morfométrica y molecular) con el fin de llegar a la respuesta más certera. En base a esto, viendo nuestros resultados, podemos afirmar que el complejo de especies de *Forficula auricularia* descrita por Wirth y colaboradores (1998) está formada por más linajes de los originariamente propuestos.

La caracterización molecular puso de manifiesto que existen cuatro linajes dentro del complejo de especies *Forficula auricularia*. Los clados Europa Central y Norte representan a los linajes A y B de Wirth y colaboradores (1998), respectivamente. Tres de los clados caracterizados se encuentran en la península ibérica: una ocupando la mitad oriental (clado Este), otro ocupando la mitad occidental y Pirineos (clado Norte) y el último en la provincia de Cádiz (clado Cádiz) (**Fig. 8**). La red de haplotipos (**Fig. 11**) pone de manifiesto parte de la variabilidad intraespecífica que existe. En ella vemos que dentro de los linajes, ejemplares próximos o incluso de la misma localidad, presentan diferentes haplotipos mitocondriales. Por contrapartida, la caracterización morfológica de este trabajo reveló que en la península ibérica encontramos dos grupos morfológicamente diferenciados (**Fig. 4**): los ejemplares de la localidad de Cádiz por un lado y todos los demás ejemplares por otro. De manera que, con únicamente estos resultados, en la península ibérica encontramos dos linajes diferentes.

Sin embargo, sabemos gracias a los análisis moleculares que eso no es cierto. Todos los ejemplares que integran el grupo de ejemplares no diferenciados

morfológicamente son crípticos entre sí. Por tanto, dos de los linajes que encontramos en la península ibérica (clados I y III) constituirán un complejo de especies crípticas. Cuando nos encontramos con grandes distancias genéticas dentro de una especie con una amplia distribución, puede ser indicativo de la existencia de especies crípticas. Los motivos por los que se dan estas especies no están claros y es muy improbable que surjan gracias a un único mecanismo. Bickford y colaboradores (2006) propusieron que las especies crípticas podrían darse por (1) selección a favor de la estasis morfológica o por (2) el uso de señales no visuales de cortejo. La primera suele darse en especies que viven en ambientes extremos y que hayan llegado a la misma morfología por convergencia y que esta sea la más adecuada para ese ambiente. La segunda se da en aquellas especies que tienen reconocimiento por señales no visuales, de manera que no es necesario invertir en señales morfológicas. La morfología similar puede ser, simplemente, fruto de un origen común antiguo que se ha mantenido a lo largo de la historia evolutiva. La monofilia tanto del Orden Dermaptera como del género *Forficula* (Kocarek *et al.*, 2013) se ve apoyada cuando se comprueba que todos los grupos de dermápteros tienen un plan corporal similar. Por tanto, parece lógico pensar que la cripsis de nuestros linajes surge por una estasis morfológica a partir un origen común. Otra posible causa, aunque menos probable, es que la similitud morfológica haya surgido por un evento de convergencia.

La heterogeneidad de la península ibérica en cuanto a clima, geología y geografía permite la formación de diferentes tipos de hábitats, lo que propicia el desarrollo y supervivencia de comunidades naturales complejas (Martínez-Solano *et al.*, 2006). La península ibérica constituye una zona rica en endemismos tanto animales como vegetales (García-Barros *et al.*, 2002). Esto no es de extrañar ya que forma parte del punto caliente de biodiversidad del Mediterráneo occidental (Myers *et al.*, 2000) y además ha servido de refugio para multitud de especies animales y vegetales durante los periodos de glaciación del Pleistoceno (Ibáñez *et al.*, 2006). Los complejos de especies y las especies

crípticas no son raras en la península ibérica, dándose en grupos tan diferentes como anfibios (Martínez-Solano *et al.*, 2004), murciélagos (Ibáñez *et al.*, 2006), lagartijas (Harris & Sá-Sousa, 2002), rotíferos (Gómez *et al.*, 2002) e insectos (Gómez-Zurita & Vogler, 2003; Passamonti *et al.*, 2004). No es de extrañar, por tanto, que encontremos tres linajes diferentes del complejo de *Forficula auricularia* en la península ibérica.

La edad de divergencia de los nodos (**Fig. 9**) nos proporciona información valiosa con la que hipotetizar y plantear posibles motivos para explicar la existencia de linajes morfológicamente crípticos, pero tan distantes filogenéticamente. Las edades calculadas tienen unos intervalos de confianza moderadamente pequeños, aunque se podrían afinar incluyendo la datación de fósiles de dermápteros (Forest, 2009). Los cuatro linajes divergieron hace alrededor de 7 millones de años. Esto implicaría que la separación y posterior especiación de los linajes se dio durante el Messiniense (7,246 - 5,322 Ma) (Cohen *et al.*, 2012). Durante esta etapa el mar Mediterráneo quedó aislado del mar Atlántico y se desecó, formando depósitos salinos (momento conocido como la Crisis Salina del Messiniense).

Los análisis moleculares recuperaron árboles diferentes (**Figs. 7 y 9**) y, a pesar de que ambos confirman la monofilia del complejo, ninguno logra establecer las relaciones filogenéticas entre los clados. Por tanto, se plantean dos hipótesis alternativas que expliquen los dos posibles escenarios evolutivos del complejo *F. auricularia*. La primera hipótesis que explicaría la diversidad de linajes en la península ibérica podría ser que, durante este periodo geológico (Messiniense), el antecesor común de los cuatro linajes entrara a través del sur de la península ibérica desde el norte de África. Una vez en la Península, este antecesor diversificaría en dos linajes, uno que ocuparía la mitad oriental de la península y otro que ocupase el resto. El linaje oriental diversificaría antes que el otro linaje, siendo este el antecesor del clado III. Los cambios rápidos de temperatura

ocurridos durante el Plioceno y el Pleistoceno fomentarían la divergencia y la especiación en los refugios peninsulares (Taberlet *et al.*, 1998). A medida que se producía el deshielo de los glaciares que cubrían Europa durante el Pleistoceno, las especies surgidas del linaje occidental irían expandiéndose hacia el norte. Por tanto, es congruente encontrar en los Pirineos una zona de contacto entre especies pues esta cordillera representa una barrera geográfica que dificultaba la expansión. Este modelo de expansión y diversificación en los Pirineos se da en otros insectos como el saltamontes *Chorthippus parallelus* (Zetterstedt, 1821) (Cooper *et al.*, 1995). Esto explicaría por qué encontramos linajes crípticos puesto que, en momentos de cambios climáticos rápidos, las especies tienden a buscar áreas que cumplan con sus requisitos ecológicos en vez de adquirir caracteres innovadores de adaptación (Ribera & Vogler, 2004). Esta hipótesis sería congruente con la topología que se obtiene mediante análisis de coalescencia (**Figs. 9 y 10**).

La hipótesis alternativa es que el ancestro común de los cuatro linajes pudo haberse refugiado en alguna de las otras dos penínsulas mediterráneas (Itálica o Balcánica) durante las glaciaciones del Pleistoceno. No podemos afirmar en cuál de las dos se encontraría debido a que el clado de Europa Central se extiende tanto por Italia (península Itálica) como por Hungría (que se encuentra por encima de la península Balcánica). Después, se expandiría hacia el norte y oeste de Europa, entrando en la península ibérica donde divergiría, hasta llegar a formar los tres clados existentes actualmente en la Península. Esta hipótesis es congruente con la topología que recupera el árbol de los análisis de inferencia bayesiana y máxima verosimilitud (**Fig. 7**) según la cual el clado IV es el grupo hermano de los demás clados.

