



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas



Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales
Laboratorios de Entomología Agrícola y Patología de Insectos

Variación morfológica y genética de diferentes poblaciones de la palomilla europea del pimiento, *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae)

Tesis que presenta:

L. Bt. Andrea Zermeño Bucio

Como requisito para obtener el grado de:

Maestra en Ciencias Biológicas

Directora de Tesis:

Dra. Ana Mabel Martínez Castillo

Codirector de Tesis:

Dr. Samuel Pineda Guillermo

Morelia, Michoacán

Febrero, 2026

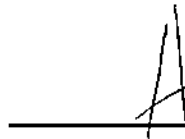
Declaración de originalidad

El presente documento es producto del trabajo original de investigación de la L. Bt. Andrea Zermeño, estudiante del Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas y respetando siempre los más altos estándares éticos solicitados por la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Todos los datos de la investigación reportada en el presente documento de tesis (excepto los indicados explícitamente en el texto), fueron obtenidos por la L. Bt. Andrea Zermeño Bucio durante el periodo que fue estudiante de la Maestría en Ciencias Biológicas, bajo la Dirección de la Dra. Ana Mabel Martínez Castillo y la Codirección del Dr. Samuel Pineda Guillermo.

Morelia, Mich., a 23 de febrero de 2026

L. Bt. Andrea Zermeño Bucio



Dra. Ana Mabel Martínez Castillo



Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas, UMSNH



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) y al Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) por permitirme hacer uso de sus instalaciones para el desarrollo de esta investigación.

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación por la beca otorgada.

A la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y al Instituto de Ciencia, Tecnología e Innovación del Estado de Michoacán por el apoyo financiero otorgado al proyecto.

Al Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas de la de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por brindarme la oportunidad de realizar este proyecto.

A mi directora de tesis, la Dra. Ana Mabel Martínez Castillo y a mi codirector, el Dr. Samuel Pineda Guillermo, por su asesoramiento y compromiso por el desarrollo de este trabajo. Así como por sus conocimientos compartidos durante esta etapa de mi formación académica.

Al Dr. José Isaac Figueroa de la Rosa, a la Dra. Selene Ramos Ortiz y al Dr. Jesús Llanderal Mendoza por sus valiosas aportaciones y observaciones al escrito del trabajo de tesis, así como por su conocimiento brindado.

A los laboratorios Entomología Agrícola y Patología de Insectos del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales por el apoyo recibido para el uso de infraestructura para desarrollar este trabajo de tesis.

Agradezco al Dr. Jesús Llanderal Mendoza por el apoyo técnico para el desarrollo de técnicas moleculares de alta especialización, así como al Laboratorio de Ecología Molecular de la Escuela Nacional de Estudios Superiores UNAM, Unidad Morelia, por darnos la facilidad de realizar metodologías experimentales en sus instalaciones, el uso de equipos de laboratorio y por el uso del Secuenciador Sanger Hitachi 3500.

Al M.C. Juan Manuel Chavarrieta Yáñez, al M.P.A Luis Jesús Palma Castillo y a la Biol. Adileni Guadalupe Hernández Manzo, por la ayuda brindada en la colecta del material biológico.

A todas aquellas compañeras, compañeros, amigas y amigos que se involucraron en este proyecto de manera directa e indirecta.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
2.1 Importancia de los cultivos de frutillas en México.....	2
2.2 Biología, daños y control de <i>Duponchelia fovealis</i>	4
2.3 Descripción de la morfometría lineal y geométrica	6
2.4 Gen mitocondrial citocromo oxidasa subunidad I (COI)	8
2.5 Estudios con morfometría geométrica y gen COI en especies de la familia Crambidae.....	9
III. JUSTIFICACIÓN	10
IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	10
V. HIPÓTESIS	10
VI. OBJETIVOS.....	10
6.1 Objetivo general.....	10
6.2 Objetivos específicos.....	10
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	11
7.1 Localidades de muestreo y recolección de individuos de <i>D. fovealis</i>	11
7.2 Variación morfológica de poblaciones de <i>D. fovealis</i> a través de morfometría lineal y geométrica.....	11
7.2.1 Análisis estadísticos de datos morfométricos.	13
7.3 Variación genética intra e interpoblacional de <i>D. fovealis</i> mediante el uso del gen COI	14
7.3.1 Extracción del material genético (ADN) de <i>D. fovealis</i>	14
7.3.1.1 Cuantificación de ADN de <i>D. fovealis</i>	15
7.3.2 Amplificación del gen COI.....	15
7.3.3 Secuenciación de productos de PCR y análisis filogenético.	16
VIII. RESULTADOS.....	18
8.1 Variación morfológica de poblaciones de <i>D. fovealis</i> a través de morfometría lineal	18
8.1.1 Variación morfológica de poblaciones de <i>D. fovealis</i> a través de morfometría geométrica	21
8.2 Amplificación del gen COI a partir de ADN de <i>D. fovealis</i>	23
8.2.1 Variación genética intra e interpoblacional de <i>D. fovealis</i>	25

IX. DISCUSIÓN	28
9.1 Variación morfológica de poblaciones de <i>D. fovealis</i> a través de morfometría lineal y morfometría geométrica.....	28
9.2 Variación genética intra e interpoblacional de <i>D. fovealis</i> mediante el uso del gen COI	30
X. CONCLUSIONES	33
XI. PERSPECTIVAS.....	34
XII. LITERATURA CITADA.....	35

TABLA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico de <i>D. fovealis</i>. (A) huevo, (B) larva de quinto instar, (C) pupa y (D) adulto (imágenes de Andrea Zermeño Bucio).....	4
Figura 2. Daños de larvas de <i>D. fovealis</i> en plantas de fresa. (A) Larva junto a la corona del tallo, (B) heridas en el tallo provocadas por herbivoría de la larva y (C) larva alimentándose del fruto de fresa (imágenes de Rodríguez-Vázquez et al., 2023).	5
Figura 3. Conjunto de landmarks usados en alas de (A) <i>Drosophila melanogaster</i> Meigen (Diptera: Drosophilidae) (tomado de Klingenberg 2013) y (B) posición de 17 hitos anatómicos en el ala derecha de <i>Auca coctei</i> Guérin-Ménéville (Lepidoptera: Nymphalidae) (tomado de Sanzana et al., 2013).	7
Figura 4. Ala anterior (A) y posterior (B) de <i>D. fovealis</i> que muestran respectivamente los 22 y 16 landmarks utilizados en el presente análisis, así como las mediciones de longitud (línea verde solida) y amplitud (línea verde punteada) realizadas.	13
Figura 5. Promedio (mm $\pm$ EE, error estándar) de mediciones de dos caracteres morfométricos (amplitud y longitud) del ala anterior y posterior en individuos (machos + hembras) de tres poblaciones de <i>D. fovealis</i>. A) Longitud de alas anteriores, B) Amplitud de alas anteriores, C) Longitud de alas posteriores y D) Amplitud de alas posteriores. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($P < 0.05$) para el factor población.	19
Figura 6. Promedio (mm $\pm$ EE, error estándar) de dos caracteres morfométricos (amplitud y longitud) del ala anterior y posterior en individuos de ambos sexos de tres poblaciones de <i>D. fovealis</i>. A) Longitud de alas anteriores, B) Amplitud de alas anteriores, C) Longitud de alas posteriores y D) Amplitud de alas posteriores. BH= Brasil Hembras; GH= Guanajuato Hembras; MH= Michoacán Hembras; BM= Brasil Machos; GM= Guanajuato Machos; MM= Michoacán Machos. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($P < 0.05$) en la interacción Población*Sexo.	20
Figura 7. Análisis de clúster de machos y hembras de cada población de <i>D. fovealis</i> con dos caracteres morfométricos (longitud y amplitud) para el ala anterior y posterior. M=Macho (en color rojo), H=Hembra. Correlación cofenética de Michoacán (M), Guanajuato (G) y Brasil (B): anteriores: 0.777, 0.749, 0.752; y posteriores: 0.789, 0.854, 0.790, respectivamente. Ejemplo, 8MM=individuo 8, macho, Michoacán. Distance = Distancia.	21

Figura 8. Análisis de la variación canónica del ala anterior (A) y posterior (B) en machos y hembras de tres poblaciones de <i>D. fovealis</i>. Las poblaciones están diferenciadas por colores: Brasil (naranja), Guanajuato (morado) y Michoacán (azul). A) Goodall's F: 1.79 $P = 0.08$. Pillai's trace: 1.57, $P = 0.06$ y B) Goodall's F: 6.14, $P < 0.0001$. Pillai's trace: 1.58, $P < 0.0001$	22
Figura 9. Electroforesis en gel de agarosa al 1,5 % de los productos de PCR de gradiente del gen COI en dos individuos de <i>D. fovealis</i>. Carril 1) MM: Marcador molecular (1 kb); A) Individuo 2 de Michoacán; B) Individuo 3 de Michoacán. La línea de color rojo indica el ADN de interés con un tamaño aproximado de 650-658 pares de bases (pb).	23
Figura 10. Electroforesis en gel de agarosa al 1,5% de los productos de PCR del gen COI en tres poblaciones de <i>D. fovealis</i>. Carril 1) MM, marcador molecular (1 kb); la línea en rojo indica el ADN de interés, con un tamaño aproximado de 650-658 pares de bases (pb). M = Michoacán, G = Guanajuato y B = Brasil.	24
Figura 11. Árbol filogenético de máxima verosimilitud de tres poblaciones de <i>D. fovealis</i> y dos grupos externos (<i>C. suppressalis</i> y <i>S. frugiperda</i>). Los valores al inicio de cada nodo representan la robustez de la rama correspondiente (Bootstrap). Las poblaciones están diferenciadas por colores: Michoacán (azul), Guanajuato (Morado) y Brasil (Naranja).	25
Figura 12. Red de haplotipos de <i>D. fovealis</i> construida a partir de secuencias del gen citocromo oxidasa subunidad I (COI). Michoacán (azul), Guanajuato (morado) y Brasil (naranja). Cada círculo corresponde a un haplotipo único y están en proporción con la frecuencia del haplotipo. Cada línea transversal representa una sustitución de nucleótidos entre dos haplotipos.	27

TABLA DE CUADROS

Cuadro 1. Condiciones de amplificación para los primers HCO y LCO utilizados.	16
Cuadro 2. ANOVA multifactorial para la longitud y amplitud del ala anterior y posterior de individuos de tres poblaciones de <i>D. fovealis</i>.	18
Cuadro 3. Análisis molecular de varianza (AMOVA) para las tres poblaciones de <i>D. fovealis</i> bajo estudio.	26

RESUMEN

En México, los cultivos de las frutillas (fresa, zarzamora, frambuesa y arándano) han cobrado gran relevancia debido a su alto valor nutricional y comercial. La palomilla europea del pimiento, *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae), se reportó por primera vez en 2018 alimentándose de hojas y pecíolos de plantas de fresa en Tangancícuaro, Michoacán. A pesar del alto riesgo fitosanitario que representa esta plaga, la información sobre *D. fovealis* en México es aún escasa; por lo tanto, es necesario realizar investigación para comprender su biología, ecología y comportamiento. Uno de los primeros pasos es conocer las posibles variaciones que ha tenido este insecto durante su adaptación a nuevas áreas. En este estudio se determinó la variación morfológica y genética de dos poblaciones mexicanas (Michoacán y Guanajuato) y una extranjera (Brasil) de *D. fovealis*. Para ello, se analizó la morfometría lineal y geométrica de las alas, así como un fragmento del gen de la subunidad I de la citocromo oxidasa (COI). Para la determinación de la variación morfológica se utilizaron las alas anterior y posterior del lado derecho de individuos de *D. fovealis* de las tres poblaciones antes mencionadas (10 parejas por población). El análisis de morfometría lineal se realizó con base a las mediciones de longitud y amplitud de las alas. Mientras que para el análisis de morfometría geométrica se determinaron 22 y 16 landmarks en las alas anteriores y posteriores, respectivamente. Los resultados del análisis de morfometría lineal mostraron que, en la mayoría de los casos, las hembras de las poblaciones de Brasil y Guanajuato presentaron una mayor dimensión de sus alas que las de la población de Michoacán, mientras que los machos no mostraron diferencias significativas entre poblaciones. Por otra parte, el análisis de la morfometría geométrica de la forma del ala posterior de las tres poblaciones de *D. fovealis* constituye un rasgo morfológico distintivo entre ellas. El análisis genético se realizó mediante la amplificación del gen COI en 10 larvas de cada una de las poblaciones analizadas. Este análisis mostró una diferenciación entre las poblaciones geográficamente más distantes, México y Brasil, y una baja variación intrapoblacional, mientras que, la red haplotípica mostró la presencia de un número reducido de haplotipos exclusivos, separados por un número mínimo de mutaciones. Las diferencias morfológicas y genéticas observadas en este estudio podrían estar relacionadas con distintos factores, entre los que se incluyen la baja capacidad de desplazamiento y manejo del insecto en las zonas donde se recolectaron y/o al aislamiento por distancia o barreras físicas.

Palabras clave: COI, morfometría geométrica, morfometría lineal, landmarks, frutillas

ABSTRACT

In Mexico, berry crops (strawberry, blackberry, raspberry, and blueberry) have gained considerable relevance due to their high nutritional and commercial value. The European pepper moth, *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae), was reported for the first time in 2018 in strawberry crops in Tangancícuaro, Michoacán. Despite the high phytosanitary risk posed by this pest, information on *D. fovealis* in Mexico remains scarce; therefore, further research is required to understand its biology, ecology, and behavior. One of the first steps is to know about the possible variations this insect has undergone during its adaptation to new areas. In this study, the morphological and genetic variation of two Mexican populations (Michoacán and Guanajuato) and one foreign population (Brazil) of *D. fovealis* was determined. For this, the linear and geometric morphometry of the wings was analyzed, as well as a fragment of the cytochrome oxidase subunit I (COI) gene. For the determination of morphological variation, the right forewings and hindwings of *D. fovealis* individuals from the three populations (10 pairs per population) were analyzed. Linear morphometric analysis was based on measurements of wing length and width. For the geometric morphometric analysis, 22 and 16 landmarks were established on the forewings and hindwings, respectively. Results from the linear morphometric analysis showed that, in most cases, females from the Brazil and Guanajuato populations exhibited larger wing dimensions than those from the Michoacán population, while males showed no significant differences between populations. Moreover, the geometric morphometric analysis of the hindwing shape proved to be a discriminant morphological character among the three *D. fovealis* populations. The genetic studies were performed using 10 larvae from each population. The analysis revealed differentiation between the most geographically distant populations (Mexico and Brazil) and low intrapopulation variation. Additionally, the haplotype network showed a reduced number of exclusive haplotypes separated by a minimum number of mutations. The morphological and genetic differences observed in this study may be associated with several factors, including limited dispersal capacity, pest management practices in the areas where specimens were collected, and/or isolation by distance or physical barriers.

Keywords: COI, linear morphometrics, geometric morphometrics, landmarks, berries

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente, los cultivos de las frutillas en México (arándano [*Vaccinium corymbosum* L.], frambuesa [*Rubus idaeus* Fock], fresa [*Fragaria* × *ananassa* Duch.] y zarzamora [*Rubus fruticosus* L.]) han cobrado gran relevancia debido a su alto valor nutricional, las altas ganancias que se obtienen por sus exportaciones y a las altas tasas de empleo que generan. Una de las frutillas de mayor importancia es la fresa, ya que en el año 2024 México ocupó el primer lugar como proveedor de este fruto al mercado internacional, con un promedio de 641,552 ton. Durante el mismo año, Michoacán ocupó el primer lugar de las entidades federativas de la República Mexicana con mayor producción de fresa con 411,927 ton (DGSIA, 2024; SADER, 2024).

La palomilla europea del pimiento, *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae), es una especie invasora y polífaga. Este lepidóptero, originario de la región del Mediterráneo e Islas Canarias, España, se ha dispersado y colonizado las regiones templadas de Europa, Asia, África y América del Norte (CABI, 2020). Este insecto puede alimentarse de más de 70 hospederos, pertenecientes a 40 familias de plantas (da Costa Stuart et al., 2020), incluidas aquellas que se cultivan como ornamentales y con fines de consumo, con particular relevancia económica en las plantaciones de fresa (Zawadneak et al., 2015; Pinto-Zevallos et al., 2020). En Latinoamérica, se ha reportado la presencia de *D. fovealis* en este cultivo en Brasil (Zawadneak et al., 2016), México (Soria-Morales, 2019; Cruz-Esteban y Rojas, 2021) y recientemente en Costa Rica (Gonzalez-Fuentes et al., 2023), afectando la producción, calidad y comercialización del producto.

En México, *D. fovealis* se reportó por primera vez en 2018 alimentándose de hojas y pecíolos de plantas de fresa en Tangancícuaro, Michoacán (Soria-Morales, 2019). Hasta el momento, su presencia es conocida en otros estados de la República Mexicana tales como Aguascalientes (Rosales-Escareño et al., 2021), Guanajuato (Cruz-Esteban y Rojas, 2021; Jaraleño-Teniente et al., 2022), Puebla, Jalisco, Sinaloa y Baja California (Rodríguez-Vázquez et al., 2023). Las plantas infestadas por este insecto presentan hojas amarillentas, perforadas y marchitas, con baja productividad e incluso pueden presentar muerte prematura (Zawadneak et al., 2016; da Costa Stuart et al., 2020).

A pesar del alto riesgo fitosanitario que representa *D. fovealis*, la información relacionada con este insecto en México es aún incipiente, por lo tanto, existe la necesidad de generar investigación para comprender su biología, ecología y comportamiento con fines de desarrollo

de programas de manejo de plagas (Bethke et al., 2012; Rodríguez-Vázquez et al., 2023). Aunque a la fecha se cuenta con estudios sobre la descripción del dimorfismo sexual (Brambila y Stocks, 2010; Zawadneak et al., 2016; Rodríguez-Vázquez et al., 2023), no existen estudios sobre comparaciones de variaciones morfológicas y genéticas en distintas poblaciones de esta palomilla.