Para poder contrastar las hipótesis planteadas sería necesario ampliar el estudio realizado. Resultaría imprescindible aumentar el área de estudio e incluir la mayor cantidad posible de datos procedentes de ejemplares, abarcando toda el área de

distribución del complejo *F. auricularia*. Sería interesante incorporar más marcadores moleculares, especialmente nucleares, para comprobar si la separación entre los linajes, inferida mediante secuencias de un gen mitocondrial, se mantienen en el genoma nuclear. Para poder elevar a los linajes al estatus de especie, sería necesario comprobar si existen zonas de contacto entre ellos y realizar experimentos de cruzamientos para distinguir si viven en simpatria en estas zonas o, por contrapartida, si son susceptibles a la hibridación. Teniendo en cuenta las distancias genéticas (**Fig. 12**) y los tiempos de divergencia de los linajes (**Fig. 9**), el escenario de la hibridación en zonas de contacto es poco probable, mientras que es más plausible que en dichas zonas los linajes sean simpátricos.

Basándonos en los resultados de este estudio, los linajes deben ser considerados especies verdaderas. Para poder validar el estatus de especie de los linajes, habría que redescubrir la especie *Forficula auricularia* y describir las nuevas especies. Primero se deberían identificar cuál de los linajes descritos se correspondería con la especie *F. auricularia* descrita por Linnaeus, a partir de un ejemplar sueco. El ejemplar tipo se encuentra en 'The Linnaean Collections' de la Sociedad Linneana de Londres, número de ejemplar 6792. Los demás linajes deberían ser estudiados en profundidad y descritos según las normas establecidas en el Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (CINZ, 2000). Esto conllevaría una labor taxonómica exhaustiva que debería comenzar, antes de nada, por comprobar los grupos y sus sinonimias propuestas a lo largo de la historia. Este paso crucial normalmente se obvia y se trabaja con los catálogos de sinónimos existentes sin comprobar las fuentes originales. Estas deben ser consultadas con el fin de evitar posibles errores en la sinonimización de una especie.

Los resultados de este trabajo plantean otra serie de preguntas: si en un estudio con una información genética y morfológica limitada hemos encontrado tanta diversidad, ¿qué encontraríamos si ampliáramos los datos de muestreo? ¿Y si ampliáramos el área de

estudio? No sería de extrañar que el número de linajes dentro del complejo de especie de *Forficula auricularia* aumentara. Por este motivo, es necesario adoptar una visión integradora de la taxonomía e incluir datos procedentes de diferentes metodologías. Gracias a la aplicación de este pensamiento, nuestros datos han sido interpretados de manera más fidedigna. Podemos afirmar que el complejo de especie *Forficula auricularia* está compuesto por, al menos, cuatro linajes y tres de ellos están presentes en la península ibérica. Consecuentemente, la biodiversidad estimada actualmente del Orden Dermaptera se encuentra subestimada, tanto a nivel peninsular como a nivel mundial. Este trabajo proporciona una pequeña muestra de todo lo que queda aún por hacer en el estudio de la biodiversidad, especialmente en un grupo tan poco estudiado como son los dermápteros.

## Conclusiones

---

1. Se acepta y apoya la hipótesis planteada por Wirth y colaboradores (1998), la especie *Forficula auricularia* forma un complejo de especies.
2. En la península ibérica existen tres linajes pertenecientes al complejo *Forficula auricularia*, dos de ellos no descritos anteriormente.
3. Dos de los tres linajes descritos en la península ibérica son crípticos, mientras que el tercero sí se diferencia morfológicamente de los demás tras estudiar seis caracteres morfológicos.
4. Los linajes constituirían especies válidas, aún sin definir taxonómicamente.
5. La diversidad taxonómica del Orden Dermaptera en la península ibérica se encuentra actualmente subestimada.

# Agradecimientos

---

La realización de este trabajo no hubiera sido posible sin la ayuda y el apoyo de mucha gente. Antes de nada, agradecer a Mario la oportunidad que me ha brindado de conocer el mundo de la investigación. Dar las gracias a Enrique por sus sugerencias sobre el desarrollo del presente manuscrito. Gracias a Jorge por su ayuda con los mapas y a Yolanda por su trabajo en el laboratorio. Gracias, también, a todos los que colaboraron en la recogida de muestras. Agradecer a todo el equipo de Marian Ramos: Amanda, Jonathan, Diego y Fernando por ayudarme en todo lo necesario, animarme cuando el equipo no funcionaba y por simplemente alegrarme los días. Gracias especialmente a Jonathan por su paciencia y buena predisposición a la hora de echarme una mano con la estadística y los mapas.

Gracias a mis amigas, especialmente a Bea, que, a pesar de no ser ‘bichólogas’ vivían con la misma intensidad que yo mi interés hacia las tijeretas. Gracias por aguantarme. Gracias a Roberto que, sin su apoyo y motivación, este trabajo no habría salido adelante.

Me es imposible acabar este epígrafe sin darle mis más sinceros agradecimientos a la codirectora de este trabajo, Paloma. Gracias por tu paciencia, por el tiempo que me has dedicado y todo lo que me has enseñado. Gracias por motivarme cuando no tenía claro el futuro de este trabajo. Gracias por tus palabras amables y apoyo incondicional. El mundo científico está de enhorabuena por tener una futura doctora tan preparada y motivada como tú. Gracias.

## Bibliografía

---

- Bickford D, Lohman D, Sodhi N, Ng P, Meier R, Winker K, Ingram K, Das I. 2007.** Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 22: 148-155.
- Cañellas N, Piñol J, Espadaler X. 2005.** Las tijeretas (Dermaptera, Forficulidae) en el control del pulgón en cítrico. *Boletín de Sanidad Vegetal - Plagas* 31: 161-169.
- CINZ (Comisión Internacional de Nomenclatura Zoológica), 2000.** Código Internacional de Nomenclatura Zoológica, 4ª edición. Museo Nacional de Ciencias Naturales - CSIC - International Trust for Zoological Nomenclature, Madrid. 156 pp. [Traducción al español de: ICZN, 2000. International Code of Zoological Nomenclature 4th ed. International Trust for Zoological Nomenclature. London. 306 pp.]
- Cohen KM, Finney SC, Gibbard PL, Fan JX. 2013.** The ICS International Chronostratigraphic Chart. *Episodes* 36: 199-204
- Colgan DJ, Cassis G, Beacham E. 2003.** Setting the Molecular Phylogenetic Framework for the Dermaptera. *Insect Systematics & Evolution* 34: 65-79.
- Cook J, Richardson D. 2010.** Epifaunistic Earwigs (Dermaptera: Hemimerina) Associated with Emin's Pouched Rat (*Cricetomys emini*) in Cameroon, Africa. *Entomological News* 121: 397-399.
- Cooper S, Ibrahim K, Hewitt G. 1995.** Postglacial expansion and genome subdivision in the European grasshopper *Chorthippus parallelus*. *Molecular Ecology* 4: 49-60.

- Cunha R, Verdú J, Lobo J, Zardoya R. 2011.** Ancient origin of endemic Iberian earth-boring dung beetles (Geotrupidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 59: 578-586.
- Daly H. 1985.** Insect Morphometrics. *Annual Review of Entomology* 30: 415-438.
- Darriba D, Taboada G, Doallo R, Posada D. 2012.** jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9: 772-772.
- Dincă V, Wiklund C, Lukhtanov V, Kodandaramaiah U, Norén K, Dapporto L, Wahlberg N, Vila R, Friberg M. 2013.** Reproductive isolation and patterns of genetic differentiation in a cryptic butterfly species complex. *Journal of Evolutionary Biology* 26:2095-2106.
- Drummond A, Suchard M, Xie D, Rambaut A. 2012.** Bayesian Phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution* 29: 1969-1973.
- Fabricius J. 1775.** *Systema entomologiae, sistens insectorum classes, ordines, genera, species, adiectis synonymis, locis, descriptionibus, observationibus.* Flensbvrge et Lipsiae: In Officina Libraria Kortii.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R. 1994.** DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3(5): 294-299.
- Forest F. 2009.** Calibrating the Tree of Life: fossils, molecules and evolutionary timescales. *Annals of Botany* 104: 789-794.

- García-Barros E, Gurrea P, Luciáñez MJ, Cano JM, Munguira ML, Moreno JC, Sanz H, Simón JC. 2002.** Parsimony analysis of endemism and its application to animal and plant geographical distributions in the Ibero-Balearic region (western Mediterranean). *Journal of Biogeography* 29: 109-124.
- Gómez A, Serra M, Carvalho G, Lunt D. 2002.** Speciation in ancient cryptic species complexes: evidence from the molecular phylogeny of *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Evolution* 56: 1431-1444.
- Gómez-Zurita J, Vogler A. 2003.** Incongruent nuclear and mitochondrial phylogeographic patterns in the *Timarcha goettingensis* species complex (Coleoptera, Chrysomelidae). *Journal of Evolutionary Biology* 16: 833-843.
- Grundt H, Kjolner S, Borgen L, Rieseberg L, Brochmann C. 2006.** High biological species diversity in the arctic flora. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103: 972-975.
- Guillet S, Guiller A, Deunff J, Vancassel M. 2000a.** Analysis of a contact zone in the *Forficula auricularia* L. (Dermaptera: Forficulidae) species complex in the Pyrenean Mountains. *Heredity* 85: 444-449.
- Guillet S, Josselin N, Vancassel M. 2000b.** Multiple introductions of the *Forficula auricularia* species complex (Dermaptera: Forficulidae) in eastern North America. *The Canadian Entomologist* 132: 49-57.

- Harris D, Sá-Sousa P. 2002.** Molecular Phylogenetics of Iberian Wall Lizards (Podarcis): Is *Podarcis hispanica* a Species Complex? *Molecular Phylogenetics and Evolution* 23: 75-81.
- Hebert P, Cywinska A, Ball S, deWaard J. 2003a.** Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270: 313-321.
- Hebert P, Ratnasingham S, de Waard J. 2003b.** Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270: S96-S99.
- Heled J, Drummond A. 2009.** Bayesian Inference of Species Trees from Multilocus Data. *Molecular Biology and Evolution* 27: 570-580.
- Herrera Mesa L. 1999.** *Catalogue of the Dermaptera of Spain*. Newbook Ediciones: Pamplona.
- Herrera Mesa L. 2015.** Orden Dermaptera. *Revista IDE@-SEA* 42: 1-10.
- Ibáñez C, García-Mudarra J, Ruedi M, Stadelmann B, Juste J. 2006.** The Iberian contribution to cryptic diversity in European bats. *Acta Chiropterologica* 8:277-297.
- IBM Corporation 2012.** IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corporation
- Irisarri I, Zardoya R. 2013.** Phylogeny Reconstruction. In: eLS. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester.

- Jarvis K, Haas F, Whiting M. 2004.** Phylogeny of earwigs (Insecta: Dermaptera) based on molecular and morphological evidence: reconsidering the classification of Dermaptera. *Systematic entomology* 30: 1-12.
- Karny H. 1911.** Ein interessanter Ohrwurm aus Bosnien. *Entomologische Rundschau Stuttgart* 28: 159-160.
- Kocarek P, John V, Hulva P. 2013.** When the body hides the ancestry: phylogeny of morphologically modified epizoic earwigs based on molecular evidence. *PLoS ONE* 8(6): e66900.
- Kölliker M, Vancassel M. 2007.** Maternal attendance and the maintenance of family groups in common earwigs (*Forficula auricularia*): a field experiment. *Ecological Entomology* 32(1): 24-27.
- Lanfear R, Calcott B, Ho S, Guindon S. 2012.** PartitionFinder: Combined Selection of Partitioning Schemes and Substitution Models for Phylogenetic Analyses. *Molecular Biology and Evolution* 29: 1695-1701.
- Maddison WP, Maddison DR. 2011.** Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.75. <<http://mesquiteproject.org/>>
- Marsham T. 1802.** *Entomologia britannica: sistens insecta Britanniae indigena, secundum methodum Linnæanam disposita. Volumen 1.* Londres: Prostat venalis apud J. White.

- Martínez-Solano I, Gonçalves H, Arntzen J, García-París M. 2004.** Phylogenetic relationships and biogeography of midwife toads (Discoglossidae: Alytes). *Journal of Biogeography* 31: 603-618.
- Martínez-Solano I, Teixeira J, Buckley D, García-París M. 2006.** Mitochondrial DNA phylogeography of *Lissotriton boscai* (Caudata, Salamandridae): evidence for old, multiple refugia in an Iberian endemic. *Molecular Ecology* 15: 3375-3388.
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T. 2010.** Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. 1-8 pp. In: Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE). New Orleans.
- Myers N, Mittermeier R, Mittermeier C, Kent J. 2000.** Biodiversity Hotspots for Conservation Priorities. *Nature* 403: 853-858.
- Ortuño V, Martínez-Pérez F. 2011.** Diversidad de Artrópodos en España. 235-284 pp. In: Viejo Montesinos JL, *Biodiversidad. Aproximación a la diversidad botánica y zoológica de España*. Madrid: Real Sociedad Española de Historia Natural. Segunda época, Tomo IX. Universidad Complutense de Madrid.
- Padial J, Miralles A, De la Riva I, Vences M. 2010.** The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology* 7: 1-14.
- Papadopoulou A, Anastasiou I, Vogler A. 2010.** Revisiting the insect mitochondrial molecular clock: The Mid-Aegean Trench calibration. *Molecular Biology and Evolution* 27: 1659-1672.

- Passamonti M, Mantovani B, Scali V. 2004.** Phylogeny and karyotype evolution of the Iberian *Leptynia attenuata* species complex (Insecta Phasmatodea). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30: 87-96.
- Pavón-Goñalo P, Milá B, Aleixandre P, Calderón J, Zaldívar-Riverón A, Hernández-Montoya J, García-París M. 2011.** Invasion of Two Widely Separated Areas of Mexico by *Forficula auricularia* (Dermaptera: Forficulidae). *Florida Entomologist* 94: 1088-1090.
- Peña C. 2011.** Métodos de inferencia filogenética. *Revista Peruana de Biología* 18 (2): 265-267.
- Pfenninger M, Schwenk K. 2007.** Cryptic animal species are homogeneously distributed among taxa and biogeographical regions. *BMC Evolutionary Biology* 7: 121.
- Popham E. 1959.** The anatomy in relation to feeding habits of *Forficula auricularia* L. and other dermaptera. *Proceedings of the Zoological Society of London* 133: 251-300.
- Popham E. 2000.** The geographical distribution of the Dermaptera (Insecta) with reference to continental drift. *Journal of Natural History* 34: 2007-2027.
- Ribera I, Fresneda J, Bucur R, Izquierdo A, Vogler A, Salgado J, Cieslak A. 2010.** Ancient origin of a Western Mediterranean radiation of subterranean beetles. *BMC Evolutionary Biology* 10: 29.
- Ribera I, Vogler A. 2004.** Speciation of Iberian diving beetles in Pleistocene refugia (Coleoptera, Dytiscidae). *Molecular Ecology* 13: 179-193.