En este sentido, las variaciones morfológicas de los organismos son atributos medibles que han adquirido las poblaciones en los diferentes entornos ecológicos en respuesta a la interacción con factores bióticos y abióticos. Estas variaciones se pueden analizar mediante la morfometría geométrica, ciencia que estudia en profundidad las variaciones morfológicas para generar patrones distribucionales, evolutivos y filogenéticos (Jaramillo, 2010). De esta forma, el hábito polífago que presentan algunas especies de insectos puede favorecer o dar lugar a la diferenciación de biotipos o razas hospederas (Dres y Mallet, 2002). Un ejemplo de ello es *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), del cual en América se han identificado dos biotipos relacionados por sus preferencias a plantas hospederas: “biotipo arroz” y “biotipo maíz” (Pashley, 1986; Pecina-Quintero et al., 2015).

Por otro lado, la implementación de marcadores moleculares en estudios sobre la diversidad genética ha aumentado considerablemente, especialmente debido a su elevada tasa de polimorfismo y a las reducidas cantidades de ADN requeridas. En insectos, los marcadores moleculares de ADN se han convertido en el criterio más común para medir diferencias genéticas (Behura, 2006). Estudios basados en secuencias de fragmentos del gen mitocondrial citocromo oxidasa I (COI) han demostrado que es una herramienta rápida y poderosa para la identificación precisa de las especies de varios taxones (Harvey et al., 2003; Jordaens et al., 2013).

II. ANTECEDENTES

2.1 Importancia de los cultivos de frutillas en México

Las frutillas, o frutos del bosque, incluyen alrededor de 700 especies nativas de Asia, Europa y Norteamérica, destacando el arándano (*Vaccinium corymbosum* L.), frambuesa (*Rubus idaeus* Fock.), fresa (*Fragaria × ananassa* Duch.) y zarzamora (*Rubus fruticosus* L.). Se consideran cultivos de climas fríos, aunque existen variedades e híbridos que se adaptan a climas templados y cálidos (Ricárdez-Luna et al., 2016). Las frutillas, consumidas comúnmente frescas o procesadas, son una fuente excepcional de compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes, esenciales en una dieta saludable (Rahaman et al., 2023). Además, pese a que

requieren inversiones considerables de capital para su sistema de producción, las principales razones que explican el rápido crecimiento de su producción y comercialización a nivel mundial son su elevada rentabilidad, rápido retorno de la inversión, uso intensivo de mano de obra, versatilidad de los frutos para su consumo y grandes posibilidades de exportación (Lagunes-Fortiz et al., 2020).

En 2023, a nivel nacional, la producción de frutillas fue de 1.15 millones de ton en 42 mil 975 hectáreas y destacaron los estados de Michoacán, con 658 mil 969 ton; Jalisco, 184 mil 697 ton, y Baja California, 140 mil 478 ton. La zarzamora y la fresa se colocaron en primer lugar a nivel mundial, con ventas equivalentes a 777 millones de dólares (238 mil 122 ton) y mil 240 millones de dólares (641 mil 552 ton), respectivamente. La frambuesa tuvo la segunda posición con mil 343 millones de dólares (190 mil 413 ton), mientras que, la producción de arándanos registró 80 mil 133 ton, lo que lo colocó en el quinto lugar mundial y séptimo como exportador, con valor comercial de 776 millones de dólares. Esta actividad agrícola beneficia a las familias al proveerles de alimentos y recursos económicos, generando más de 500 mil empleos directos en 21 entidades del país. De ese número, la producción de fresa aporta 38% del total de las fuentes de empleo, la de frambuesa 23%, la de zarzamora 22% y la de arándano 17% (SADER, 2024).

El estado de Michoacán destaca como líder nacional en la producción de frutillas. Los municipios de Salvador Escalante (1,750 ton), Los Reyes (1,380 ton), Tangancícuaro (1,216 ton) y Chilchota (588.3 ton) encabezaron la lista como principales productores de arándano, mientras que Zamora (11,348.7 ton), Tangancícuaro (5,658.8 ton), Los Reyes (2,880 ton) y Jacona (2,808 ton) lo fueron para frambuesa. Para fresa se enlistaron Zamora, (112, 041 ton), Tangancícuaro (55, 260 ton), Jacona (38, 507 ton), Ixtlán (27, 072 ton), Panindícuaro (19, 655 ton), Maravatío (12, 000 ton) y Chilchota (10, 013 ton) (SIAP, 2021; SADER, 2023).

En México, la superficie cultivada y la producción de frutillas han experimentado un notable crecimiento. No obstante, también ha incrementado la susceptibilidad de sus variedades a diversas plagas. Entre los artrópodos plaga más importantes y difíciles de controlar en la producción de frutillas se encuentran *Drosophila suzukii* (Matsumura), *Frankliniella occidentalis* (Pergande), *Scirtothrips dorsalis* Hood, chinche ligus (*Lygus* sp. Knight) y *Tetranychus urticae* (Koch). La incidencia de los problemas fitosanitarios en las frutillas es variable, lo cual depende de las condiciones climáticas, cultivares utilizados y prácticas del cultivo (León-López et al., 2014; SENASICA, 2022).

2.2 Biología, daños y control de *Duponchelia fovealis*

Duponchelia fovealis es un insecto holometábolo, es decir, presenta cuatro estados de vida bien diferenciados: huevo, larva, pupa y adulto. Los huevos (Fig. 1A) son de forma ovalada-aplanada, de color blanquecino con un diámetro de aproximadamente 0.5 mm, conforme avanza su desarrollo, el color se torna rojizo (Bonsignore y Vacante, 2010). Las hembras depositan los huevos de forma individual o en grupos de 5 a 10. La larva (Fig. 1B) tiene cinco instares larvales; las de primer instar miden 1.5 mm y las quinto entre 20 y 30 mm. La coloración de las larvas es de blanco a café, con manchas oscuras y presentan una cápsula cefálica negra, al igual que la placa protorácica (CABI, 2020).

La pupa (Fig. 1C) es de color café y mide entre 9 y 12 mm de longitud. Los adultos (Fig. 1D) miden de 9-12 mm de largo con una envergadura alar de 19-21 mm, el abdomen de los machos es largo y delgado, mientras que el de las hembras es robusto. Las alas anteriores son de color café oscuro con dos estrías transversales amarillentas paralelas entre sí, donde en la línea más cercana al ápice se aprecia la presencia de un diseño en forma de “U”, característica que facilita la identificación de este insecto, mientras que las alas posteriores son café claro con una línea de color crema, su abdomen está interrumpido por anillos de color crema (Brambila y Stocks, 2010; Stocks y Hodges, 2011).

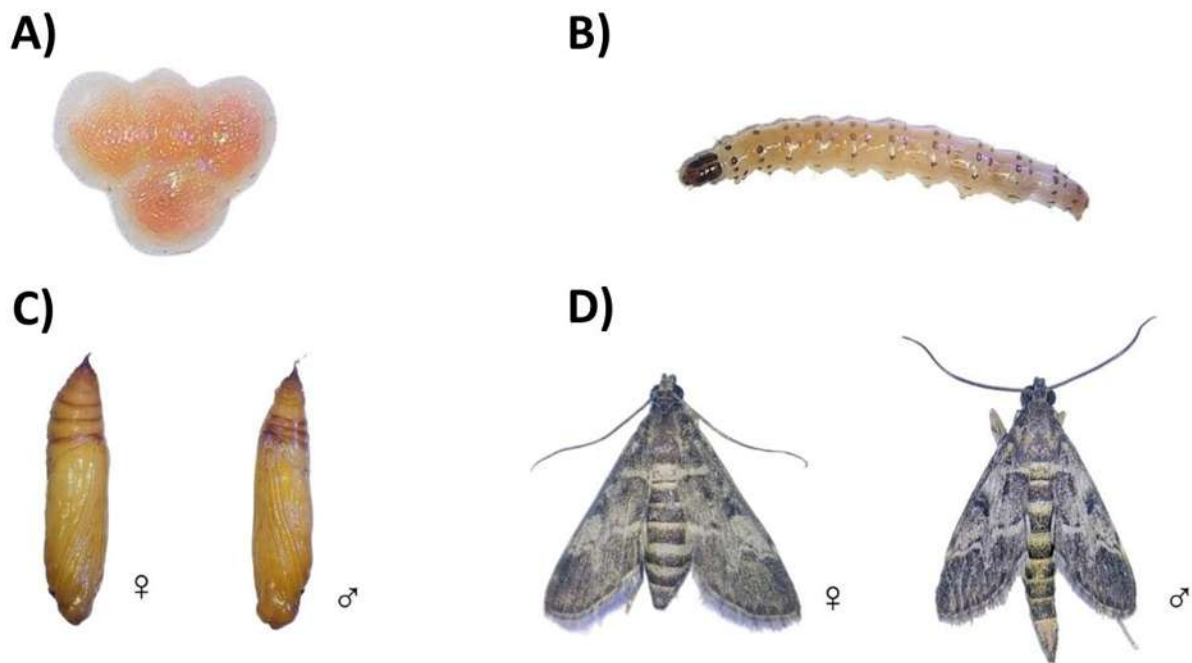


Figura 1. Ciclo biológico de *D. fovealis*. (A) huevo, (B) larva de quinto instar, (C) pupa y (D) adulto (imágenes de Andrea Zermeño Bucio).

Las larvas habitan en el suelo cerca de la planta y pueden presentar hábitos gregarios. Se alimentan externamente de raíces, tallos, hojas y frutos de fresa (Fig. 2). En ocasiones, pueden comportarse como barrenadores, ya que se alimentan internamente de los tallos de las plantas, formando galerías. Los daños causados por las larvas pueden alterar los procesos fisiológicos de la planta e incrementar la susceptibilidad a microorganismos fitopatógenos, lo que puede provocar marchitamiento, retraso en su crecimiento y muerte total de su hospedante (Rodríguez-Vázquez et al., 2023).

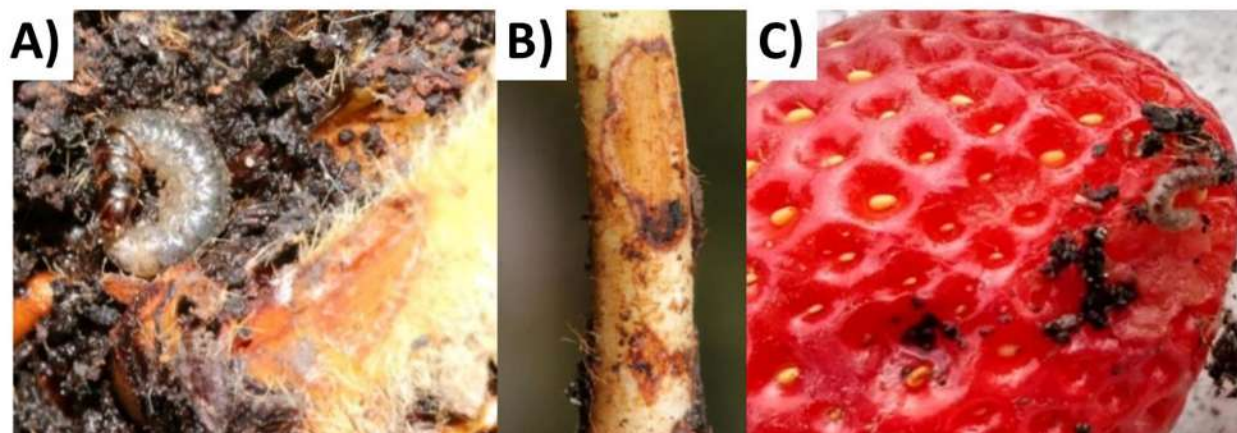


Figura 2. Daños de larvas de *D. fovealis* en plantas de fresa. (A) Larva junto a la corona del tallo, **(B)** heridas en el tallo provocadas por herbivoría de la larva y **(C)** larva alimentándose del fruto de fresa (imágenes de Rodríguez-Vázquez et al., 2023).

Para el monitoreo de *D. fovealis* en campo, se ha descrito y utilizado la feromona sexual sintetizada por Pherobank BV (Wijk bij Duurstede, Netherlands) (Molnár et al., 2018). En el caso particular de México, el reconocimiento de la existencia de la plaga en fresa, se realizó mediante el uso de trampas con agua jabonosa cebadas con esta feromona (Cruz-Esteban y Rojas, 2021). En Brasil se han empleado insecticidas como clorfenapir, clorantraniliprol + lambda-cihalotrin e indoxacarb, los cuales pueden provocar una alta mortalidad en *D. fovealis* (rango de 80 a 100%) (dos Santos et al., 2019). Sin embargo, diversos estudios proponen el uso de agentes biológicos como herramientas importantes para el control de esta plaga. Entre estos agentes, destaca el uso de hongos entomopatógenos, tales como *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Purpureocillium lilacinum* (Thom), *Cordyceps javanica* (Bally), *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.), *C. sphaerospermum* (Penz) y *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Sansón (Amatuzzi et al., 2018; Baja et al., 2020; da Costa-Stuart et al., 2020). Asimismo, el uso de parasitoides de la familia Trichogrammatidae (por ejemplo, *Trichogramma galloi* Zucchi, *T. pretiosum* Riley, *T. exiguum* Pinto & Platner, *T. atopovirilia* Oatman & Platner, *T. cacoeciae* Marchal y *T. brassicae* Bezdenko)

(Araujo et al., 2020) y de los míridos depredadores como *Hyaliodocoris insignis* Stal podrían contribuir al control de las poblaciones de *D. fovealis* (Zawadneak et al., 2016).

2.3 Descripción de la morfometría lineal y geométrica

El estudio de la morfología de los insectos forma parte fundamental para comprender su adaptación a factores geográficos o condiciones ambientales locales, cambios de la forma durante el desarrollo ontogenético, naturaleza y origen del polimorfismo, taxonomía y diversificación evolutiva (Marcus 1990; Zelditch et al., 2012). En este sentido, la morfometría tradicional o lineal mide distancias lineales (como longitud, amplitud y altura); sin embargo, la limitación de este método es que las mediciones de distancia lineal generalmente están altamente correlacionadas con el tamaño; por ello, se dificulta el análisis de la forma (Gelsvartas, 2007). Una alternativa a la morfometría lineal es el análisis de coordenadas cartesianas de puntos anatómicos (hitos o *landmarks*) que definen las formas bajo estudio (Slice 2007; Dujardin, 2011) (Fig. 3.). Un *landmark* es un punto bidimensional o tridimensional descrito por un conjunto de reglas bien definidas. Diversos estudios han utilizado estos puntos específicos homólogos para detectar cambios de forma vinculados a variaciones de tamaño (Bookstein, 1997; Villalobos-Leiva y Benítez, 2020). Este enfoque, denominado morfometría geométrica, utiliza estadísticas multivariadas, las cuales describen patrones de variación de forma dentro y entre grupos. La morfometría geométrica es una herramienta que capta la mayor cantidad de información anatómica en un menor número de variables, lo que ofrece una mayor certidumbre estadística (Rohlf y Marcus, 1993). Con esta metodología, la forma se define matemáticamente como “todas las características geométricas de un objeto, excepto su tamaño, posición y orientación” (Gelsvartas, 2007). Por lo anterior, la morfometría geométrica es considerada un estándar en muchos estudios de investigación científica sobre la variación fenotípica de diferentes insectos (Adams et al., 2004; Toro-Ibacache et al., 2010). En el caso del orden Lepidoptera, a pesar de ser conocido por su gran diversidad en la morfología de las alas, existen pocos estudios de este tipo, los cuales están centrados principalmente en la variación intraespecífica (plasticidad fenotípica) y el dimorfismo sexual (Zhong et al., 2016).

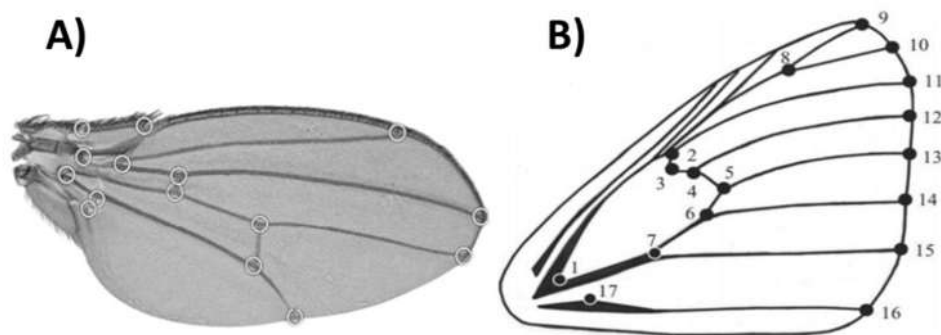


Figura 3. Conjunto de landmarks usados en alas de (A) *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae) (tomado de Klingenberg 2013) y (B) posición de 17 hitos anatómicos en el ala derecha de *Auca coctei* Guérin-Ménéville (Lepidoptera: Nymphalidae) (tomado de Sanzana et al., 2013).

El dimorfismo sexual de tamaño varía entre poblaciones de una misma especie a lo largo de gradientes latitudinales y altitudinales; en muchas especies, el tamaño de los machos varía más con la latitud que el de las hembras, y aunque estas diferencias podrían tener una base genética, gran parte de la variación observada puede ser debido a la plasticidad fenotípica (Blanckenhorn et al., 2006).