- Ronquist F, Huelsenbeck J. 2003.** MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- Saccone C, De Giorgi C, Gissi C, Pesole G, Reyes A. 1999.** Evolutionary genomics in Metazoa: the mitochondrial DNA as a model system. *Gene* 238: 195-209.
- Sanmartín I. 2003.** Dispersal vs. vicariance in the Mediterranean: historical biogeography of the Palearctic Pachydeminae (Coleoptera, Scarabaeoidea). *Journal of Biogeography* 30: 1883-1897.
- Stadler T. 2009.** On incomplete sampling under birth–death models and connections to the sampling-based coalescent. *Journal of Theoretical Biology* 261: 58-66.
- Stamatakis A. 2014.** RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312-1313.
- Steinmann H. 1989.** *World catalogue of Dermoptera*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Holanda. K.A Spencer (eds.) Series Entomologia 43: 934 pp.
- Swofford D. 2002.** PAUP\*: Phylogenetics analysis using parsimony (\*and other methods), version 4.0 beta 10. Sinauer, Sunderland.
- Taberlet P, Fumagalli L, Wust-Saucy A, Cosson J. 1998.** Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology* 7: 453-464.

- Tawfik MFS, Abul-Nasr S, El-Husseini MM. 1972.** The biology of *Labiduria riparia* Pallas (Dermaptera: Labiduridae). *Bulletin de la Société Entomologique d'Egypte* 56:75-92.
- Wake D. 1997.** Incipient species formation in salamanders of the *Ensatina* complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94: 7761-7767.
- Wirth T, Guellec R, Vancassel M, Veuille M. 1998.** Molecular and Reproductive Characterization of Sibling Species in the European Earwig (*Forficula auricularia*). *Evolution* 52: 260.
- Xu J, De Barro P, Liu S. 2010.** Reproductive incompatibility among genetic groups of *Bemisia tabaci* supports the proposition that the whitefly is a cryptic species complex. *Bulletin of Entomological Research* 100: 359-366.

# Anexos

---

## Anexo I: Lista de ejemplares.

Id.	Localidad	Coordenadas	Colector	Sexo	Uso
<b>tij10022</b>	ESPAÑA: Aragón: Zaragoza: 2 km al N de Tauste, 263 m	41°55'49.59"N 1°14'48.32"O	MGP; GGM	♂	ADN
<b>tij10026</b>	ESPAÑA: Madrid: Madrid: Jardines del Museo Nacional de Ciencias Naturales, 682 m	40°26'29.74"N 3°41'21.26"O	MGP	♂	ADN
<b>tij11120</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Santuario de Nuestra Señora de la Luz, 49 m	36°04'53.8"N 5°37'28.9"O	MGP; NPD	♂	ADN
<b>tij11121</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Santuario de Nuestra Señora de la Luz, 49 m	36°04'53.8"N 5°37'28.9"O	MGP; NPD	♂	ADN
<b>tij11125</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Santuario de Nuestra Señora de la Luz, 49 m	36°04'53.8"N- 5°37'28.9"O	MGP; NPD	♀	Morfometría

<b>tij11126</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Santuario de Nuestra Señora de la Luz, 49 m	36°04'53.8"N-5°37'28.9"O	MGP; NPD	♀	Morfometría
<b>tij11129</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Santuario de Nuestra Señora de la Luz, 49 m	36°04'53.8"N-5°37'28.9"O	MGP; NPD	♀	Morfometría
<b>tij11130</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Santuario de Nuestra Señora de la Luz, 49 m	36°04'53.8"N-5°37'28.9"O	MGP; NPD	♂	Morfometría
<b>tij11131</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Santuario de Nuestra Señora de la Luz, 49 m	36°04'53.8"N-5°37'28.9"O	MGP; NPD	♀	Morfometría
<b>tij11132</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Santuario de Nuestra Señora de la Luz, 49 m	36°04'53.8"N-5°37'28.9"O	MGP; NPD	♂	Morfometría
<b>tij11133</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Santuario de Nuestra Señora de la Luz, 49 m	36°04'53.8"N-5°37'28.9"O	MGP; NPD	♂	Morfometría

<b>tij11134</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Santuario de Nuestra Señora de la Luz, 49 m	36°04'53.8"N- 5°37'28.9"O	MGP; NPD	♀	Morfometría
<b>tij11135</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Santuario de Nuestra Señora de la Luz, 49 m	36°04'53.8"N- 5°37'28.9"O	MGP; NPD	♂	Morfometría
<b>tij11138</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Playa de Los Lances, 4 m	36°02'54.6"N 5°38'33.4"O	MGP; NPD	♂	ADN
<b>tij11140</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Playa de Los Lances, 4 m	36°02'54.6"N- 5°38'33.4"O	MGP; NPD	♀	Morfometría
<b>tij11141</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Playa de Los Lances, 4 m	36°02'54.6"N 5°38'33.4"O	MGP; NPD	♂	ADN
<b>tij11142</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Playa de Los Lances, 4 m	36°02'54.6"N- 5°38'33.4"O	MGP; NPD	♀	Morfometría
<b>tij11143</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Playa de Los Lances, 4 m	36°02'54.6"N- 5°38'33.4"O	MGP; NPD	♀	Morfometría

<b>tij11144</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Playa de Los Lances, 4 m	36°02'54.6"N-5°38'33.4"O	MGP; NPD	♀	Morfometría
<b>tij11145</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Tarifa: Playa de Los Lances, 4 m	36°02'54.6"N-5°38'33.4"O	MGP; NPD	♀	Morfometría
<b>tij11246</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puebla de Don Fadrique: Nablanca, 1517 m	38°00'23.6"N-2°28'28.2"O	MGP; NPD	♀	Morfometría
<b>tij11247</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puebla de Don Fadrique: Nablanca, 1517 m	38°00'23.6"N-2°28'28.2"O	MGP; NPD	♀	Morfometría
<b>tij11248</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puebla de Don Fadrique: Nablanca, 1517 m	38°00'23.6"N-2°28'28.2"O	MGP; NPD	♀	Morfometría
<b>tij11496</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Ventas de Zafarraya: El Almendral, 939 m	36°59'15.24"N-4°19'00.70"O	JLRG	♀	Morfometría
<b>tij11498</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Ventas de Zafarraya: El Almendral, 939 m	36°59'15.24"N-4°19'00.70"O	JLRG	♀	Morfometría
<b>tij11539</b>	HUNGRÍA: Budapest: Baross utca, 103 m	47°29'22.26"N-19°03'50.64"E	MGP; JV	♂	ADN

<b>tij11542</b>	HUNGRÍA: Csopak, 150 m	46°58'51.92"N 17°55'20.82"E	MGP; JV	♂	ADN
<b>tij11590</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Laguna de Aguas Verdes, 3058 m	37°02'53.16"N 3°22'06.04"O	PPG; MGP; JMB	♂	ADN
<b>tij11591</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Laguna de Aguas Verdes, 3058 m	37°02'53.16"N 3°22'06.04"O	PPG; MGP; JMB	♀	Morfometría
<b>tij11595</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puerto de la Ragua, 2032 m	37°06'57.87"N 3°01'53.52"O	PPG; MGP	♂	Morfometría
<b>tij11596</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puerto de la Ragua, 2032 m	37°06'57.87"N 3°01'53.52"O	PPG; MGP	♂	Morfometría
<b>tij11597</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puerto de la Ragua, 2032 m	37°06'57.87"N 3°01'53.52"O	PPG; MGP	♂	Morfometría
<b>tij11598</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puerto de la Ragua, 2032 m	37°06'57.87"N 3°01'53.52"O	PPG; MGP	♂	Morfometría