Las alas de los insectos son consideradas un objeto de estudio sumamente atractivo debido a que el estrés ambiental puede afectar la expresión del genoma, especialmente en las alas, las cuales exhiben variabilidad considerable intra e interespecífica (Hernández et al., 2010). Además, debido a su importancia en una gran variedad de aspectos de la vida de los insectos (por ejemplo, dispersión, búsqueda de pareja, mecanismos de defensa, búsqueda de alimentos y regulación térmica), las alas representan excelentes modelos para el estudio de procesos genéticos y del desarrollo que, en conjunto con procesos ecológicos y evolutivos, moldean las variaciones morfológicas observadas en las poblaciones naturales (Bai et al., 2015). Por otra parte, las alas constituyen estructuras ideales para el análisis morfogeométrico debido a sus características anatómicas. Los puntos donde las venas se encuentran con el borde del ala y las intersecciones entre venas representan hitos anatómicos que cumplen con los mejores criterios de elegibilidad (Breuker et al., 2010, Obando, 2011). Dadas las características del desarrollo de las alas, estos puntos satisfacen el criterio de homología, ya que pueden localizarse fácilmente en distintos especímenes, lo que reduce el error del observador durante el proceso de digitalización. Al ser el ala una estructura plana, todos los hitos se encuentran en un mismo plano, y generalmente hay un número suficiente de puntos disponibles para garantizar una cobertura adecuada de su forma (Moreno, 2019).

2.4 Gen mitocondrial citocromo oxidasa subunidad I (COI)

La colonización, establecimiento y dispersión de insectos no nativos en nuevos entornos pueden representar un desafío para la conservación y el manejo de plagas agrícolas (Marbuah et al., 2014; Bradshaw et al., 2016). El nivel de establecimiento de estas especies no nativas depende de su potencial para adaptarse a los huéspedes disponibles (Poyet et al., 2015; Fernández et al., 2021), así como de las condiciones abióticas locales, que de otro modo pueden restringir su supervivencia y reproducción. Por lo tanto, evaluar la variación genética subyacente de las especies no nativas una vez que han llegado a un nuevo entorno puede ayudar a identificar los rasgos fenotípicos que definen a un organismo invasor y ayudar a diseñar respuestas para mitigar las especies invasoras (Lawson-Handley et al., 2011).

En insectos, los marcadores moleculares de ADN se han convertido en el criterio más común para la medición de diferencias genéticas intra e interespecíficas. Estos pueden ser de tipo nuclear o mitocondrial y se emplean con fines de identificación (Behura, 2006). El ADN mitocondrial es fácil de aislar debido a su elevada abundancia en las células y, a pesar de presentar altas tasas de mutación en distintas partes de su estructura, puede mantener regiones altamente conservadas seguidas de regiones altamente variables. Las regiones con alta variabilidad son útiles para estudiar la diferenciación genética entre poblaciones de una misma especie y entre especies de un mismo género (Lanteri, 2007; Pečňiar y Buzan, 2013).

El marcador molecular basado en el gen COI es considerado el “código de barras de la vida”. Debido a ello, es utilizado principalmente para la identificación de insectos debido a la tasa de mutación del ADN mitocondrial, lo cual hace posible la distinción de especies estrechamente relacionadas y el grado de conservación de la secuencia entre individuos del mismo género y especie (Harvey et al., 2003). Además, para muchas especies y géneros, la variación genética en este lugar es suficiente para estudiar los procesos que ocurren en intervalos de tiempo relativamente cortos y recientes (Hebert et al., 2003; Kress y Erickson, 2012; Geller et al., 2013). El gen COI también es empleado para análisis de haplotipos y estudios de diferenciación genética intrapoblacional que buscan identificar cómo el rango geográfico realizado de una especie se ve afectado por sus cambios biológicos o de comportamiento (Doorenweerd et al., 2020). En consecuencia, esta herramienta se ha utilizado con frecuencia para el estudio de plagas agrícolas (Wang et al., 2021). Por lo anterior, el gen COI es considerado como un buen marcador en la caracterización molecular de especies y empleado en estudios interespecíficos y de poblaciones (Duque et al., 2014).

2.5 Estudios con morfometría geométrica y gen COI en especies de la familia Crambidae

En el estudio de insectos, existen diversas investigaciones que muestran el uso de la morfometría geométrica y del gen COI como herramientas de análisis. Por ejemplo, Zahiri et al. (2006) realizaron un análisis multivariado de la variación morfológica en seis poblaciones del barrenador del tallo del arroz, *Chilo supresalis* W. (Lepidoptera: Crambidae), utilizando 15 y 10 puntos de referencia seleccionados en las alas anteriores y posteriores, respectivamente. Los resultados revelaron una diferencia significativa entre las poblaciones de las provincias de Guilan y Mazandran en el norte de Irán. En 2022, investigadores en Argentina estudiaron la existencia de diferencias genéticas de poblaciones del barrenador de la caña, *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae), recolectadas en diferentes hospedantes y regiones de ese país y las compararon con poblaciones provenientes de Brasil, mediante del gen COI y del análisis de secuenciación de nueva generación (NGS). El análisis no jerárquico entre todas las poblaciones de este insecto indicó un valor significativo de variabilidad genética con un mayor porcentaje dentro de las poblaciones (76.68%) (Fogliata et al., 2022).

III. JUSTIFICACIÓN

Actualmente, no existe información sobre la variación morfológica y genética entre poblaciones distintas de *D. fovealis*, una de las plagas de mayor importancia del cultivo de la fresa. Por ello, se requieren estudios que permitan identificar biotipos de esta especie en diferentes hospederos y zonas geográficas. Esta información ayudaría a determinar si los programas de control actuales y futuros implementados para esta plaga podrían ser los mismos en cualquier parte del país, lo cual sería fundamental para reducir los daños en los cultivos de fresa. Asimismo, a partir de este conocimiento se pueden desarrollar estrategias moleculares para el seguimiento de la variación genética, dinámica de poblaciones y dispersión de este insecto.

IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿La variabilidad morfológica y genética está relacionada con la distribución geográfica de *D. fovealis*?

V. HIPÓTESIS

La variabilidad morfológica y genética de *D. fovealis* difiere entre poblaciones y está asociada con su distribución geográfica.

VI. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Determinar la variación morfológica y genética de diferentes poblaciones de la palomilla europea del pimiento, *D. fovealis*.

6.2 Objetivos específicos

- Determinar la variación morfológica de dos poblaciones mexicanas y una extranjera de *D. fovealis* mediante morfometría lineal y geométrica.
- Analizar la variación genética de dos poblaciones mexicanas y de una extranjera de *D. fovealis* mediante el gen COI.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Localidades de muestreo y recolección de individuos de *D. fovealis*

En agosto de 2024 se recolectaron larvas y adultos de *D. fovealis* sobre cultivos de arándano en el huerto “San Carlos”, ubicado en la localidad de Téjaro, en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, México (19°51'01"N 101°05'51"O), y sobre cultivos de fresa en el municipio de Irapuato, Guanajuato, México (20°35'28"N 101°24'06"O). La recolección de las larvas y adultos se realizó con pinzas y redes entomológicas, respectivamente. También se recolectaron adultos machos de trampas cebadas con la feromona sexual comercial Phero-Df (Squid Biological & Pheromones, Texcoco, Estado de México, México) en ambas plantaciones. Los individuos se colocaron en frascos de vidrio que contenían alcohol etílico al 70% y se etiquetaron con sus respectivos datos de recolección. Los insectos se transportaron al Laboratorio de Entomología Agrícola (LEA) del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF), Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). En el laboratorio, las larvas se colocaron en recipientes de plástico provistos de una dieta semisintética elaborada con harina de soya como componente principal. De cada población colectada, se seleccionaron al azar 10 larvas de cuarto o quinto instar, y se conservaron en alcohol etílico al 80% en un congelador a -18 °C para el análisis posterior de variabilidad genética. El resto de las larvas se alimentaron con dieta semisintética hasta la obtención de los adultos para realizar el análisis morfométrico.

La población extranjera de *D. fovealis* provino de una donación científica realizada por la Dra. María Aparecida Cassilha Zawadneak, de la Universidad Federal de Paraná, Brasil. El material consistió en un lote de larvas y adultos de este insecto, procedente de una cría recientemente establecida a partir de especímenes recolectados en campo en el municipio de São José dos Pinhais, Paraná, Brasil, asociados a cultivos de fresa. Los especímenes se conservaron en alcohol etílico al 80%.

7.2 Variación morfológica de poblaciones de *D. fovealis* a través de morfometría lineal y geométrica

Los análisis de morfometría lineal y geométrica se basaron en la variación morfológica de las alas de 10 hembras y 10 machos de cada población de *D. fovealis*. Para ello, en una caja de Petri y utilizando pinzas finas entomológicas, cada individuo fue diseccionado bajo un microscopio estereoscópico (Carl Zeiss, modelo STEMI12000-C) para separar el ala anterior y posterior del lado derecho del individuo. Dependiendo del estado de las alas, las escamas se

removieron con hidróxido de potasio (KOH) al 5% y un pincel del número 0 de cerdas suaves, o con hipoclorito de sodio (NaClO) al 5.25% durante 2 a 3 min. Posteriormente, las alas se enjuagaron con alcohol etílico al 70% durante 3 min. Las alas se montaron en portaobjetos, sobre una capa de gel como base, y se aplicaron gotas de una solución de agua con jabón en la superficie para evitar la deshidratación y la tensión superficial. Las imágenes digitales se obtuvieron con una cámara fotográfica DSLR (Canon EOS Rebel T7) y se añadió la barra de escala a cada imagen en el programa ImageJ. Para el análisis de morfometría lineal, se midieron las alas en mm con el programa tpsDig232. Se realizaron las siguientes mediciones: longitud de las alas (desde la base de su articulación hasta la parte más alejada del ala) y amplitud (la línea más larga trazada perpendicularmente al eje de longitud) (Fig. 4). Los criterios de medición se basaron en los estudios de Azrizal-Wahid et al. (2016).

Para la morfometría geométrica, en cada imagen se marcaron 22 y 16 coordenadas morfométricas (landmarks) para las alas anteriores y posteriores, respectivamente, utilizando el programa tpsDig232. Estos puntos corresponden a las intersecciones de las venas, los puntos de unión entre las venas y los márgenes de las alas (landmarks tipo I) (Fig. 4). Estos landmarks permitieron capturar la configuración geométrica de la venación de cada ala y analizar las variaciones en la forma y el tamaño (en mm) de las alas de los especímenes. Los puntos anatómicos seleccionados se convirtieron en coordenadas bidimensionales mediante el programa tpsDig. El análisis morfométrico se llevó a cabo en el programa de libre acceso MorphoJ (Klingenberg, 2011) disponible para Windows bajo la licencia Apache License, versión 2.0 (https://morphometrics.uk/MorphoJ_page.html).

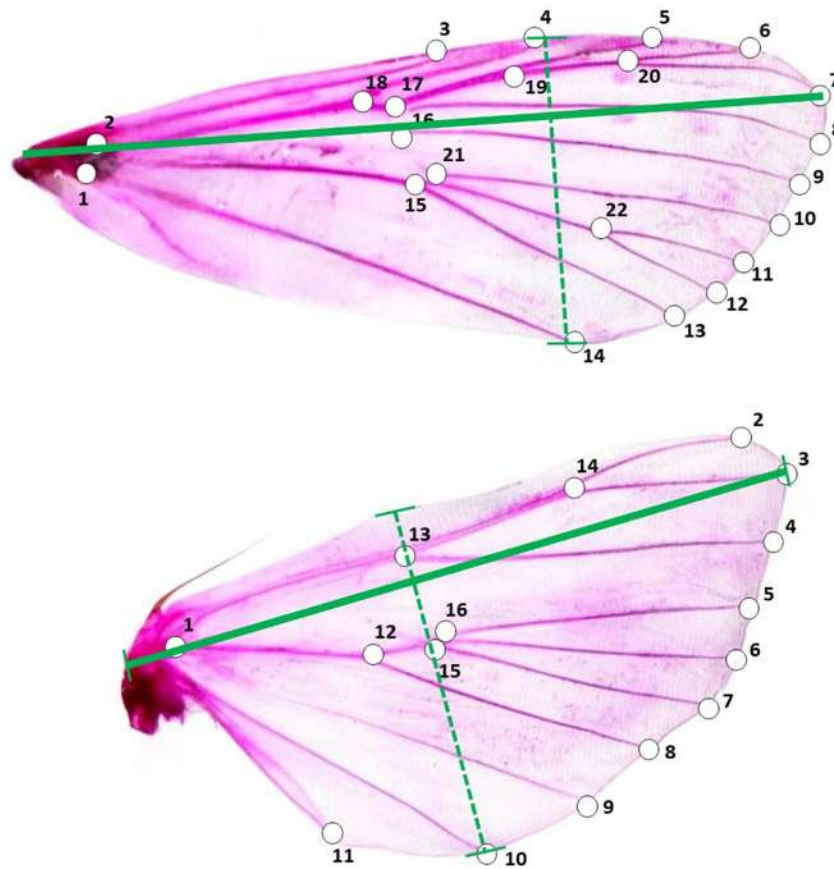


Figura 4. Ala anterior (A) y posterior (B) de *D. fovealis* que muestran respectivamente los 22 y 16 landmarks utilizados en el presente análisis, así como las mediciones de longitud (línea verde solida) y amplitud (línea verde punteada) realizadas.

7.2.1 Análisis estadísticos de datos morfométricos. Las matrices de datos generadas para cada ala (anterior y posterior) se organizaron por sexo (hembras y machos), población (Michoacán, Guanajuato y Brasil) y medición (amplitud y longitud). Los datos de la morfometría lineal se sometieron a una prueba de normalidad de Ryan-Joiner ($P > 0.05$). Posteriormente, se realizaron de manera independiente dos análisis de varianza multivariados (MANOVA) para el ala anterior y posterior de *D. fovealis*, utilizando como variables dependientes la longitud y la amplitud de las alas de los individuos y como factores el sexo y la población, para analizar simultáneamente el efecto de los factores sobre las medias a una $P < 0.05$. Posteriormente, se realizó un ANOVA ($P < 0.05$) multifactorial considerando los efectos del sexo, la población y la interacción entre ambos factores, para la longitud y amplitud de las alas anteriores y posteriores de forma independiente. En los casos en que se detectaron diferencias significativas, se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($P < 0.05$). Todos los análisis estadísticos se

realizaron con el programa Minitab versión 18. Finalmente, para analizar los patrones de similitud morfométrica entre individuos y evaluar el agrupamiento en función del sexo, se realizó un análisis de clúster utilizando una matriz de distancias euclidianas calculada a partir de las medidas lineales de amplitud y longitud de las alas anteriores y posteriores. Para evaluar la fidelidad del dendrograma, se calculó el coeficiente de correlación cofenética. Estos análisis se realizaron con el programa PAST, versión 4.03, y Rstudio, versión 4.4.1.

Para el análisis de morfometría geométrica, se eliminaron las diferencias producidas por las superposiciones parciales de los especímenes debido a la escala, orientación y ubicación de las configuraciones de los landmarks. Este procedimiento se realizó con el criterio de distancia mínima de Procrustes en el programa MorphoJ (Klingenberg, 2011). Posteriormente, las coordenadas obtenidas se transformaron en puntuaciones de deformación para generar una matriz de datos que se utilizó para llevar a cabo el Análisis de Componentes Principales (ACP), el cual realiza una transformación lineal aplicada a un conjunto de datos multivariantes que generalmente se encuentran correlacionados entre sí, en la que se expresa la información contenida en un conjunto de datos con un número menor de variables (Jolliffe, 2002). Para maximizar las diferencias individuales entre poblaciones, se realizó un análisis discriminante mediante un análisis de variación canónica (AVC) entre poblaciones y sexos de *D. fovealis*. También se realizaron ANOVAs de Procrustes con la finalidad de encontrar diferencias significativas entre poblaciones de *D. fovealis*. Estos análisis se realizaron con el programa MorphoJ (Klingenberg, 2011).

7.3 Variación genética intra e interpoblacional de *D. fovealis* mediante el uso del gen COI

7.3.1 Extracción del material genético (ADN) de *D. fovealis*. La extracción del ADN se realizó a partir de larvas colectadas en campo mediante el método CTAB al 2 %, desarrollado por Doyle y Doyle (1991) con modificaciones menores. Veinticuatro horas antes de la extracción, se colocaron larvas de cuarto o quinto instar de *D. fovealis* en un ultracongelador (Haier Biomedical) a -80° C. Posteriormente, con ayuda de un micropistilo, cada individuo se maceró en un tubo de plástico de 1.5 mL (Eppendorf®; Hamburgo, Alemania) de forma firme y rápida hasta obtener un polvo fino e inmediatamente después se colocaron 800 µL del buffer de extracción CTAB 2 % (Tris-HCL 10 mM pH 8.0; Na₂ EDTA2 H₂O 20 mM pH 8.0; CTAB; NaCl 1.4 M). La muestra se mezcló durante 10 s en un vórtex. Las muestras se incubaron en un termobloque (Dry Bath Incubator, Fisher Scientific) a 65 °C durante 1 h y se mezclaron durante 10 s con un vórtex cada

20 min. Después, se adicionaron 700 µL de cloroformo-álcohol Isoamílico (24:1) y se agitó por inversión durante 5 min. Se centrifugó a 12,000 rpm durante 5 min. El sobrenadante se transfirió a un nuevo tubo, se adicionaron 700 µL de isopropanol, se mezcló por inversión durante 5 min y los tubos se colocaron en un congelador a 20 °C durante 10 min. La muestra se centrifugó a 12,000 rpm durante 10 min y el sobrenadante se decantó evitando perder la pastilla. Posteriormente, la pastilla se lavó con 500 µL de etanol al 70% y se volvió a centrifugar a 12,000 rpm durante 5 min. El sobrenadante se decantó y la pastilla se secó a temperatura ambiente durante al menos 2 h. Finalmente, la pastilla se resuspendió en 50 µL de agua HPLC estéril, se incubó a 60 °C durante 10 min y se almacenó a -20 °C hasta su uso.

7.3.1.1 Cuantificación de ADN de *D. fovealis*. Las extracciones de ADN se examinaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 1 % con el amortiguador TAE 1X; por cada 50 mL de agarosa se agregó 1 µL de GelRed® Nucleic Acid Stain 10 000X (Biotium, Estados Unidos de América). La electroforesis se realizó a 80 V durante 30 min. Después de la electroforesis, los geles se visualizaron y capturaron en un sistema de fotodocumentación BioDoc-It®2 Imaging System (UVP, An Analytik Jena Company, Cambridge). La concentración y calidad del ADN de cada muestra se determinaron por espectrofotometría con el equipo Varioskan® (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, Estados Unidos de América). Después de determinar la concentración, se realizaron diluciones con agua destilada desionizada estéril para obtener concentraciones finales de 80 ng/µL en cada una de las muestras.

7.3.2 Amplificación del gen *COI*. Para la amplificación de la región del gen *COI* se utilizó el siguiente par de primers específicos para invertebrados para obtener un fragmento de 658 pb (Folmer et al., 1994):

- HCO 2198 reverse 5'TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA3'
- LCO 1492 forward 5'GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG3'

Para estandarizar la temperatura de amplificación, se llevó a cabo una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en un gradiente de 40 a 60 °C. La temperatura óptima de alineamiento se determinó al observar una única banda cercana al tamaño reportado. La PCR se realizó en un termociclador (Mastercycler nexus gradient, Eppendorf) con las siguientes condiciones de amplificación: la fase de activación de la polimerasa se llevó a 95°C por 15 minutos, la fase de desnaturalización a 94 °C por 45 s, el alineamiento se realizó en gradiente de 40° a 60°C y se seleccionaron las siguientes temperaturas que representaban este gradiente (40, 43.6, 46.2,

48.8, 53.8, 56.3, 59.5 y 60°C), la fase de polimerización fue a 72°C por 45 s y esto se llevó a cabo por 30 ciclos. Posteriormente, se realizó una fase de extensión final a 72 °C durante 5 min. Estas amplificaciones se visualizaron en un gel de agarosa al 1,5 % con el amortiguador TAE 1X a 95 V durante 20 min y se capturaron en un fotodocumentador (ChemiDoc® MP Imaging System, Bio-Rad, Hercules, CA). Para visualizar el ADN se utilizó el tinte fluorescente SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific®, CA, USA). Se amplificaron las muestras de 10 individuos de cada población: Michoacán, Guanajuato y Brasil. Las amplificaciones se realizaron en reacciones de 10 µL: 5 µL de Multiplex (2 X) PCR kit 100 (QUIAGEN®, Hilden, Germany), 0.8 µL del primer HCO (10 µM), 0.8 µL del primer LCO (10 µM), 2.4 µL de agua destilada desionizada estéril y 1 µL del ADN amplificado (80 ng/µL). Las condiciones de amplificación se muestran en el Cuadro 1. Los resultados de la PCR se visualizaron en geles de agarosa al 1.5 % como se mencionó anteriormente y el peso del fragmento obtenido se estimó por comparación con una escalera de 1000 pb (Thermo Scientific®, CA, USA). Los productos amplificados se purificaron en columnas de Sephadex® G-50 (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany). Finalmente, las muestras se almacenaron a -20 °C hasta su secuenciación.

Cuadro 1. Condiciones de amplificación para los primers HCO y LCO utilizados.

Ciclos	Temperatura (°C)	Tiempo
1. Desnaturalización inicial	95	15 min
2. Desnaturalización	94	45 s
3. Alineamiento	43.6	45 s
4. Extensión	72	45 s
33 ciclos desde el paso 2		
5. Extensión final	72	5 min

7.3.3 Secuenciación de productos de PCR y análisis filogenético. A partir de los productos de PCR previamente purificados, se realizó una PCR de secuenciación y, posteriormente, se purificaron los productos obtenidos, como se mencionó anteriormente. La secuenciación se llevó a cabo en el equipo 3500 Series Genetic Analyzer (Applied Biosystems®, CA, USA) del Laboratorio de Ecología Molecular de la Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES), UNAM, campus Morelia, con asesoría del Dr. Jesús Llanderal Mendoza. Los productos amplificados se secuenciaron en dirección forward utilizando el primer LCO mediante el método de Sanger y Coulson (1975). En total se obtuvieron 10 secuencias para cada una de las poblaciones de *D. fovealis* analizadas. Las secuencias obtenidas se revisaron mediante los electroferogramas, posterior a su edición manual, se ensamblaron con el algoritmo MUSCLE (Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation) en el programa MEGA (Molecular

Evolutionary Genetics Analysis versión 12, Kumar et al., 2024). Con ayuda de la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) se llevó a cabo la comparación de las secuencias depositadas en el GenBank para confirmar la identidad taxonómica de las secuencias obtenidas.

Posteriormente, se realizó el análisis filogenético en el programa MEGA versión 12 (Kumar et al., 2024). La selección del modelo de sustitución nucleotídica se llevó a cabo mediante la herramienta Find Best DNA/Protein Models (ML), el modelo más adecuado se seleccionó con base en los valores más bajos de los criterios de información de Akaike (AIC) y bayesiano (BIC). Se utilizó el método de máxima verosimilitud (ML, por sus siglas en inglés), empleando como modelo de sustitución el modelo General Time Reversible (GTR) (Nei y Kumar, 2000), y el soporte estadístico fue el método de aleatorización bootstrap con 1000 repeticiones para proporcionar robustez a los nodos (Tamura et al., 2011). Se utilizaron dos secuencias externas de *D. fovealis* correspondientes colectadas en Portugal (número de acceso: OQ562196.1) y Marruecos (MK459696.1) y como grupos externos el barrenador del arroz, *Chilo suppressalis* W. (Lepidoptera: Crambidae), (OQ562741.1) y el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (MT324067.1). El criterio de selección de las secuencias se basó en el gen COI.

Por último, con las secuencias previamente alineadas, se llevó a cabo un análisis de polimorfismo del ADN y de divergencia entre poblaciones utilizando el programa DNA Sequence Polymorphism, versión 6.12.03 (Rozas et al., 2017), y se realizó el análisis molecular de varianza (AMOVA) para estimar la distribución de la diversidad genética dentro y entre poblaciones en el programa Arlequin 3.5 (Excoffier y Lischer, 2010). La reconstrucción de las relaciones evolutivas entre haplotipos se realizó mediante el programa Population Analysis with Reticulate Trees (PopART, versión 4.8.4, Clement et al., 2002). Esta herramienta bioinformática, especializada en el análisis de datos genéticos poblacionales, permite una representación gráfica (red) de las relaciones filogenéticas, tanto a nivel interpoblacional como intrapoblacional, lo cual permite identificar patrones de diversificación y estructura genética entre los haplotipos identificados mediante la construcción de redes de haplotipos (Rozas, 2009).

VIII. RESULTADOS

8.1 Variación morfológica de poblaciones de *D. fovealis* a través de morfometría lineal

Los datos correspondientes a las variables de longitud y amplitud del ala anterior y posterior mostraron una distribución normal, de acuerdo con la prueba de normalidad de Ryan-Joiner, ($P > 0.1$). Los resultados de los MANOVAs indicaron diferencias multivariadas significativas entre los grupos para el factor sexo y para la población de las alas anteriores (De Wilks = 0.78, $P = 0.01$; De Wilks = 0.64, $P < 0.01$ para los factores sexo y población, respectivamente) y posteriores (De Wilks = 0.65, $P < 0.01$; De Wilks = 0.42, $P < 0.01$ para los factores sexo y población, respectivamente). Los resultados de los ANOVAs multifactoriales indicaron que, en todos los casos, tanto el sexo como la población ejercieron efectos significativos sobre la longitud y la amplitud de las alas anteriores y posteriores de *D. fovealis*, así como sobre la interacción entre sexo y población (Cuadro 2).

Cuadro 2. ANOVA multifactorial para la longitud y amplitud del ala anterior y posterior de individuos de tres poblaciones de *D. fovealis*.

Medición	Población	Sexo	Población*Sexo
Longitud Anteriores	F = 11.75, g.l. = 2, $P < 0.001$	F = 17.20, g.l. = 1 $P < 0.001$	F = 7.49, g.l. = 2 $P = 0.001$
Amplitud Anteriores	F = 18.08, g.l. = 2 $P < 0.001$	F = 16.88, g.l. = 1 $P < 0.001$	F = 6.8, g.l. = 2 $P = 0.002$
Longitud Posteriores	F = 11.11, g.l. = 2 $P < 0.001$	F = 34.49, g.l. = 1 $P < 0.001$	F = 6.16, g.l. = 2 $P < 0.001$
Amplitud Posteriores	F = 17.20, g.l. = 2 $P < 0.001$	F = 17.20, g.l. = 1 $P < 0.001$	F = 17.2, g.l. = 2 $P < 0.001$

g.l. = grados de libertad

En el caso de la longitud del ala anterior, los promedios registrados para la población de Brasil (8.62 ± 0.59 mm) fueron significativamente mayores que los de las poblaciones de Guanajuato (8.25 ± 0.47 mm) y Michoacán (7.89 ± 0.67 mm), mientras que la amplitud del ala anterior de Brasil (3.50 ± 0.31 mm) y Guanajuato (3.31 ± 0.23 mm) no presentaron diferencias significativas y fueron significativamente mayores que el promedio de las alas anteriores de la población de Michoacán (3.03 ± 0.33 mm, Fig. 5 A y B).

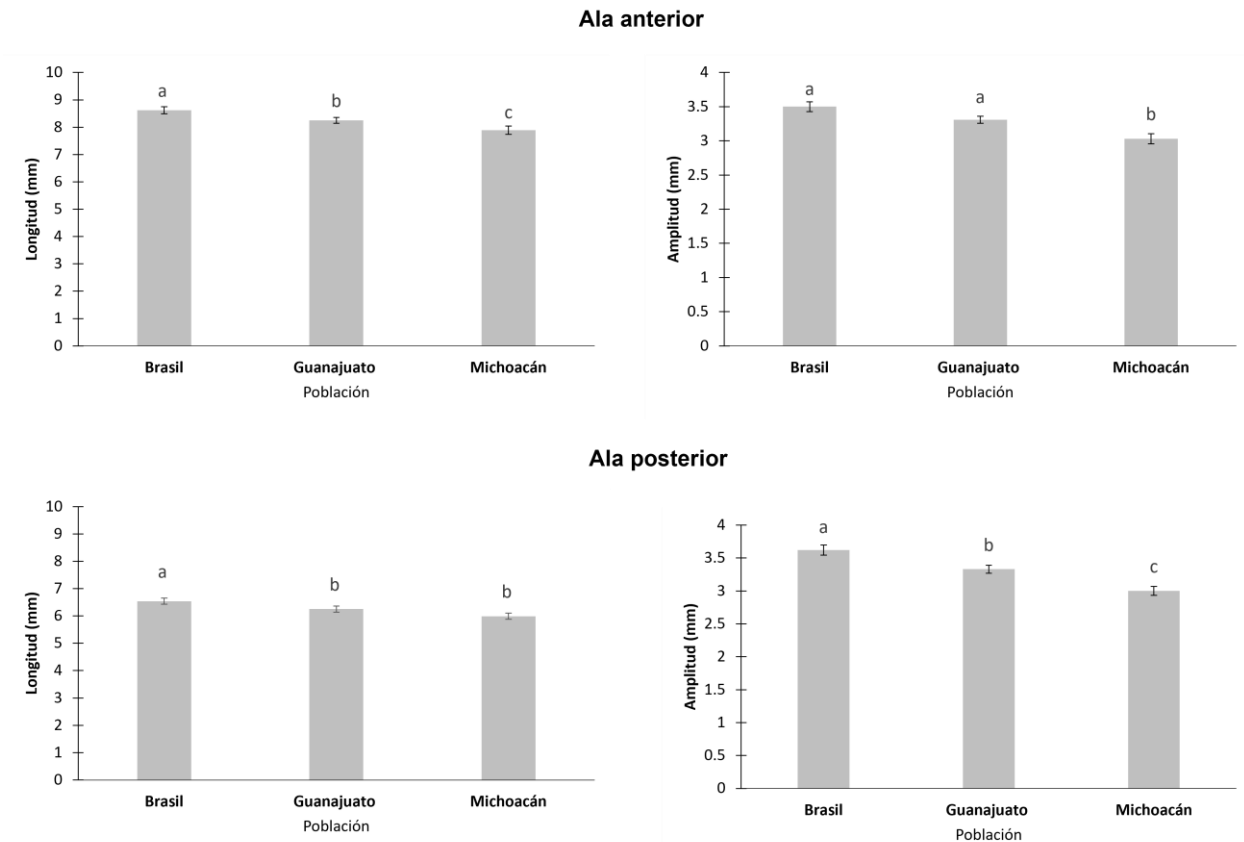


Figura 5. Promedio (mm $\pm$ EE, error estándar) de mediciones de dos caracteres morfométricos (amplitud y longitud) del ala anterior y posterior en individuos (machos + hembras) de tres poblaciones de *D. fovealis*. A) Longitud de alas anteriores, B) Amplitud de alas anteriores, C) Longitud de alas posteriores y D) Amplitud de alas posteriores. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($P < 0.05$) para el factor población.

La longitud del ala posterior de las poblaciones de Guanajuato (6.25 ± 0.47 mm) y Michoacán (5.99 ± 0.5 mm) no presentaron diferencias significativas, pero fueron significativamente diferentes a la población de Brasil (6.54 ± 0.5 mm) (Fig. 5 C). En cambio, para la amplitud del ala posterior, el promedio de la población de Brasil (3.62 ± 0.34 mm) fue significativamente mayor que el de las poblaciones de Guanajuato (3.33 ± 0.27 mm) y Michoacán (3.03 ± 0.07 mm, Fig. 5 D).

La prueba de comparaciones múltiples de Tukey para la interacción entre los factores población y sexo mostró diferencias significativas en la longitud y amplitud del ala anterior y posterior ($P < 0.05$), con una tendencia a que, en la mayoría de los casos, las hembras de las poblaciones de Brasil y Guanajuato presentaran mayores dimensiones alares que las hembras de la población de Michoacán (Fig. 6 A, B y C). Sin embargo, únicamente los promedios de la

amplitud del ala posterior de las hembras fueron significativamente diferentes entre las tres poblaciones (3.91 ± 0.18 , 3.54 ± 0.16 y 2.97 ± 0.37 para las poblaciones de Brasil, Guanajuato y Michoacán, respectivamente; Fig. 6D). Por otra parte, para ambos caracteres morfométricos en las alas anteriores y posteriores, los machos no mostraron diferencias significativas entre poblaciones (Fig. 6).

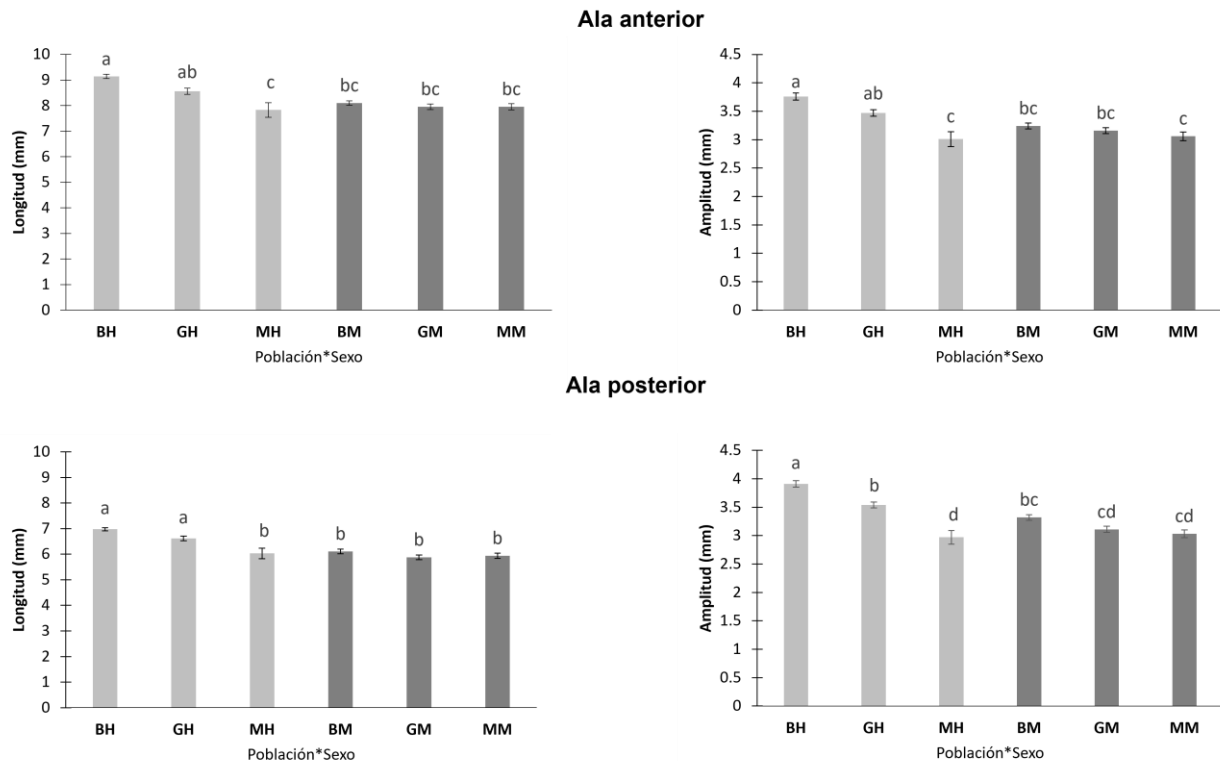


Figura 6. Promedio (mm $\pm$ EE, error estándar) de dos caracteres morfométricos (amplitud y longitud) del ala anterior y posterior en individuos de ambos sexos de tres poblaciones de *D. fovealis*. A) Longitud de alas anteriores, B) Amplitud de alas anteriores, C) Longitud de alas posteriores y D) Amplitud de alas posteriores. BH= Brasil Hembras; GH= Guanajuato Hembras; MH= Michoacán Hembras; BM= Brasil Machos; GM= Guanajuato Machos; MM= Michoacán Machos. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($P < 0.05$) en la interacción Población*Sexo.