<b>tij11601</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puerto de la Ragua, 2032 m	37°06'57.87"N 3°01'53.52"O	PPG; MGP	♀	Morfometría
<b>tij11602</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puerto de la Ragua, 2032 m	37°06'57.87"N 3°01'53.52"O	PPG; MGP	♀	Morfometría
<b>tij11603</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puerto de la Ragua, 2032 m	37°06'57.87"N 3°01'53.52"O	PPG; MGP	♀	Morfometría
<b>tij11604</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puerto de la Ragua, 2032 m	37°06'57.87"N 3°01'53.52"O	PPG; MGP	♀	Morfometría
<b>tij11605</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puerto de la Ragua, 2032 m	37°06'57.87"N 3°01'53.52"O	PPG; MGP	♀	Morfometría
<b>tij11606</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puerto de la Ragua, 2032 m	37°06'57.87"N 3°01'53.52"O	PPG; MGP	♀	Morfometría
<b>tij11607</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puerto de la Ragua, 2032 m	37°06'57.87"N 3°01'53.52"O	PPG; MGP	♂	Morfometría
<b>tij11608</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puerto de la Ragua, 2032 m	37°06'57.87"N 3°01'53.52"O	PPG; MGP	♂	Morfometría

<b>tij11609</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puerto de la Ragua, 2032 m	37°06'57.87"N 3°01'53.52"O	PPG; MGP	♂	Morfometría
<b>tij11612</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puerto de la Ragua: Fuente las Yeguas, 2046 m	37°06'35.03"N 3°01'39.08"O	PPG; MGP	♂	Morfometría
<b>tij11613</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Puerto de la Ragua: Fuente las Yeguas, 2046 m	37°06'35.03"N 3°01'39.08"O	PPG; MGP	♀	Morfometría
<b>tij11627</b>	ESPAÑA: Castilla - León: León: Collada de Aralla: Estación telefónica, 1631 m	42°54'31.02"N 5°48'14.43"O	PPG; MGP	♂	Morfometría
<b>tij11679</b>	ESPAÑA: Extremadura: Cáceres: Trevejo, 727 m	40°10'32.9"N 6°46'42.2"O	PPG; MGP	♂	ADN
<b>tij11901</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Borreguiles del Río San Juan, 2546 m	37°05'05.06"N 3°22'30.81"O	PPG; MGP	♂	Morfometría
<b>tij11902</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Borreguiles del Río San Juan, 2546 m	37°05'05.06"N 3°22'30.81"O	PPG; MGP	♂	Morfometría

<b>tij11903</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Borreguiles del Río San Juan, 2546 m	37°05'05.06"N 3°22'30.81"O	PPG; MGP	♀	Morfometría
<b>tij11924</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Laguna Aguas Verdes, 3058 m	37°02'53.16"N 3°22'06.04"O	PPG; MGP; JMB	♂	Morfometría
<b>tij11925</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Laguna Aguas Verdes, 3058 m	37°02'53.16"N 3°22'06.04"O	PPG; MGP; JMB	♂	Morfometría
<b>tij11926</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Laguna Aguas Verdes, 3058 m	37°02'53.16"N 3°22'06.04"O	PPG; MGP; JMB	♀	Morfometría
<b>tij11927</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Laguna Aguas Verdes, 3058 m	37°02'53.16"N 3°22'06.04"O	PPG; MGP; JMB	♂	Morfometría
<b>tij11928</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Laguna Aguas Verdes, 3058 m	37°02'53.16"N 3°22'06.04"O	PPG; MGP; JMB	♂	Morfometría

<b>tij11929</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Laguna Aguas Verdes, 3058 m	37°02'53.16"N 3°22'06.04"O	PPG; MGP; JMB	♀	Morfometría
<b>tij11938</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Laguna de Río Seco, 3029 m	37°03'07.16"N 3°20'45.57"O	PPG; MGP; JMB	♀	Morfometría
<b>tij12669</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Sierra Tejada - Alhama: carril La Alcaiceira-El Robledal, 1073 m	36°56'20.24"N- 04°00'14.10"O	JLRG	♂	Morfometría
<b>tij12670</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Sierra Tejada - Alhama: carril La Alcaiceira-El Robledal, 1073 m	36°56'20.24"N- 04°00'14.10"O	JLRG	♂	Morfometría
<b>tij12671</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Sierra Tejada - Alhama: carril La Alcaiceira-El Robledal, 1073 m	36°56'20.24"N- 04°00'14.10"O	JLRG	♂	Morfometría
<b>tij12672</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Sierra Tejada - Alhama: carril La Alcaiceira-El Robledal, 1073 m	36°56'20.24"N- 04°00'14.10"O	JLRG	♂	Morfometría

<b>tij12673</b>	ESPAÑA: Andalucía: Granada: Sierra Tejada - Alhama: carril La Alcaiceira-El Robledal, 1073 m	36°56'20.24"N-04°00'14.10"O	JLRG	♀	Morfometría
<b>tij12704</b>	ESPAÑA: Asturias: Puerto de Pajares: Estación de Brañillín, 1503 m	42°58'33.9"N 5°46'22.5"O	PPG; MGP	♂	ADN
<b>tij13155</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Puerto del Bujeo, 298 m	36°04'11.3"N-5°31'57.1"O	MGP; NPD	♂	Morfometría
<b>tij13173</b>	ESPAÑA: Andalucía: Córdoba: Montilla, 361 m	37°34'54.3"N 4°37'18.7"O	MGP; NPD	♂	ADN
<b>tij13278</b>	ANDORRA: Ordino: Estación de esquí Arcalís, 2115 m	42°37'40.2"N 1°29'36.7"E	MGP; GGM	♀	ADN
<b>tij13279</b>	ANDORRA: Ordino: Coll d'Ordino, 1970 m	42°33'19.9"N 1°34'18.1"E	MGP; GGM	♀	ADN
<b>tij13294</b>	FRANCIA: Ariège: Mijanes, 1177 m	42°43'56.8"N 2°03'34.7"E	MGP; GGM	Ninfa III	ADN
<b>tij13295</b>	FRANCIA: Ariège: Mijanes, 1177 m	42°43'56.8"N	MGP;	Ninfa	ADN

		2°03'34.7"E	GGM	III	
<b>tij14091</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Los Barrios: Puerto de Ojén, 227 m	36°10'25.8"N 5°34'45.3"O	IMS; JGR; ERG	♂	Morfometría
<b>tij14092</b>	ESPAÑA: Andalucía: Cádiz: Facinas: Embalse de Almodóvar, 112 m	36°09'34.7"N 5°38'05.8"O	IMS; JGR; ERG	♂	Morfometría
<b>tij15052</b>	ESPAÑA: Andalucía:Granada: Sierra Nevada estación inferior telesilla al Veleta	37°04'19.1"N 3°23'18.6"O	JD	♂	Morfometría
<b>tij15053</b>	ESPAÑA:Asturias: Sotres	43°13'58.0"N 4°44'48.8"O	ASV	♀	Morfometría
<b>tij15054</b>	ESPAÑA:Asturias: Amuesa	43°14'15.4"N 4°51'21.6"O	ASV	♀	Morfometría
<b>tij15055</b>	ESPAÑA:Asturias: Amuesa	43°14'15.4"N 4°51'21.6"O	ASV	♂	Morfometría
<b>tij15056</b>	ESPAÑA:Andalucía:Almería: Cabo de Gata, San Miguel de Cabo de Gata.	36°46'51.4"N 2°14'36.0"O		♂	Morfometría

<b>tij15057</b>	ESPAÑA:Extremadura: Caceres:Zarza de Montánchez, Cancho Blanco	39°12'55.8"N 6°02'21.9"O	JGR	♀	Morfometría
<b>tij15058</b>	ESPAÑA:Extremadura: Caceres:Zarza de Montánchez, Cancho Blanco	39°12'55.8"N 6°02'21.9"O	JGR	♀	Morfometría
<b>tij15059</b>	ESPAÑA:Madrid: Tielmes	40°14'53.9"N 3°18'44.7"O	ASV; KLE; MGP	♀	Morfometría
<b>tij15060</b>	ESPAÑA:Madrid: Tielmes	40°14'53.9"N 3°18'44.7"O	ASV; KLE; MGP	♀	Morfometría
<b>tij15061</b>	ESPAÑA:Madrid: Tielmes	40°14'53.9"N 3°18'44.7"O	ASV; KLE; MGP	♀	Morfometría
<b>tij15062</b>	ESPAÑA:Madrid: Tielmes	40°14'53.9"N 3°18'44.7"O	ASV; KLE; MGP	♂	Morfometría
<b>tij15063</b>	ESPAÑA: Murcia: Yéchar	38°04'°16.6"N 1°26'26.9"O	ASV	♂	Morfometría
<b>tij15064</b>	ESPAÑA: Murcia: Yéchar	38°04'°16.6"N 1°26'26.9"O	ASV	♂	Morfometría



# Material suplementario

---

## Análisis estadísticos

A continuación, se presentan los resultados de los diferentes análisis estadísticos realizados previamente a los análisis discriminantes.