El análisis clúster de la matriz de datos de la amplitud y longitud del ala anterior y posterior medidos para cada población reveló que existe agrupación parcial por sexo en las poblaciones estudiadas, la cual es más evidente en las alas posteriores de la población de Brasil (Figura 7).

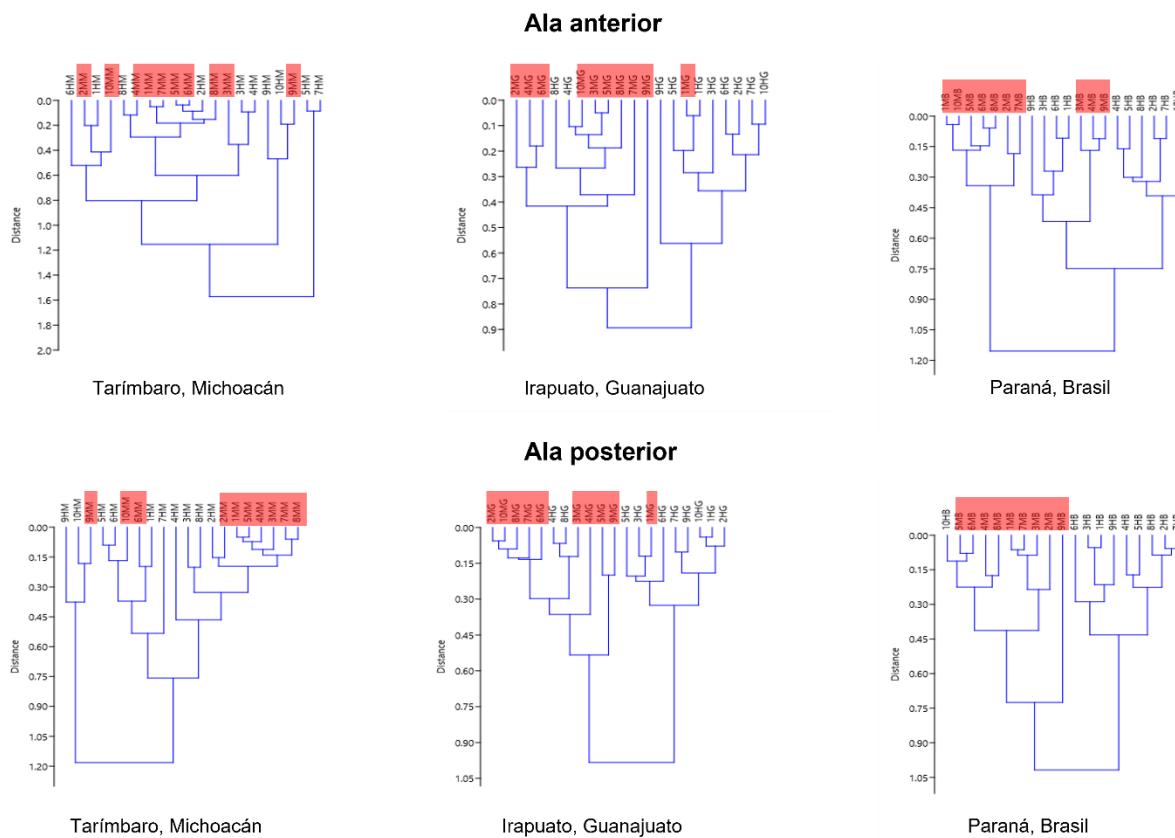


Figura 7. Análisis de clúster de machos y hembras de cada población de *D. fovealis* con dos caracteres morfométricos (longitud y amplitud) para el ala anterior y posterior. M=Macho (en color rojo), H=Hembra. Correlación cofenética de Michoacán (M), Guanajuato (G) y Brasil (B): anteriores: 0.777, 0.749, 0.752; y posteriores: 0.789, 0.854, 0.790, respectivamente. Ejemplo, 8MM=individuo 8, macho, Michoacán. Distance = Distancia.

8.1.1 Variación morfológica de poblaciones de *D. fovealis* a través de morfometría geométrica

El análisis de variación canónica (AVC) de la forma de las alas anteriores de las tres poblaciones de *D. fovealis*, sin diferenciar machos y hembras, no mostró la separación de las tres poblaciones de acuerdo a los estadísticos de Goodall's F: 1.79, $P = 0.08$ y Pillai's trace: 1.57, $P = 0.06$ (Fig. 8A). El componente principal 1 (CP1) explica el 48.46% de la varianza (48.46% acumulada), mientras que el componente principal 2 (CP2) explica el 15.75% de la varianza (64.22% acumulada). En contraste, el AVC de la forma de las alas posteriores de las tres poblaciones de *D. fovealis*, sin diferenciar machos y/o hembras, mostró la separación entre las tres poblaciones (Goodall's F: 6.14, $P < 0.0001$ y Pillai's trace: 1.58, $P < 0.0001$, Fig. 8B). El CP1, el cual explica el 25.07% de la varianza, por su parte, el CP2, el cual explica el 17.14% de la varianza. Asimismo,

el ANOVA de Procrustes confirmó la diferenciación entre poblaciones en la forma de las alas posteriores ($F = 6.14$, g.l. = 56, $P < 0.0001$).

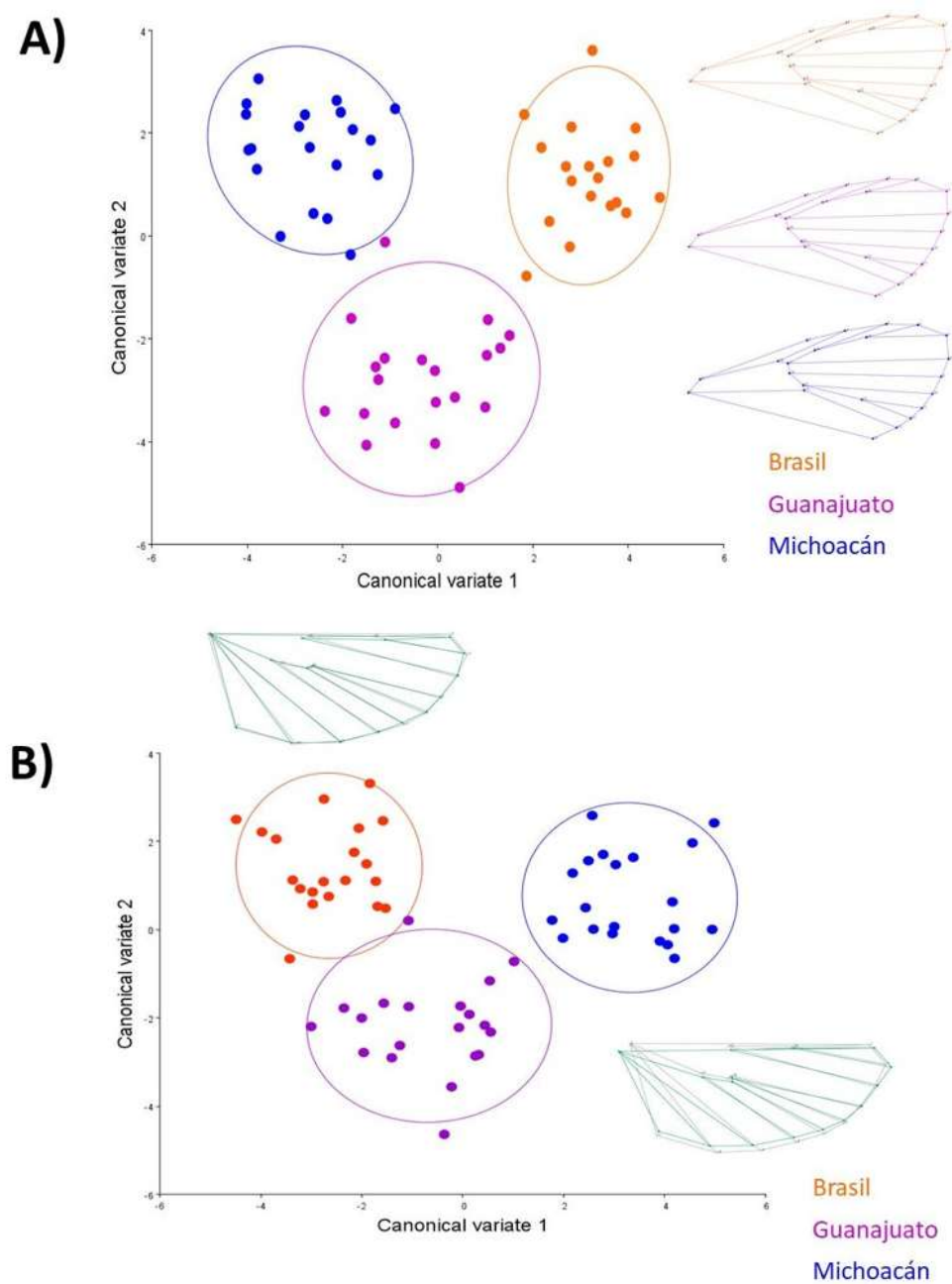


Figura 8. Análisis de la variación canónica del ala anterior (A) y posterior (B) en machos y hembras de tres poblaciones de *D. fovealis*. Las poblaciones están diferenciadas por colores: Brasil (naranja), Guanajuato (morado) y Michoacán (azul). A) Goodall's F : 1.79 $P = 0.08$. Pillai's trace: 1.57, $P = 0.06$ y B) Goodall's F : 6.14, $P < 0.0001$. Pillai's trace: 1.58, $P < 0.0001$.

8.2 Amplificación del gen COI a partir de ADN de *D. fovealis*

La temperatura óptima de alineamiento se eligió a partir de la visualización del gel de agarosa en donde se analizaron los productos de PCR en gradiente (40°C - 60°C), en el cual se observó que, de las ocho temperaturas utilizadas del gradiente, la de 43.6 °C fue con la que se observó una banda de ADN nítida (Fig. 9). El gen COI se amplificó en un total de 30 individuos de *D. fovealis* (10 individuos de cada población utilizada: Michoacán, Guanajuato y Brasil; Fig. 10).

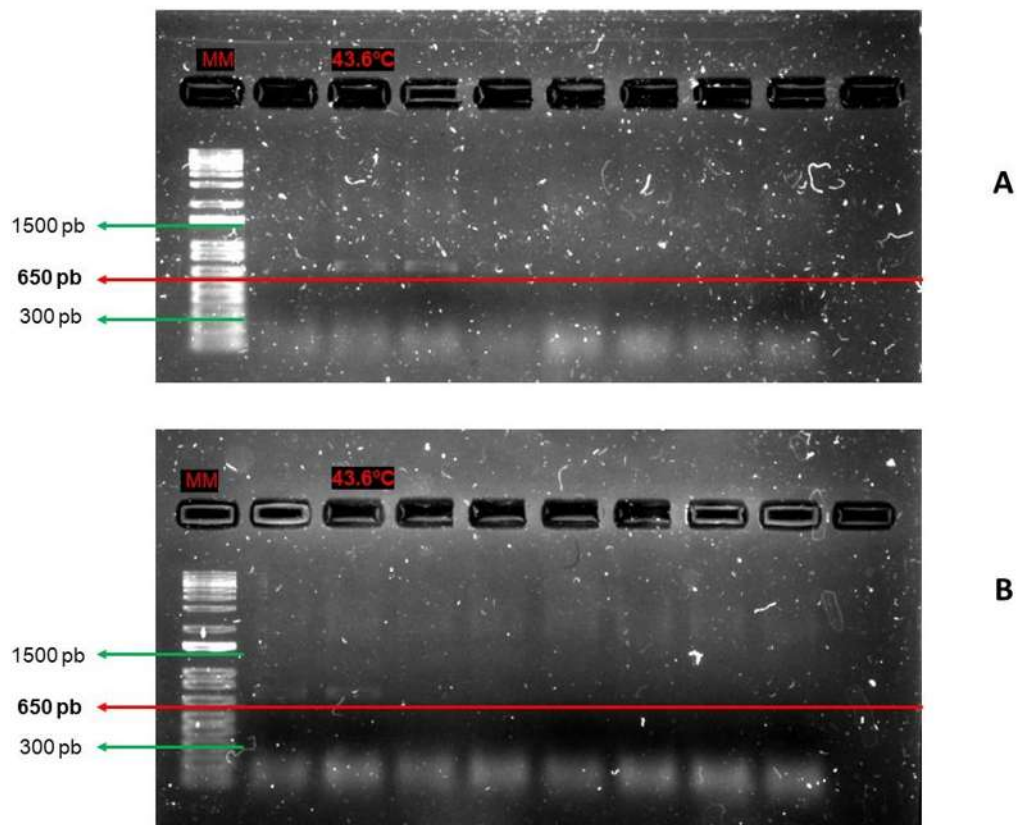


Figura 9. Electroforesis en gel de agarosa al 1,5 % de los productos de PCR de gradiente del gen COI en dos individuos de *D. fovealis*. Carril 1) MM: Marcador molecular (1 kb); A) Individuo 2 de Michoacán; B) Individuo 3 de Michoacán. La línea de color rojo indica el ADN de interés con un tamaño aproximado de 650-658 pares de bases (pb).

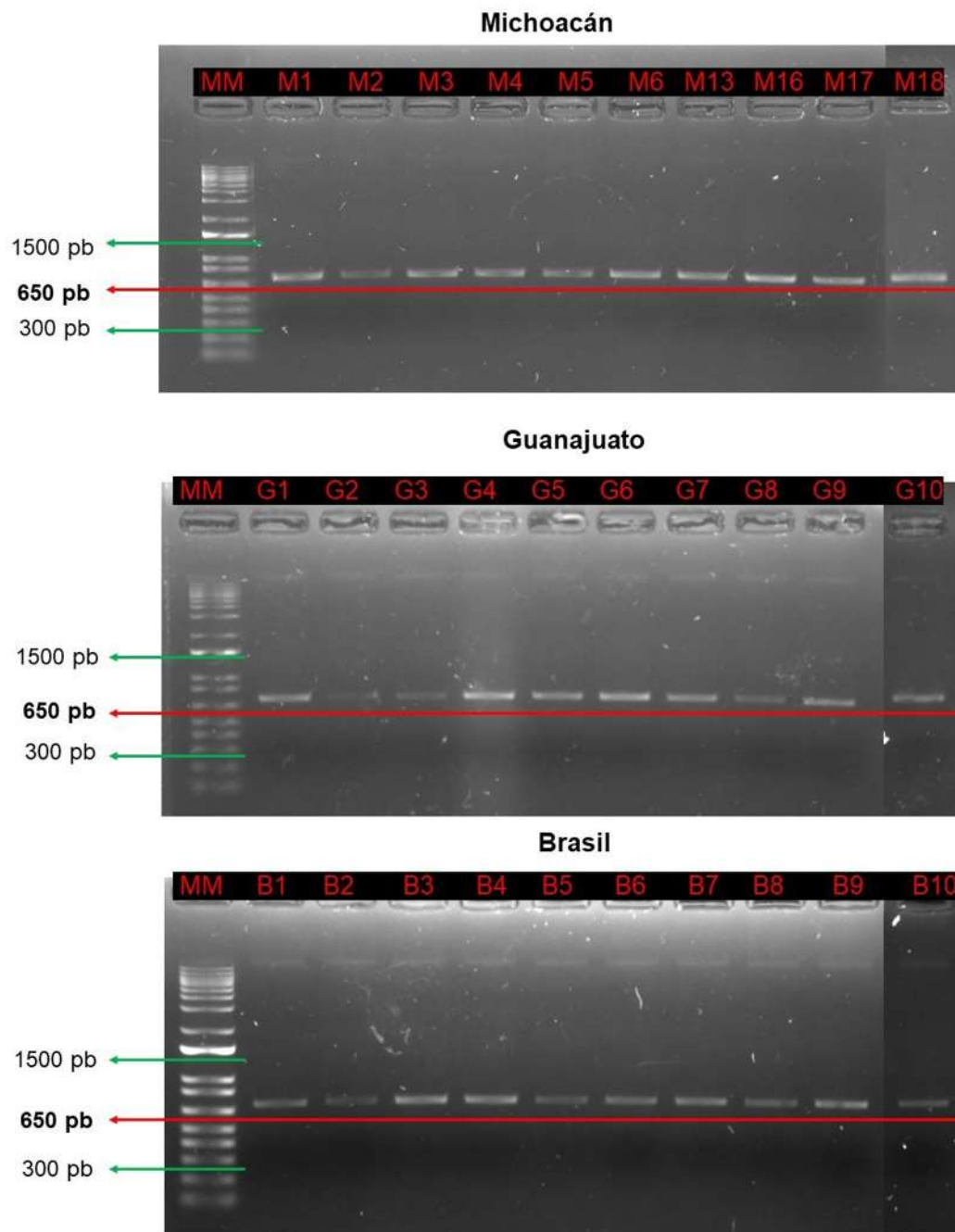


Figura 10. Electroforesis en gel de agarosa al 1,5% de los productos de PCR del gen COI en tres poblaciones de *D. fovealis*. Carril 1) MM, marcador molecular (1 kb); la línea en rojo indica el ADN de interés, con un tamaño aproximado de 650-658 pares de bases (pb). M = Michoacán, G = Guanajuato y B = Brasil.