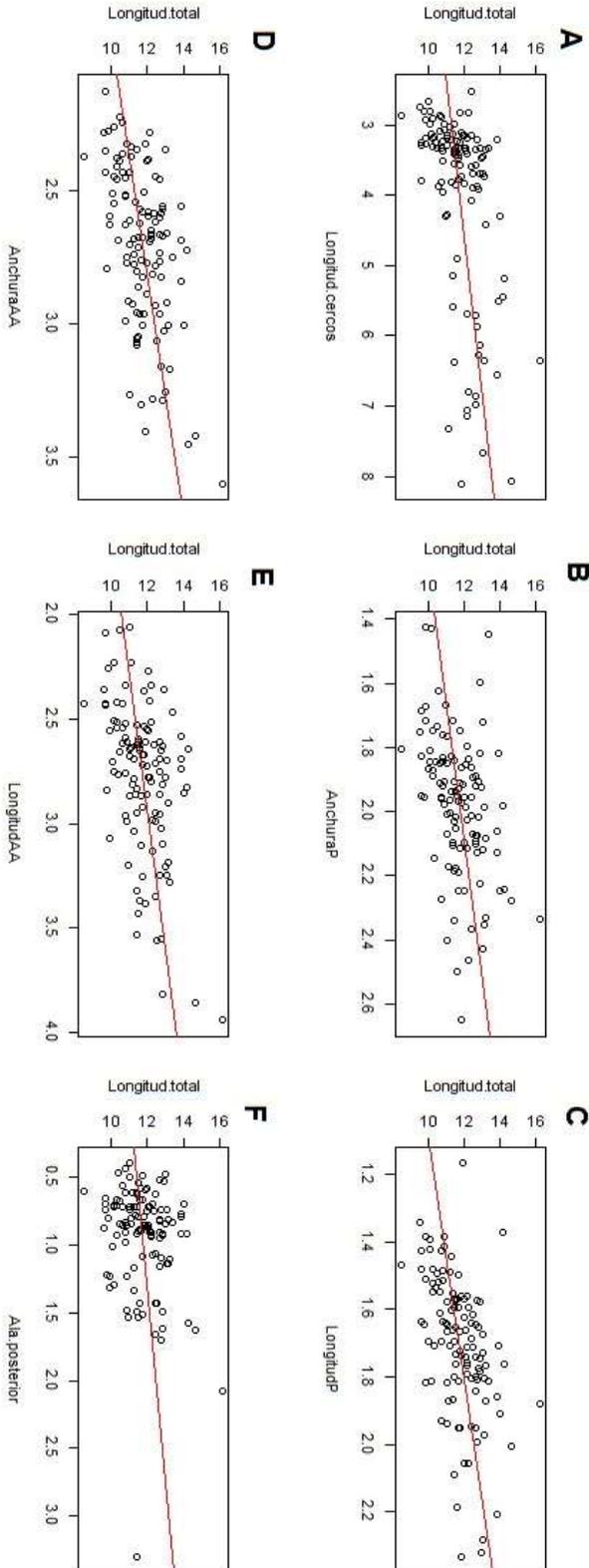
### Estadísticos descriptivos

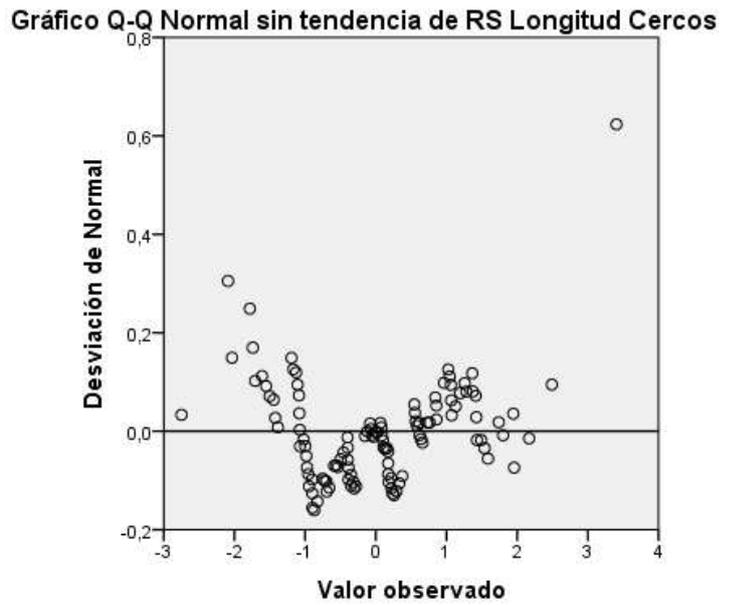
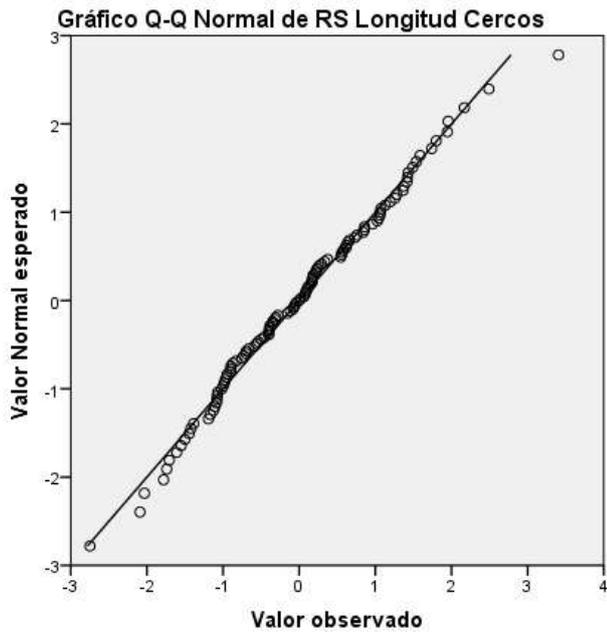
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Longitud Total	115	8,4910	16,2160	11,743686	1,2482915
Longitud Cercos	115	2,514	8,113	3,99179	1,341127
Anchura Pronoto	115	1,424	2,651	1,98073	,217817
Longitud Pronoto	115	1,167	2,332	1,70265	,210664
Anchura Élitros	115	2,123	3,602	2,70652	,302663
Longitud Élitros	115	2,059	3,942	2,78330	,364169
Longitud Ala posterior	115	,395	3,299	,93624	,392085
N válido (según lista)	115				