8.2.1 Variación genética intra e interpoblacional de *D. fovealis*

Se resolvió un árbol enraizado en el que se separaron los grupos externos (el crámbido *C. suppressalis* y el nóctuido *S. frugiperda*) de todos los demás individuos pertenecientes a *D. fovealis*, observándose 607 posiciones. En la estructura del árbol se observaron dos clados bien sustentados (Fig. 11): el primero (94/100), formado por dos subclados: Tarímbaro, Michoacán (89/100) e Irapuato, Guanajuato (99/100); y el segundo, conformado por los individuos de Paraná, Brasil (76/100). A su vez, las tres poblaciones aquí estudiadas, forman un subclado principal (71/100) con la secuencia del individuo proveniente de Portugal (OQ562196.1), obtenida de la base de datos del GenBank.

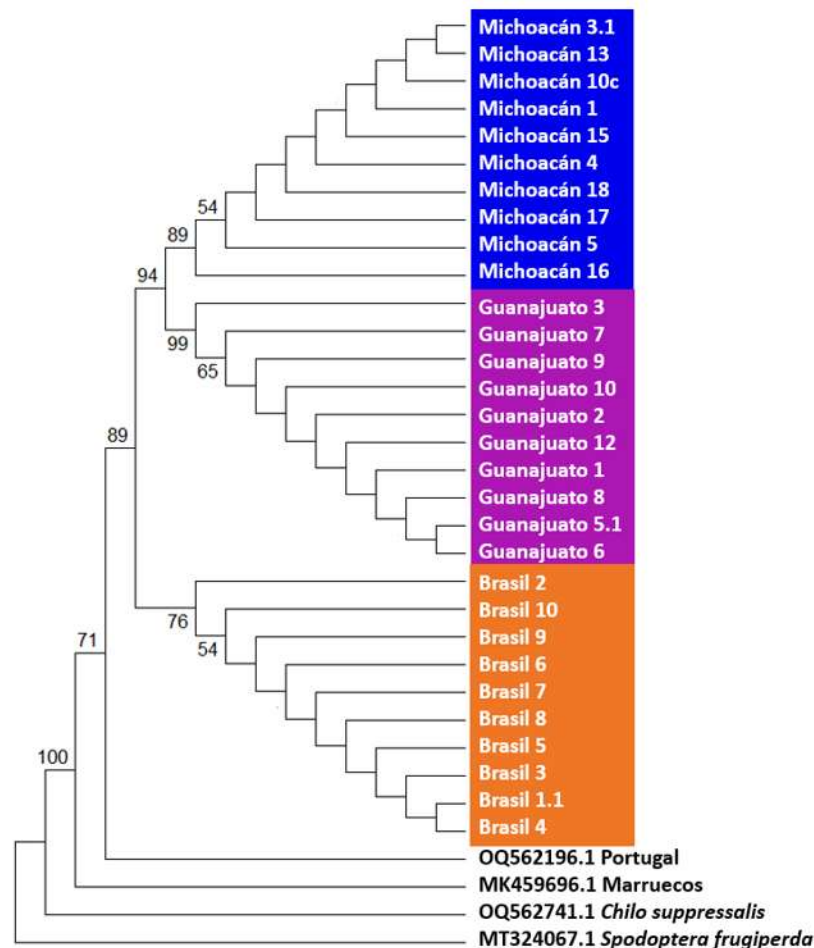


Figura 11. Árbol filogenético de máxima verosimilitud de tres poblaciones de *D. fovealis* y dos grupos externos (*C. suppressalis* y *S. frugiperda*). Los valores al inicio de cada nodo representan la robustez de la rama correspondiente (Bootstrap). Las poblaciones están diferenciadas por colores: Michoacán (azul), Guanajuato (Morado) y Brasil (Naranja).

El análisis AMOVA mostró valores de distribución de diversidad genética de 97.39 y 2.61% entre y dentro de las poblaciones, respectivamente (Cuadro 3). Por su parte, el índice de fijación mostró diferenciación poblacional ($F_{ST} = 0.97386$; $P < 0.05$), lo que indica una alta diferenciación genética. Se observó que dentro del fragmento existe una mayor frecuencia de adenina (A) y timina (T), con un promedio de 30.94 y 38.85% comparado con 15,49% de citosina (C) y 14.71% de guanina (G). Este sesgo en la frecuencia de AT (68.9 %) es típico de los genomas mitocondriales de insectos (Harrison, 1989).

Cuadro 3. Análisis molecular de varianza (AMOVA) para las tres poblaciones de *D. fovealis* bajo estudio.

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre poblaciones	2	44.26	2.20 Va	97.39
Dentro de la población	27	1.60	0.05 Vb	2.61
Total	29	45.86	2.26	
F_{ST}	0.97386			

g.l.= grados de libertad.

La red haplotípica de *D. fovealis*, construida a partir de secuencias del gen COI, mostró 4 haplotipos distribuidos entre las poblaciones de Michoacán, Guanajuato y Brasil (Fig.12). La primera población presentó una diversidad haplotípica y nucleotídica baja ($H = 1$, y $PI = 0.000595$, respectivamente). Esto fue consistente con la presencia dominante del haplotipo 1, el cual estuvo constituido por ocho individuos, mientras que el haplotipo 2 incluyó únicamente a dos individuos de la misma población, separados por una sola mutación. Los haplotipos 3 y 4 resultaron exclusivos de la población de Guanajuato y Brasil, respectivamente, ambas con valores de $H = 0$ y $PI = 0$ (Fig.12).

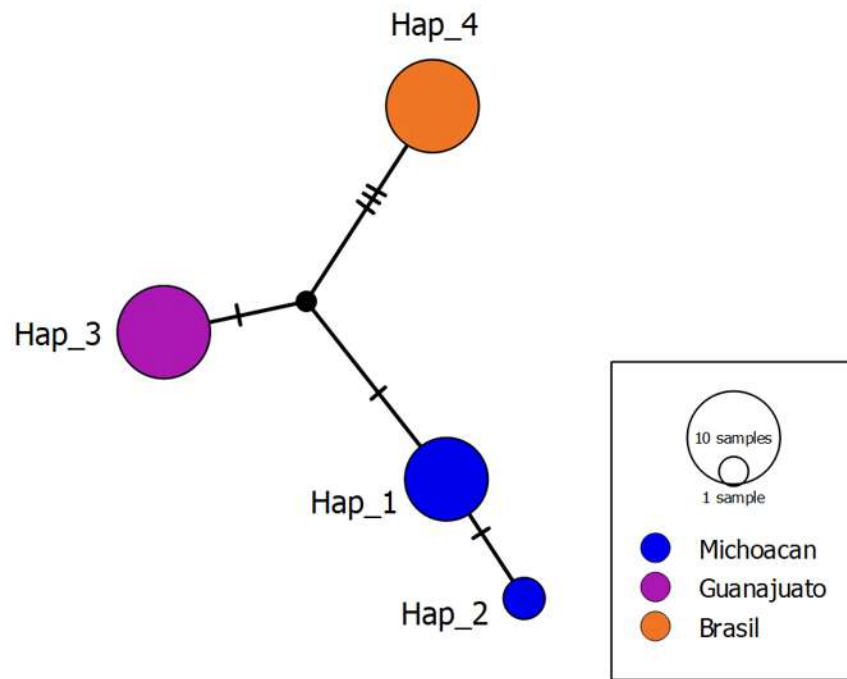


Figura 12. Red de haplotipos de *D. fovealis* construida a partir de secuencias del gen citocromo oxidasa subunidad I (COI). Michoacán (azul), Guanajuato (morado) y Brasil (naranja). Cada círculo corresponde a un haplotipo único y están en proporción con la frecuencia del haplotipo. Cada línea transversal representa una sustitución de nucleótidos entre dos haplotipos.

IX. DISCUSIÓN

9.1 Variación morfológica de poblaciones de *D. fovealis* a través de morfometría lineal y morfometría geométrica

Actualmente, no existen estudios sobre la variación morfológica entre diferentes poblaciones de *D. fovealis*. En lepidópteros, las alas pueden exhibir un grado de variabilidad considerable a nivel intra e interespecífico (Hernández et al., 2010). Dicha variabilidad puede tener implicaciones funcionales fundamentales para la vida del insecto, tales como su dispersión, búsqueda de alimento y reproducción, entre otros (Bai et al., 2015). En este contexto, uno de los objetivos del presente estudio fue determinar la variación morfológica de las alas de dos poblaciones mexicanas y una extranjera de *D. fovealis* mediante la morfometría lineal y geométrica.

Los resultados mostraron que los individuos procedentes de Brasil y de Guanajuato presentaron una mayor dimensión de sus alas que los individuos de Michoacán, con excepción de la longitud del ala posterior. Además, tanto para el ala anterior como para la posterior, las hembras de la población de Brasil tuvieron una mayor dimensión comparada con los machos. En contraste, en los individuos de Guanajuato, esta tendencia sólo se observó en las alas posteriores, contrario a lo observado en la población de Michoacán, donde no hubo diferencias en el tamaño de las alas entre hembras y machos. Esto nos puede indicar que, a pesar del corto tiempo (10 años) que ha trascurrido del primer reporte de *D. fovealis* entre Brasil (Zawadneak et al. 2016) y México (Soria-Morales, 2019) y su dispersión en este último país, las variaciones alares observadas indican una posible y rápida adaptación del insecto a los distintos cambios geográficos y ambientales como se ha observado en otros insectos (Bai et al., 2016; Önder y Aksoy, 2022). Estos autores determinaron una clara variación en el tamaño de las alas de *Trilophidia annulata* (Thunberg, 1815) (Orthoptera: Oedipodidae) y *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) (Diptera: Drosophilidae), respectivamente, en poblaciones colectadas en un lapso corto de tiempo (≤ 3 años) y cuya variación se correlacionó significativamente con factores ambientales como la latitud, temperatura, humedad y/o precipitación. Aunque en el presente estudio no se analizaron las variaciones ambientales, existen diferencias evidentes en la latitud y en las condiciones ambientales entre los lugares en donde se colectaron las poblaciones de *D. fovealis* de Brasil y México.

La correlación entre tamaño y latitud, propuesta por Bergmann (Regla de Bergmann), sugiere que, intraespecíficamente, el tamaño del cuerpo disminuye con el promedio de la

temperatura ambiental y, generalmente, existe una tendencia a incrementar con la latitud (Miller, 1991, Dujardin, 2008, Shelomi, 2012). Por ejemplo, en el estudio realizado por Hernández et al. (2010), la polilla guatemalteca, *Tecia solanivora* Povolný (Lepidoptera: Gelechiidae), fue más grande a mayores altitudes, en ambos sexos. En 2020, investigadores del Reino Unido, determinaron que el tamaño alar de la mariposa de los muros, *Pararge aegeria* L. (Lepidoptera: Nymphalidae), aumentó con la latitud en aproximadamente un 2% por cada 100 km, lo que es consistente con la Regla de Bergmann. Asimismo, varios autores coinciden en que la variación intraespecífica del tamaño corporal de los organismos, influenciada por el ambiente, corresponde a un rasgo fenotípico altamente plástico durante el desarrollo de los mismos (Hernández et al., 2010) y puede tener bases adaptativas o no adaptativas (Angilleta et al., 2004). Por su parte, Hodkinson (2005) y Dillon y Frazier (2006) también determinaron que la disminución de la temperatura, presión atmosférica y disponibilidad de oxígeno, así como el aumento de la radiación solar en entornos de gran altitud, pueden provocar cambios morfológicos en los insectos. Sin embargo, diversos estudios han demostrado que los cambios en el tamaño de estos organismos y de otros invertebrados, establecidos a lo largo de distintos gradientes ambientales, no siempre se ajustan a la regla de Bergmann (Brehm y Fiedler, 2004; Bai et al., 2016; Önder y Aksoy, 2022).

En general, el diseño de las alas de las hembras, al ser más grandes o anchas que las de los machos, confiere una mayor capacidad de carga (relación entre la masa corporal del individuo y el área total de sus alas) (Willmott y Ellington, 1997). El tamaño más grande de la hembra puede ser favorecido por la selección natural para incrementar su fecundidad, adecuación y longevidad (Adams y Funk, 1997; Francuski et al., 2009; Hernández et al., 2010). En contraste, el tamaño pequeño del macho puede ser el resultado de la selección sexual debido al rápido desarrollo que conduce a su eclosión temprana (Hernández et al. 2010). En el presente estudio, sólo en algunos casos (para la población de Brasil, hembras y machos presentaron promedios significativamente diferentes para ambas mediciones en ambas alas, y para la población de Guanajuato, esto sólo se observó en las alas posteriores) se observaron diferencias entre la longitud y la amplitud de las alas entre los sexos y poblaciones. Asimismo, el análisis de clúster de ambas alas reveló una agrupación parcial por sexo en las poblaciones estudiadas, la cual fue más clara en las alas posteriores de la población brasileña. Torres et al. (2015) mostraron que las hembras de la palomilla de la manzana, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae), recolectadas en manzanos y nogales en tres localidades de la Región del Maule, Chile, presentaron alas más largas y anchas que los machos, pero con una carga alar similar. Otros

estudios sugieren que, diferencias en la morfología de las alas entre sexos son indicativas de diferentes capacidades de dispersión (Schumacher et al., 1997). Sin duda, la relación entre el tamaño de las alas de *D. fovealis* y el sexo aún amerita futuros estudios.

Respecto a los análisis de morfometría geométrica, sin influencia del sexo, los resultados de este estudio indicaron que también existen diferencias significativas en la forma de las alas posteriores entre individuos de *D. fovealis* pertenecientes a las poblaciones de Michoacán, Guanajuato y Brasil. En contraste, no se observaron diferencias en las alas anteriores. En los lepidópteros, las alas anteriores y posteriores están acopladas mecánicamente y baten en sincronía (Ma et al., 2021). El vuelo es anteromotor, impulsado principalmente por la acción de las alas anteriores. En este sentido, diversos autores sugieren que las alas anteriores y las posteriores contribuyen de manera desigual al rendimiento del vuelo. Al respecto, en un estudio con 19 especies de mariposas y 25 de palomillas, todas volaron con sus alas posteriores removidas, aunque a costa de la velocidad y la maniobrabilidad (Jantzen y Eisner 2008). Por lo tanto, la forma y el tamaño de las alas anteriores pueden ser resultado de una selección estabilizadora impuesta por los requisitos biomecánicos del vuelo, mientras que la forma y el tamaño de las alas posteriores pueden responder más fácilmente a procesos neutrales o selectivos como la selección sexual (Chazot et al., 2016).

En la presente investigación, a diferencia de las poblaciones de Guanajuato y Brasil, que provenían de cultivos de fresa, la población de Michoacán se colectó en plantas de arándano, lo cual coincide con la tendencia observada de una mayor amplitud y longitud de las alas en las poblaciones de Guanajuato y Brasil, comparadas con Michoacán. Debido a ello, otro aspecto importante a considerar y, que amerita futuros estudios, es la planta hospedera. A este respecto, existe evidencia de que el tipo de planta hospedera puede influir significativamente en la forma y el tamaño de las alas de los adultos de los insectos (Mozaffarian et al., 2007; Soto et al., 2008). Por ejemplo, en adultos de *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae), los análisis multivariados sugirieron que algunas poblaciones presentaron diferencias en la conformación asociadas a su planta hospedera (Obando et al., 2011). Aunque son escasos los trabajos dedicados al estudio de la influencia del hospedero en el cambio de la conformación de sus individuos, se registran algunos que documentan la variación de la conformación según la alimentación (Adams y Funk, 1997).

9.2 Variación genética intra e interpoblacional de *D. fovealis* mediante el uso del gen COI

Para conocer, de forma integral, la variabilidad intra e interpoblacional de *D. fovealis* de las poblaciones mexicanas, en este estudio se realizó un análisis molecular mediante el gen COI, en donde se incluyó una población extranjera (Brasil) de referencia. Este gen se utiliza ampliamente para analizar relaciones filogenéticas dentro de poblaciones de insectos y para mostrar la distancia o cercanía entre individuos de una misma especie (Pečňiar y Buzan, 2013).

El análisis filogenético mediante el método de máxima verosimilitud mostró una diferenciación genética entre las poblaciones estudiadas de esta palomilla; la topología del árbol evidenció la formación de subclados (con valores de bootstrap entre 99 y 76) específicos de cada población, lo que sugiere cierto grado de diferenciación poblacional. Claramente, las poblaciones mexicanas formaron un grupo monofilético, distinto al de la población extranjera, pero conservaron una similitud genética entre los especímenes recolectados en cada zona (Guanajuato o Michoacán). Además, esto se ve reflejado en los resultados del análisis AMOVA, cuyos resultados muestran un alto porcentaje de variación entre poblaciones (97.39 %) y una baja variación intrapoblacional. Estos resultados son relevantes y novedosos, puesto que, hasta nuestro conocimiento, este es el primer estudio genético que se realiza con poblaciones mexicanas, en donde se observaron dos aspectos importantes: 1) A pesar del relativamente corto tiempo de establecimiento de *D. fovealis* en Michoacán, México (≈ 8 años; Soria-Morales, 2019; Cruz-Esteban y Rojas, 2021), las poblaciones analizadas en este estudio presentan variación en comparación con aquellas establecidas previamente en Latinoamérica, como es el caso de Brasil, país cuya presencia de *D. fovealis* se reportó por primera vez en 2016 (Zawadneak et al., 2016) y 2) Las dos poblaciones mexicanas formaron subclados separados y definidos, lo que sugiere un posible efecto de poca migración. Sin embargo, para confirmar estas observaciones, son necesarias futuras investigaciones en donde se realicen monitores genéticos en un lapso de mayor tiempo.