**Figura 1:** Tabla con los estadísticos descriptivos de todas las variables utilizadas para el análisis estadístico.

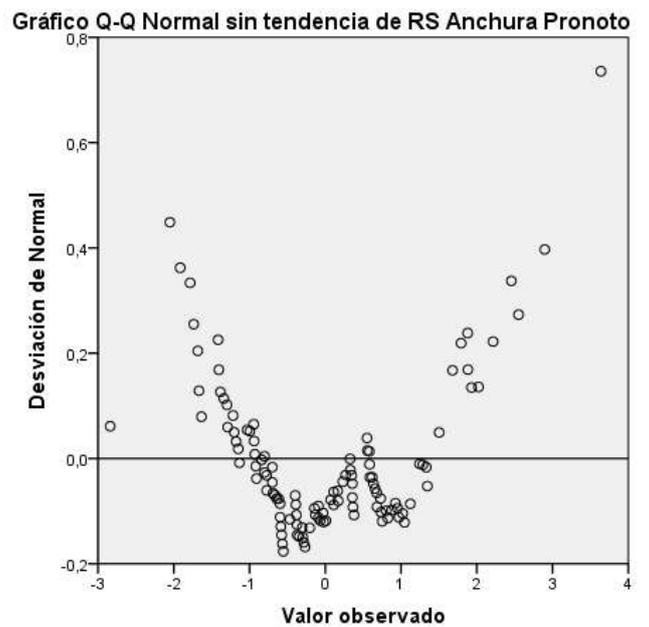
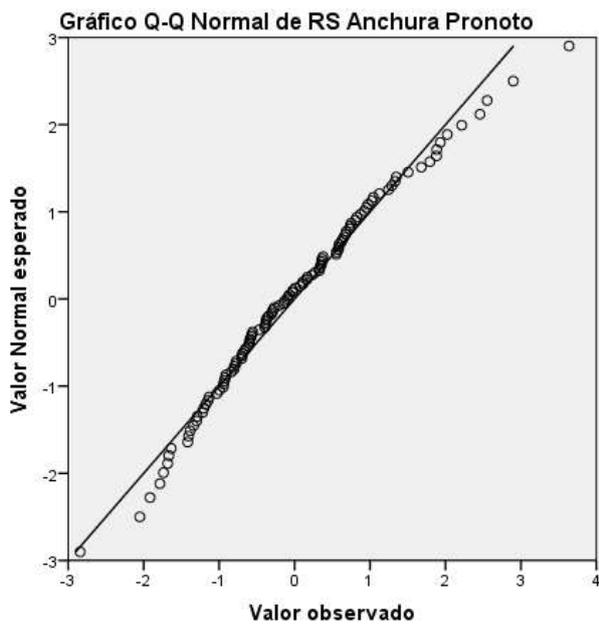
**Figura 2:** Rectas de regresión de las variables independientes frente a la variable dependiente (Longitud Total):

- A. Longitud de cercos
- B. Anchura del pronoto
- C. Longitud del pronoto
- D. Anchura de los élitros
- E. Longitud de los élitros
- F. Longitud del ala posterior

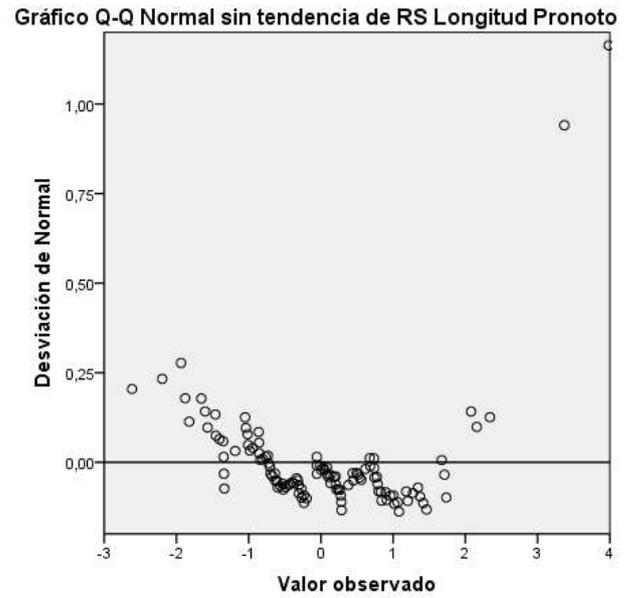
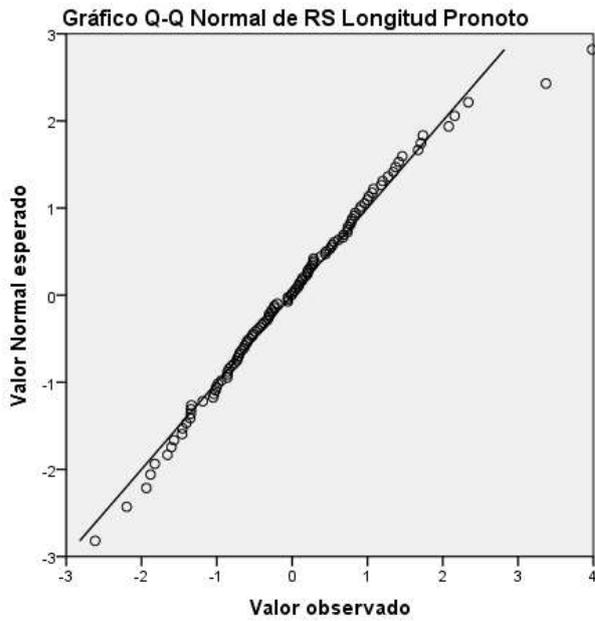




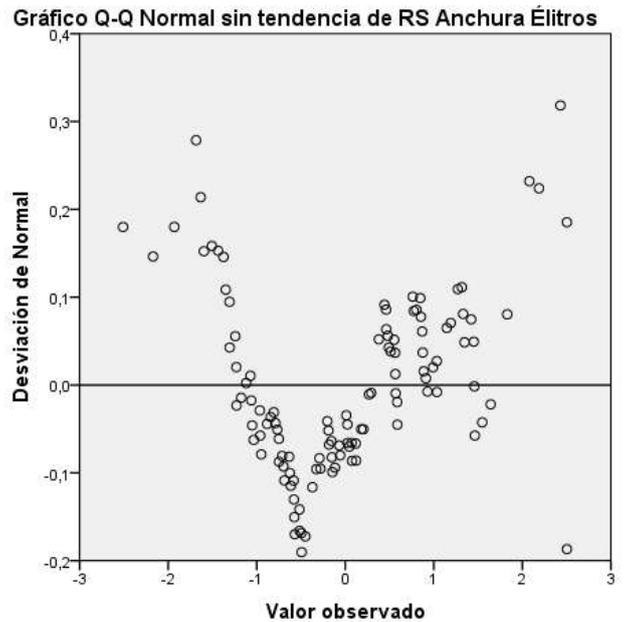
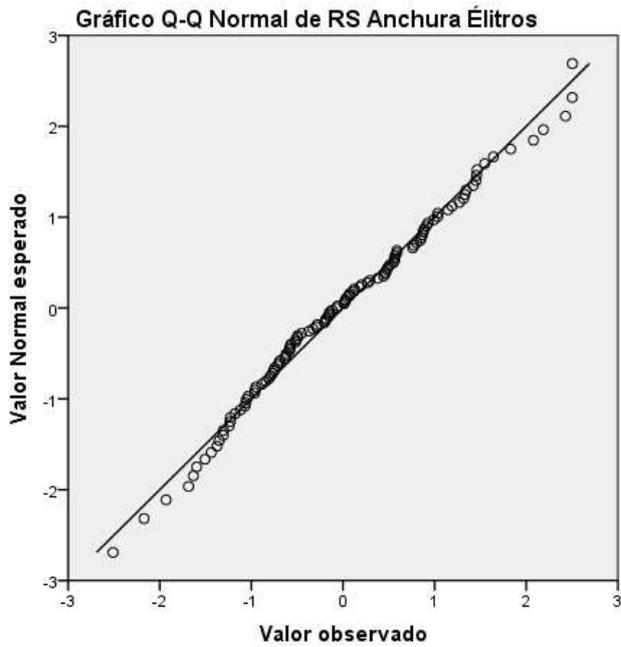
**Figura 3:** Gráficos Q-Q de los residuos estandarizados de la variable 'Longitud de Cercos'. El gráfico de la izquierda confirma la normalidad de los residuos y el gráfico de la derecha confirma la homocedasticidad de los residuos.