Los resultados del presente estudio contrastan con un estudio donde se analizó la variación genética de poblaciones del barrenador de la vaina del frijol, *Maruca vitrata* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae), provenientes de diferentes agroecosistemas en India y cuyos resultados revelaron que el mayor porcentaje de variación se produjo dentro de las poblaciones, con un 86.09%, y solo se encontraron variaciones de 13.37% y 0.54% entre poblaciones dentro de la misma zona y grupos de poblaciones de diferentes zonas, respectivamente. Esto puede indicar que las poblaciones de *M. vitrata* en la India presentan baja variación genética y alto flujo génico entre ellas. Este alto flujo genético contribuye a mantener una estructura poblacional homogénea, reduciendo las diferencias genéticas entre regiones (Mahalle et al., 2022). En otros

crámbidos, como el enrollador de hojas del arroz, *Cnaphalocrocis medinalis* Guenée, se ha reportado una variación genética extremadamente baja dentro de seis poblaciones en Taiwán y una ausencia de estructura significativa entre poblaciones cercanas (Hsieh et al., 2023). Estos autores sugieren que estas poblaciones de *C. medinalis* podrían considerarse como solamente una población genética, sin flujo genético restringido entre los sitios geográficos, posiblemente debido a un origen común o a un efecto fundador. Esto ocurre cuando una nueva población se establece con un número muy pequeño de individuos provenientes de una población mayor, lo que conduce a una pérdida de variación genética (Mayr, 1963).

Por otra parte, en el presente estudio, el análisis de la red haplotípica para *D. fovealis*, basada en el gen COI mostró la presencia de un número reducido de haplotipos y valores bajos de diversidad haplotípica y nucleotídica, particularmente en la población de Michoacán, así como la ausencia de diversidad en las poblaciones de Guanajuato y Brasil. Esto sugiere una estructura genética simple caracterizada por haplotipos separados por un número bajo de mutaciones. Resultados similares han sido reportados en otros crámbidos con amplia distribución geográfica. Por ejemplo, en *D. saccharalis*, el análisis de secuencias del gen COI en seis poblaciones brasileñas asociadas a distintas localidades (Piracicaba, Jaboticabal, Morrinhos y Maceio) y hospederos (caña de azúcar y maíz) reveló un bajo nivel de variación genética (Francischini et al., 2017). Estos autores identificaron únicamente 4 haplotipos, con una diversidad haplotípica global baja ($H = 0.14$) y una diversidad nucleotídica reducida ($PI = 0.00032$). En un estudio con *C. suppressalis*, se observó una diversidad genética alta a partir del gen COI (Meng et al., 2008). En este insecto, el análisis de 381 individuos recolectados en 18 localidades de cultivo de arroz en China permitió identificar un total de 27 haplotipos únicos. Sin embargo, estos autores también reportaron la presencia de 3 haplotipos comunes, lo cual indicó un bajo flujo genético entre la mayoría de las poblaciones y cierto intercambio entre otras.

En general, la diversidad genética entre poblaciones de *D. fovealis* y la red haplotípica indicaron una influencia del origen geográfico y un bajo flujo genético entre las poblaciones mexicanas. Esto podría ser debido a varios factores entre los cuales se pueden considerar: I) la posible limitada capacidad de vuelo de la especie, II) el manejo de la misma en los cultivos de frutillas, ya que las poblaciones normalmente son controladas con el uso de feromonas, lo cual podría contener las poblaciones de manera local y III) la presencia de alguna barrera geográfica (Behura, 2006). Sin embargo, aún se requieren futuros estudios de esta especie para conocer su dinámica en distintas poblaciones.

X. CONCLUSIONES

- El análisis de morfometría lineal mostró una variación en el tamaño de las alas de *D. fovealis* con una tendencia de mayores dimensiones (longitud y amplitud) en la población de Brasil comparado con las poblaciones mexicanas. Esto es congruente con los resultados de la variación genética debido a que la población brasileña mostró mayor variación que se reflejó en el número de mutaciones observadas en la red haplotípica.
- La morfometría geométrica demostró que sólo el ala posterior constituye un rasgo morfológico distintivo entre las distintas poblaciones analizadas.
- El análisis morfométrico (lineal y geométrico) de la forma del ala posterior y el árbol filogénico de máxima verosimilitud mostraron una clara separación de las poblaciones, lo que indica la importancia de utilizar ambos enfoques para obtener resultados más completos que permitan conocer y explicar la variabilidad genética y morfológica de las poblaciones de este insecto.
- La diversidad genética entre las poblaciones de *D. fovealis* y la red haplotípica indicaron una influencia del origen geográfico y un bajo flujo genético entre las poblaciones mexicanas. Esto podría estar relacionado con la baja capacidad de desplazamiento y manejo del insecto en las zonas donde se recolectaron y/o al aislamiento por distancia o barreras físicas.

XI. PERSPECTIVAS

En general, la forma de las alas posteriores se consolida como una herramienta confiable para identificar la variación morfológica interpoblacional en *D. fovealis*. Además, debido a la escasez de los estudios genéticos sobre esta especie, el presente estudio amplía la disponibilidad de secuencias mediante el uso del gen COI como marcador molecular. Estas secuencias podrán ser utilizadas en futuros estudios poblacionales y filogeográficos, proporcionando información útil sobre su diversidad y estructura genética.

XII. LITERATURA CITADA

- Adams, D.C. y Funk, D.J. (1997). **Morphometric inferences on sibling species and sexual dimorphism in *Neochlamisus bebbianae* beetles: multivariate applications of the thin-plate spline.** *Systematic Biology*, 46, 180-194.
- Adams, D. C., Rohlf, F. J. y Slice, D. E. (2004). **Geometric morphometrics: Ten years of progress following the 'revolution'.** *Italian Journal of Zoology*, 71, 5-16. <https://doi.org/10.1080/11250000409356545>
- Amatuzzi, F.R., Cardoso, N., Poltronieri, A. S., Poitevin, C. G., Dalzoto, P., Zawadneak, M. A. y Pimentel, I. C. (2018). **Potential of endophytic fungi as biocontrol agents of *Duponchelia fovealis* (Zeller) (Lepidoptera: Crambidae).** *Brazilian Journal of Biology*, 78(03), 429-435. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.166681>
- Angilletta, M. J., Jr, Steury, T. D., y Sears, M. W. (2004). **Temperature, growth rate, and body size in ectotherms: fitting pieces of a life-history puzzle.** *Integrative and comparative biology*, 44 (6), 498-509. <https://doi.org/10.1093/icb/44.6.498>
- Araujo, E. S., Poltronieri, A. S., Poitevin, C. G., Mirás-Avalos, J. M., Zawadneak, A. C. y Pimentel, I. C. (2020). **Compatibility between entomopathogenic fungi and egg parasitoids (Trichogrammatidae): A laboratory study for their combined use to control *Duponchelia fovealis*.** *Insects*, 11 (9), 630. <https://doi.org/10.3390/insects11090630>
- Azrizal-Wahid, N., Sofian-Azirun, M., y Rizman-Idid, M. (2016). **The significance of wing and bodymorphometry in discriminating six species of Euremabutterflies (Lepidoptera: Pieridae) of Peninsular Malaysia.** *Sains Malaysiana*, 45(10), 1413-1422.
- Bai Y., Bin Ma, L., Xu S. y Wang, G. (2015). **A geometric morphometric study of the wing shapes of *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) from the Qinling Mountains and adjacent regions: An environmental and distance-based consideration.** *Florida Entomologist*, 98, 163-169. <https://doi.org/10.1653/024.098.0128>
- Bai, Y., Dong, J. J., Guan, D. L., Xie, J. Y. y Xu, S. Q. (2016). **Geographic variation in wing size and shape of the grasshopper *Trilophidia annulata* (Orthoptera: Oedipodidae): morphological trait variations follow an ecogeographical rule.** *Scientific Reports*, (6)32680. <https://doi.org/10.1038/srep32680>
- Baja, F., Poitevin, C. G., Araujo, E. S., Mirás-Avalos, J. M., Zawadneak, M. A. y Pimentel, I. C. (2020). **Infection of *Beauveria bassiana* and *Cordyceps javanica* on different immature stages of *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae).** *Crop Protection*, 138, 105347. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105347>
- Behura, S. K. (2006). **Molecular marker systems in insects: current trends and future avenues.** *Molecular Ecology*, 15(11), 3087-3113. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2006.03014.x

- Bethke, J. A., L. S. Osborne, S. D. Stocks, B. Vander Mey, A. C. Hodges, D. L. Schuble y L. Schmale. (2012). **Real and Potential Impact of the European Pepper Moth on Ornamental Plant Production and Agriculture**. En: Chase, A., J. C. Chong, C. Palmer, and Robert Stamps (Eds.) **Proceedings 2012 Society of American Florists Pest and Production Management Conference**. Society of American Florists. Alexandria, VA.
- Blanckenhorn, W. U., Stillwell, R. C., Young, K. A., Fox, C. W., Ashton, K. G. (2006). **When Rensch meets Bergmann: Does sexual size dimorphism change systematically with latitude?**. *Evolution*, 60, 2004-11. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2006.tb01838.x>
- Bookstein, F. L. (1997). **Morphometric Tools for Landmark Data**. Cambridge University Press: Cambridge, UK.
- Bonsignore, C. P. y Vacante, V. (2010). **Duponchelia fovealis (Zeller). A new emergency for strawberry?** *Protezione delle Colture*, 3, 40-43.
- Bradshaw, C. J., Leroy, B., Bellard, C., Roiz, D., Albert, C., Fournier, A., Barbet-Massin, M., Salles, J. M., Simard, F., y Courchamp, F. (2016). **Massive yet grossly underestimated global costs of invasive insects**. *Nature Communications*, 7, 12986. <https://doi.org/10.1038/ncomms12986>
- Brambila, J. y Stocks, I. (2010). **Pest alert: the European pepper moth, *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae), a Mediterranean pest moth discovered in Central Florida**. https://ccmedia.fdacs.gov/content/download/66346/file/pest_alert_the_european_pepper_moth_-_duponchelia_fovealis.pdf (Accesada en agosto de 2024).
- Brehm, G. & Fiedler, K. (2004). **Bergmann's rule does not apply to geometrid moths along an elevational gradient in an Andean montane rain forest**. *Global Ecology and Biogeography*, 13, 7-14. <https://doi.org/10.1111/j.1466-882X.2004.00069.x>
- Breuker C. J., M. Gibbs, S. Van Dongen, T. Merckx y H. Van Dyck. (2010). **The use of geometric morphometrics in studying butterfly wings in an evolutionary ecological context**. En: Elewa, A. M. T. (Ed.) **Morphometrics for Nonmorphometricians**. Springer Verlag. pp. 271-287
- CABI (Centre for Agriculture and Biosciences International). (2020). ***Duponchelia fovealis* (southern European marshland pyralid)**. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.20168> (Accesada en agosto de 2024).
- Clement, M., Snell, Q., Walker, P., Posada, D., y Crandall, K. (2002). **TCS: Estimating gene genealogies**. Parallel and Distributed Processing Symposium, International Proceedings, 2, 184.
- Cruz-Esteban, S., y Rojas, J. C. (2021). **Pheromone-baited traps confirm the presence of *Duponchelia fovealis* in strawberry crops in Mexico**. *Southwestern Entomologist*, 46(2), 533-536. <https://doi.org/10.3958/059.046.0224>

- Chazot, N., Panara, S., Zilbermann, N., Blandin, P., Le Poul, Y., Cornette, R., Elias, M. y Debat, V. (2016). **Morpho morphometrics: shared ancestry and selection drive the evolution of wing size and shape in Morpho butterflies.** *Evolution*, 70,181-194. DOI: 10.1111/evo.12842
- da Costa-Stuart, A. K., Furuie, J. L., Zawadneak, M. A. C. y Pimentel, I. C. (2020). **Increased mortality of the European pepper moth *Duponchelia fovealis* (Lepidoptera: Crambidae) using entomopathogenic fungal consortia.** *Journal of Invertebrate Pathology*, 177, 107503. DOI: 10.1016/j.jip.2020.107503
- DGSIAP (Dirección General del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). (2024). **Anuario Estadístico de la Producción Agrícola.** https://nube.agricultura.gob.mx/cierre_agricola/ (Accesada en enero de 2026).
- Dillon, M. E. y Frazier, M. R. (2006). ***Drosophila melanogaster* locomotion in cold thin air.** *Journal of Experimental Biology*, 209, 364-371. <https://doi.org/10.1242/jeb.01999>
- Dres, M. y Mallet, J. (2002). **Host races in plant-feeding insects and their importance sympatric speciation.** *Philosophical Transactions of the Royal Society of Science*, 357, 471-492. <https://doi.org/10.1098/rstb.2002.1059>
- Doorenweerd, C., San Jose, M., Barr, N., Leblanc, L. y Rubinoff, D. (2020). **Highly variable COI haplotype diversity between three species of invasive pest fruit fly reflects remarkably incongruent demographic histories.** *Scientific Reports*, 10: 6887. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63973-x>
- dos Santos, F. M., de Carvalho, J. R., Pratissoli, D., de Freitas-Bueno, R. C. O., Pirovani, V. D. y de Souza-Rodrigues, H. (2019). **Toxicity of insecticides in *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae), a new strawberry pest in Brazil under laboratory conditions.** *Journal of Experimental Agriculture International*, 39(5), 1-7. <https://doi.org/10.9734/jeai/2019/v39i530344>.
- Doyle, J. J., y Doyle, J. L. (1991). **DNA protocols for plants.** En G. M. Hewitt, A. W. B. Johnston, y J. P. W. Young (Eds.), **Molecular Techniques in Taxonomy** (pp. 283–293). Springer-Verlag.
- Dujardin J. P. (2008). **Morphometrics applied to medical entomology.** *Infection, genetics and evolution.* *Journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 8 (6), 875-890. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2008.07.011>
- Dujardin, J. P. (2011). **Modern morphometrics of medically important insects.** En: Tibayrenc, M. (ed.). **Genetics and evolution on infectious disease.** Elsevier. Amsterdam. pp.473-501
- Duque, D. N., Vallejo, A. M. C., Lerma, J. M., Espinosa, L. F. V., y Florez, J. E. M. (2014). **Caracterización molecular del complejo picudo de plátano (Coleoptera: Curculionidae), géneros *Cosmopolites* y *Metamasius*, en tres localidades de Colombia.** *Acta Agronómica*, 61(5), 26-27.

- Excoffier, L. y Lischer, H. E. L. (2010). **Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows.** *Molecular Ecology Resources*, 10, 564-567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- Fernández, D. C., VanLaerhoven, S. L. y Labbé, R. (2021). **Host utilization by the pepper weevil (*Anthonomus eugenii*): suitability, preference and offspring performance.** *Pest Management Science*, 77, 4719-4729. <https://doi.org/10.1002/ps.6514>
- Fogliata, S., Perera, M. Alves Pereira, A. Zucchi, M. I. y Murúa, M. (2022). **Unraveling the population structure of the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*, in Argentina.** *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 170(6), 530-545. <https://doi.org/10.1111/eea.13174>
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. y 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.
- Francischini, F. J. B., de Campos, J. B., Alves-Pereira, A., Gomes Viana, J. P., Grinter, C. C., Clough, S. J., y Zucchi, M. I. (2017). **Morphological and molecular characterization of Brazilian populations of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) and the evolutionary relationship among species of *Diatraea* Guiling.** *PLoS ONE*, 12(11), e0186266. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186266>
- Francuski, L. J., Vujic, A., Kovacevic, A., Ludoâki, J. y Milankov, V. (2009). **Identification of the species of the *Cheilosia variabilis* group (Diptera: Syrphidae) from the Balkan Peninsula using wing geometric morphometrics, with the revision of status of *C. melanopa redi* Vujic, 1996.** *Contributions to Zoology*, 78 (3), 129-140. DOI: 10.1163/18759866-07803004
- Geller, J., Meyer, C., Parker, M., y Hawk, H. (2013). **Redesign of PCR primers for mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I for marine invertebrates and application in all-taxa biotic surveys.** *Molecular Ecology Resources*, 13(5), 851,861. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12138>
- Gelsvartas, J. (2007). **Geometric morphometrics.** *Annual Review of Anthropology*, 36(1), 261-281.
- Gonzalez-Fuentes, F., Rodríguez-Chinchilla, C., Arroyo-Vargas, A. J. y González-Herrera, A. (2023). **Detección con feromonas de *Duponchelia fovealis* Zeller en fincas freseras de Costa Rica.** *Agronomía Mesoamericana*, 34(2), 51870. <https://doi.org/10.15517/am.v34i2.51870>
- Harrison, R.G. (1989). **Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology.** *Trends in Ecology & Evolution*, 4, 6-11.
- Harvey, M. L., Dadour, I. R. y Gaudieri, S. (2003). **Mitochondrial DNA cytochrome oxidase I gene: potential for distinction between immature stages of some forensically important fly species (Diptera) in Western Australia.** *Forensic science international*, 131(2-3), 134-139. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(02\)00431-0](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(02)00431-0)

- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., y de Waard, J. R. (2003). **Biological identifications through DNA barcodes.** *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 270(1512), 313-321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Hernández N., Barragán, A. R., Dupas, S., Silvain, J. y Dangles, O. (2010). **Wing shape variations in an invasive moth are related to sexual dimorphism and altitude.** *Bulletin of Entomological Research*, 100(5), 529-541. DOI:10.1017/S000748530999054X
- Hodkinson, I. D. (2005). **Terrestrial insects along elevation gradients: species and community responses to altitude.** *Biology Reviews*, 80, 489-513. <https://doi.org/10.1017/S1464793105006767>
- Hsieh, C. H., Guo, T. W., Tu, K. Y., Liao, C. T., y Chuang, W. P. (2023). **Genetic structure of the rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Crambidae) in Taiwan.** *Taiwania*, 68(4), 451-457. DOI: 10.6165/tai.2023.68.451
- Jantzen, B., y Eisner, T. (2008). **Hindwings are unnecessary for flight but essential for execution of normal evasive flight in Lepidoptera.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(43), 16636-16640. <https://doi.org/10.1073/pnas.0807223105>
- Jaraleño-Teniente, J., González-Hernández, H., Lomeli-Flore,s J. R., Soto-Rojas, L. y Tamayo-Mejia, F. (2022). **Reporte de *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae) en cultivos de frutillas en Guanajuato, México.** En: Memorias de resúmenes del III Congreso Nacional de Entomología Aplicada. 31 de agosto al 02 de septiembre, Oaxtepec, Morelos, México. p. 73.
- Jaramillo, N. (2010). **Morfometría geométrica: principios teóricos y métodos de empleo.** En O. Triana Chávez, A.M. Mejía Jaramillo, A. Mauricio Gómez Palacio (Eds.) **Fronteras de investigación en enfermedades infecciosas. Modelo enfermedad de Chagas.** Universidad de Antioquia. Colombia. pp. 69-87.
- Jolliffe, I. T. (2002). **Principal component analysis.** 2da. ed. Springer-Verlag. 518 pp.
- Jordaens, K., Sonet, G., Richet, R., Dupont, E., Braet, Y. y Desmyter, S. (2013). Identification of forensically important Sarcophaga species (Diptera: Sarcophagidae) using the mitochondrial COI gene. *International Journal of Legal Medicine*, 127(2), 491-504. <https://doi.org/10.1007/s00414-012-0767-6>
- Klingenberg, C. P. (2011). **MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics.** *Molecular ecology resources*, 11(2), 353-357. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02924.x>
- Klingenberg, C. P. (2013). **Visualizations in geometric morphometrics: how to read and how to make graphs showing shape changes.** *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 24(1), 15-24. <https://doi.org/10.4404/hystrix-24.1-7691>
- Kress, W. J., y Erickson, D. L. (2012). **DNA barcodes: methods and protocols.** *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 858, 3-8.

- Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S., y Tamura, K. (2024). **Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 12 for adaptive and green computing.** *Molecular Biology and Evolution* 41:1-9. <https://doi.org/10.1093/molbev/msae263>
- Lagunez-Fortiz, E. R., Lagunes-Fortiz, E., Gómez-Gómez, A. A., Leos-Rodríguez, J. A. y Omaña-Silvestre, J. M. (2020). **Competitividad y rentabilidad de la producción de frutillas en Jalisco.** *Revista Mexicana Ciencias Agrícolas*, 11(8): 1815-1826. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i8.2595>
- Lanteri, A. A. (2007). **Código de barras del ADN y sus posibles aplicaciones en el campo de la Entomología.** *Sociedad Entomológica Argentina*, 66 (3-4),15-25.
- Lawson-Handley, L. J., Estoup, A., Evans, D. M., Thomas, C. E., Lombaert, E., Facon, B., Aebi, A. y Roy, H. E. (2011). **Ecological genetics of invasive alien species.** *BioControl*, 56, 409-428. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9386-2>
- León-López, L. L., Guzmán-Ortíz, D. L., García-Berumen, J. A., Chávez- Marmolejo, C. J. y Peña-Cabriales, J. J. (2014). **Consideraciones para mejorar la competitividad de la región” El Bajío” en la producción nacional de fresa.** *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5 (4), 673-686.
- Mahalle, R. M., Chakravarty, S. y Srivastava, C. P. (2022). **Population Genetic Differentiation and Structure of *Maruca vitrata* (Lepidoptera: Crambidae) in India.** *Diversity*, 14, 546. <https://doi.org/10.3390/d14070546>
- Ma, Y., Zhao, H., Ma, T., Ning, J., y Gorb, S. (2021). **Wing coupling mechanism in the butterfly *Pieris rapae* (Lepidoptera, Pieridae) and its role in taking off.** *Journal of Insect Physiology*, 131, 104212. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2021.104212>
- Marbuah, G., Gren, I. M. y McKie, B. (2014). **Economics of harmful invasive species: a review.** *Diversity*, 6, 500-523. <https://doi.org/10.3390/d6030500>
- Marcus L. F. (1990). **Traditional morphometrics.** En: Rohlf, F. J. y F. L. Bookstein (Eds.) **Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop.** University of Michigan Museum of Zoology Special Publication 2. USA.
- Mayr, E. (1963). **Animal species and evolution.** Belknap Press of Harvard University Press.
- Meng, X. F., Shi, M., y Chen, X. X. (2008). **Population genetic structure of *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae): Strong subdivision in China inferred from microsatellite markers and mtDNA gene sequences.** *Molecular Ecology*, 17(12), 2880–2897. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03792.x>
- Miller, E. (1991). **Positive relation between body size and altitude of capture site in tortricid moth (Tortricidae).** *Journal of the lepidopterists’ society*, 45, 66-67.
- Molnár, P. B., Bognár, C., Erdei, A. L., Fujii, T., Vági, P., Jósvai, J. K., y Kárpáti, Z. (2018). **Identification of the female produced sex pheromone of an invasive greenhouse**

- pest, the European pepper moth (*Duponchelia fovealis*).** *Journal of Chemical Ecology*, 44, 257-267. DOI: 10.1007/s10886-018-0928-2
- Moreno, A. (2019). **Cuantificando la variación de las formas: aplicaciones de la morfometría geométrica alar de Lepidoptera (Insecta).** *Anartia*, 28, 7-17.
- Mozaffarian, F., Sarafrazi, A., y Ganbalani, G. N. (2007). **Host plant-associated population variation in the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* in Iran: A geometric morphometric analysis suggests a nutritional basis.** *Journal of insect science*, 7, 1-11. <https://doi.org/10.1673/031.007.0201>
- Nei, M. y Kumar, S. (2000). **Molecular Evolution and Phylogenetics.** Oxford University Press, New York.
- Obando V. 2011. **Variabilidad morfométrica de *Neoleucinodes elegantalis* (Gueneé): perforador de fruto de solanáceas de importancia económica.** (Tesis de maestría). Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia. 80 pp.
- Önder, B. Ş., Aksoy, C. F. (2022). **Seasonal variation in wing size and shape of *Drosophila melanogaster* reveals rapid adaptation to environmental changes.** *Scientific Reports*, (12)14622. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18891-5>
- Pashley, D. P. (1986). **Host-associated genetic differentiations in fall armyworm, (Lepidoptera: Noctuidae) a sibling species complex?.** *Annals of the Entomological Society of America*, 79, 898-904.
- Pecina-Quintero, V., Anaya-López, J., Cortez-Mondaca, E., Núñez-Colín, C., Herrera-Corredor, C., Montes-García, N., Jimenez-Becerril, M. y Gámez-Vazquez, A. (2015). **Caracterización genética de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) en México usando marcadores AFLP.** *Southwestern Entomologist*, 40, 545-553. <https://doi.org/10.3958/059.040.0313>
- Pečňiar, Ž. F y Buzan, E. V. (2013). **20 years since the introduction of DNA barcoding: from theory to application.** *Journal of Applied Genetics*, 55(1), 43-52. DOI: 10.1007/s13353-013-0180-y.
- Pinto-Zevallos, D. M., Martins, C. B. C., Andrade, S. M. M., Zawadneak, M. A. y Zarbin, P. H. G. (2020). **Plant volatiles induced by *Duponchelia fovealis* (Lepidoptera: Crambidae) in two cultivars of strawberry and its attraction to the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae).** *Arthropod-Plant Interactions*, 14(6), 685-693. <https://doi.org/10.1007/s11829-020-09790-5>
- Poyet, M., V. Le Roux, P. Gibert, A. Meirland, G. Prévost, Eslin, P. y Chabrierie, O. (2015). **The wide potential trophic niche of the Asiatic fruit fly *Drosophila suzukii*: the key of its invasion success in temperate Europe?.** *PLoS One*, 10, e0142785. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142785>
- Rahaman, M. M., Hossain, R., Herrera-Bravo, J., Islam, M. T., Atolani, O., Adeyemi, O. S., Owolodun, O. A., Kambizi, L., Daştan, S. D., Calina, D., y Sharifi-Rad, J. (2023). **Natural antioxidants from some fruits, seeds, foods, natural products, and associated**

- health benefits: An update.** *Food Science & Nutrition*, 11, 1657-1670. DOI: 10.1002/fsn3.3217
- Ricárdez-Luna, G., Aguilar-Rivera, N., Galindo-Tovar, M. E., y Debernardi-Vázquez, T. J. (2016). **Diagnóstico de la producción de zarzamora (*Rubus* sp.) en la zona centro de Veracruz, México.** *Agroproductividad*, 9(6), 34-38.
- Rodríguez-Vázquez, E., Pineda-Guillermo, S., Hernández-Juárez, A., Tejeda-Reyes, M. A., López-Bautista, E. e Illescas-Riquelme, C. P. (2023). **Dimorfismo sexual, diagnosis y daños causados por *Duponchelia fovealis* (Lepidoptera: Crambidae).** *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 82 (3), 13-20.
- Rohlf, F. J. y Marcus, L. F. (1993). **A revolution in morphometrics.** *Trends in Ecology & Evolution*, 3(8),129-32.
- Rosales-Escareño, L., Lozano-Gutiérrez, J., España-Luna, M. P., Enriquez-Enriquez, D. y Balleza-Cadengo, J. J. (2021). **Primer reporte de *Duponchelia fovealis* (Zeller, 1847) (Lepidoptera:Crambidae) en el estado de Aguascalientes, México.** En: Resúmenes del LVI Congreso Nacional de Entomología. 6 de septiembre al 10 septiembre. Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. p. 91.
- Rozas, J. (2009). **DNA Sequence Polymorphism Analysis using DnaSP.** Pp. 337-350. In Posada, D. (ed.) *Bioinformatics for DNA Sequence Analysis; Methods in Molecular Biology Series Vol. 537.* Humana Press, NJ, USA.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-del Barrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos Onsins, S. E. y Sánchez-Gracia, A. (2017). **DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets.** *Molecular Biology and Evolution*, 34, 3299-3302. DOI: 10.1093/molbev/msx248
- SADER (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural). (2023). **Michoacán, consistente como líder fresero.** <https://sader.michoacan.gob.mx/michoacan-consistente-como-lider-fresero/#:~:text=El%20SIAP%20calcul%C3%B3%20el%20valor,hect%C3%A1reas%20distribuidas%20en%2031%20municipios> (Accesada en diciembre de 2024).
- SADER (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural). (2024). **México se posiciona como país altamente productor y exportador de berries.** <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/mexico-se-posiciona-como-pais-altamente-productor-y-exportador-de-berries> (Accesada en enero de 2026).
- Sanzana M. J., Parra, L.E., Sepúlveda-Zúñiga, E. y Benítez, H. (2013). **Latitudinal gradient effect on the wing geometry of *Auca coctei* (Guerín) (Lepidoptera, Nymphalidae).** *Revista Brasileira de Entomologia*, 57, 411-416. <https://doi.org/10.1590/S0085-56262013005000045>
- Sanger, F. y Coulson, A. R. (1975). **A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase.** *Journal of Molecular Cell Biology*, 94(3), 441-448.

- Schumacher, P., Weber, D.C., Hagger, C. y Dorn, S. (1997). **Heritability of flight distance for *Cydia pomonella***. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 85, 169-175.
- SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria). (2022). **Protegemos a las frutillas mexicanas**. <https://www.gob.mx/senasica/articulos/protegemos-a-las-frutillas-mexicanas> (Accesada en junio de 2024).
- Shelomi M. (2012). **Where are we now? Bergmann's rule sensu lato in insects**. *The American naturalist*, 180(4), 511-519. <https://doi.org/10.1086/667595>
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). (2021). **Cierre de la producción agrícola. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola**. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Accesada en junio de 2024).
- Slice, D. (2007). **Geometric morphometrics**. *Annual Review of Anthropology*, 36, 261-281.
- Soria-Morales, J. (2019). **Duponchelia fovealis, plaga detectada recientemente en México**. Periódico Rural AGRO21. 03(10). Enero 2019. https://issuu.com/agro21/docs/ruralagro21_ed_10 (Accesada en junio de 2024).
- Soto, I. M., Hasson, E. R. y Manfrin, M. H. (2008). **Wing morphology is related to host plants in cactophilic *Drosophila gouveai* and *Drosophila antonietae* (Diptera: Drosophilidae)**. *Journal of the Linnean Society*, 95(4), 655-665.
- Stocks, S. D. y A. Hodges. (2011). **European pepper moth or Southern European marsh pyralid *Duponchelia fovealis* (Zeller)**. <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/IN910> (Accesada en junio de 2024).
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., y Kumar, S. (2011). **MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods**. *Molecular Biology and Evolution*, 28, 2731-2739. DOI: 10.1093/molbev/msr121
- Toro-Ibacache, M. V., Manriquez-Soto, G. y 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, 977-990. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022010000400001>
- Torres, F., Rodríguez, M. A., Lavandero, B. y Fuentes-Contreras, E. (2015). **Body mass and wing geometric morphology of the codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) according to sex, location and host plant in the region of Maule, Chile**. *Ciencia e investigación agraria*, 42(3), 397-406. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202015000300008>
- Villalobos-Leiva, A. y Benítez, H. A. (2020). **Morfometría geométrica y sus nuevas aplicaciones en ecología y biología evolutiva. Parte 2**. *International Journal of Morphology*, 38, 1818-1836. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022020000601818>

- Wang, H., Zhong, X., Lin, H., Li, S., Yi, J., Zhang, G., Liu, X. y Gu, L. (2021). **Genetic diversity and population structure of *Gynaephora qinghaiensis* in Yushu Prefecture, Qinghai Province Based on the Mitochondrial COI Gene.** *Biochemical Genetics*, 59,1396-1412. DOI: 10.1007/s10528-021-10065-8
- Willmott, A. P., y Ellington, C. P. (1997). **The mechanics of flight in the hawkmoth *Manduca sexta*. II. Aerodynamic consequences of kinematic and morphological variation.** *The Journal of experimental biology*, 200(Pt 21), 2723-2745. DOI: 10.1242/jeb.200.21.2723
- Zahiri, R., Sarafrazi, A., Salehi, L. y Kunkel, Joseph. (2006). **A geometric morphometric study on populations of Rice Stem Borer, *Chilo suppressalis* W. (Lep.: Crambidae) in northern Iran.** *Zoology in the Middle East*, 38, 73-84. DOI: 10.1080/09397140.2006.10638168
- Zawadneak, M. A., Gonçalves, R. B., Pimentel, I. C., Schuber, J. M., Santos, B., Poltronieri, A. S. y Solis, M. (2016). **First record of *Duponchelia fovealis* (Lepidoptera: Crambidae) in South America.** *Idesia (Arica)*, 34 (3), 91-95. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292016000300011>.
- Zawadneak, M. A. C., Vidal, H. R. y Santos, B. (2015). **Lagarta-dacoroa, *Duponchelia fovealis* Zeller.** En: Vilela E. F. y Zucchi R. A. (Eds) **Pragas Introduzidas no Brasil, insetos e ácaros.** FEALQ. Brasil. pp. 280-298.
- Zelditch M. L., Swiderski, D. L, Sheets, D. y Fink, W. L. (2012). **Geometric morphometrics for biologists. A Primer.** 2a. ed. Academic Press. 443 pp.
- Zhong M., G. Hill, J. P. Gómez, D. Plotkin, J. R. Barber y A. Y. Kawahara. (2016). **Quantifying wing shape and size of saturniid moths with geometric morphometrics.** *Journal of the Lepidopterists' Society*, 70, 99-1. <https://doi.org/10.18473/lepi.70i2.a4>

Andrea Zermeño Bucio

Variación morfológica y genética de diferentes poblaciones de la palomilla europea del pimiento, *Duponchelia fovealis* Zeller ...

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::3117:557529403

Fecha de entrega

16 feb 2026, 12:28 p.m. GMT-6

Fecha de descarga

16 feb 2026, 12:32 p.m. GMT-6

Nombre del archivo

Variación morfológica y genética de diferentes poblaciones de la palomilla europea del pimiento....pdf

Tamaño del archivo

5.8 MB

51 páginas

12.360 palabras

71.784 caracteres

9% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

- 9%  Fuentes de Internet
- 3%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas	
Título del trabajo	Variación morfológica y genética de diferentes poblaciones de la palomilla europea del pimiento, <i>Duponchelia fovealis</i> Zeller (Lepidoptera: Crambidae)	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	L. Bt. Andrea Zermeño Bucio	1341848b@umich.mx
Director	Dra. Ana Mabel Martínez Castillo	ana.martinez@umich.mx
Codirector	Dr. Samuel Pineda Guillermo	samuel.pineda@umich.mx
Coordinador del programa	Dra. Rosa Elvira Núñez Anita	mae.ciencias.biologicas@umich.mx

Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	no	

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	no	
Traducción a otra lengua	no	
Revisión y corrección de estilo	no	
Análisis de datos	no	
Búsqueda y organización de información	no	
Formateo de las referencias bibliográficas	no	
Generación de contenido multimedia	no	
Otro	no	

Datos del solicitante	
Nombre y firma	Andrea Zermeño Bucio 
Lugar y fecha	Morelia, Michoacán, a 13 de febrero de 2026