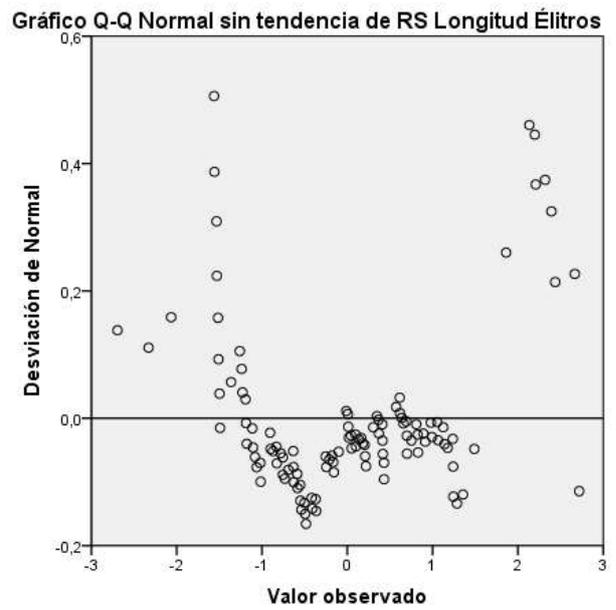
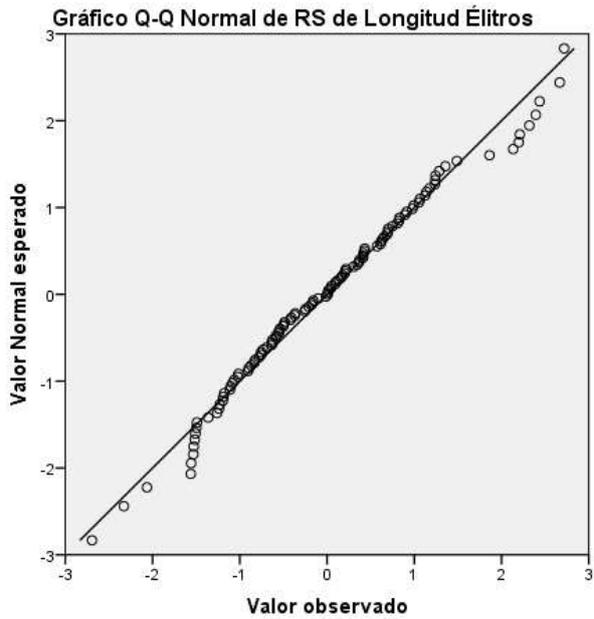
**Figura 4:** Gráficos Q-Q de los residuos estandarizados de la variable 'Anchura del Pronoto'. El gráfico de la izquierda confirma la normalidad de los residuos y el gráfico de la derecha confirma la homocedasticidad de los residuos.



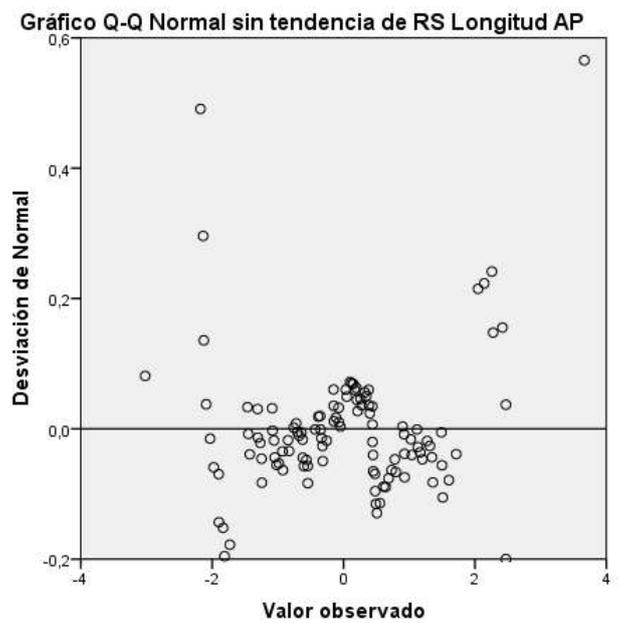
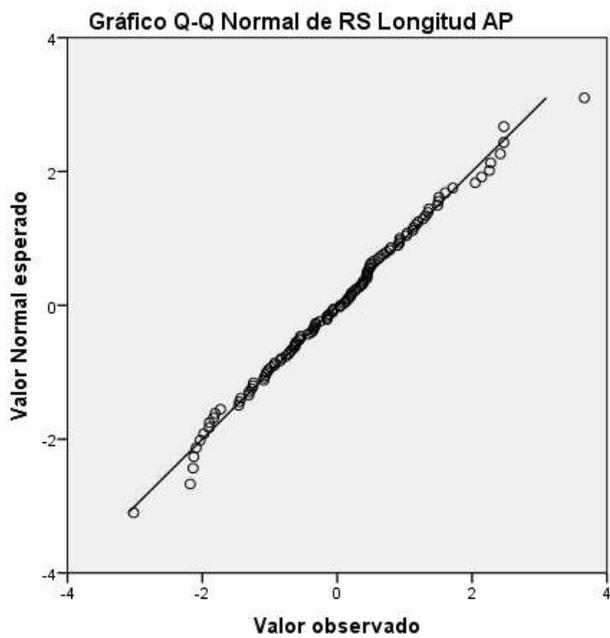
**Figura 5:** Gráficos Q-Q de los residuos estandarizados de la variable 'Longitud del Pronoto'. El gráfico de la izquierda confirma la normalidad de los residuos y el gráfico de la derecha confirma la homocedasticidad de los residuos.



**Figura 6:** Gráficos Q-Q de los residuos estandarizados de la variable 'Anchura de los élitros'. El gráfico de la izquierda confirma la normalidad de los residuos y el gráfico de la derecha confirma la homocedasticidad de los residuos.



**Figura 7:** Gráficos Q-Q de los residuos estandarizados de la variable 'Longitud de los élitros'. El gráfico de la izquierda confirma la normalidad de los residuos y el gráfico de la derecha confirma la homocedasticidad de los residuos.



**Figura 8:** Gráficos Q-Q de los residuos estandarizados de la variable 'Longitud del Ala posterior'. El gráfico de la izquierda confirma la normalidad de los residuos y el gráfico de la derecha confirma la homocedasticidad de los residuos.

## Análisis discriminante:

**Matriz de estructura**

	Función				
	1	2	3	4	5
Res_LAA	-,021	,803*	-,100	,091	,579
Res_APOS	-,129	,675*	,096	,380	,611
Res_LP	,201	,641*	,323	,260	,614
Res_cercos	-,041	,447	,275	-,016	,850*
Res_AAA	,157	,593	-,122	,229	,746*
Res_AP <sup>b</sup>	,024	,603	,055	,246	,692*

Correlaciones intra-grupo combinadas entre las variables discriminantes y las funciones discriminantes canónicas tipificadas  
Variables ordenadas por el tamaño de la correlación con la función.

\*. Mayor correlación absoluta entre cada variable y cualquier función discriminante.

b. Esta variable no se emplea en el análisis.

**Figura 9:** Matriz de estructura del análisis discriminante que representa las correlaciones entre las funciones discriminantes y las variables. La variable 'Residuos estandarizados de la anchura del pronoto' no se emplea en el análisis