



UNIVERSIDAD VERACRUZANA



Inbioteca

**INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y ECOLOGÍA APLICADA**

**Maestría en Ciencias en Ecología y Biotecnología**

*Hypsipyla grandella* (Zeller, 1849) EN MÉXICO.

¿UNA SOLA ESPECIE?

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS EN

ECOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA

**P R E S E N T A**

BIOL. GUADALUPE ESTEFANÍA PÉREZ RAMÍREZ

**DIRECTOR**

Dr. ANTONIO ANDRADE TORRES

**CODIRECTOR:**

Dr. LUIS ALBERTO LARA PÉREZ

**XALAPA, VER.**

**Abril, 2021.**

## RESULTADO DE LA EVALUACIÓN DEL DOCUMENTO DE TESIS DE MAESTRÍA

### C. Guadalupe Estefanía Pérez Ramírez

Estudiante del Posgrado INBIOTECA,  
Maestría en Ciencias en Ecología y Biotecnología.

PRESENTE

Por este conducto se hace de su conocimiento que el Comité Revisor de su Tesis de Maestría ha evaluado su documento intitulado “*Hypsipyla grandella* (Zeller, 1849) en México. ¿Una sola especie?” y ha emitido el veredicto de **ACEPTADO** ya que **SÍ** reúne los elementos suficientes de fondo y forma.

Se autoriza continuar con los trámites administrativos para la obtención del grado en la Coordinación del Posgrado INBIOTECA.

Xalapa de Enríquez, Ver., a 11 de abril de 2021  
“Lis de Veracruz: Arte, Ciencia, Luz”

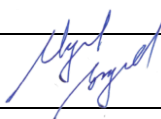
Presidente: Dra. Diana Folger Pérez-Staples



Secretario: Dr. Juan Carlos Noa Carranza



Vocal: Dr. Miguel Ángel Vallejo Reyna



Suplente: Dr. Maurilio López Ortega



C.c.p. Expediente correspondiente

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA

---

ECOBLOT-18DAR

DECLARATORIA DE AUTORIA

Quien suscribe **Guadalupe Estefanía Pérez Ramírez (S18016227)** estudiante de la Maestría en Ciencias en Ecología y Biotecnología, hace constar que es autora del Trabajo para la obtención del Grado de Maestría intitulado: ***Hypsipyla grandella* (Zeller, 1849) en México. ¿Una sola especie?**, el cual constituye la elaboración personal realizada únicamente con la Dirección del Comité Tutorial siguiente:  
**Director: Dr. Antonio Andrade Torres**

**Codirector: Dr. Luis Alberto Lara Pérez**

**Asesor: Francisco Díaz Fleischer**

En tal sentido, manifiesto la originalidad de los conceptos, base de datos registrados (Bitácora), interpretación de los datos, conclusiones y recomendaciones. Por último, dejo establecido que los aportes intelectuales de otros autores se han referido debidamente en el texto y en la sección de literatura citada de dicho trabajo.



**Guadalupe Estefanía Pérez Ramírez**

Xalapa de Enríquez, Veracruz, a 28 de Abril de 2021.

---

## MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA

*ECOBIOT-17A*

### AGRADECIMIENTOS Y CREDITOS INSTITUCIONALES

El presente trabajo se realizó bajo la codirección de los académicos **Dr. Antonio Andrade Torres** y **Luis Alberto Lara Pérez**, dentro de la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento del programa de posgrado: **Ecología y Manejo de la biodiversidad de genes a ecosistemas (LGAC 2)**, y la (LGAC) **Biotecnología y Ecología de organismos simbióticos**, registrada por el Cuerpos Académico: “**CA-UVER-173**” **Ecología y Manejo de la Biodiversidad**, ambas líneas del **Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada** de la Universidad Veracruzana en Xalapa, Veracruz; así mismo se trabajó dentro de la LGAC “**ITLZMCA-1 I**” **Agroecosistemas y Biodiversidad** registrada en el **Instituto Tecnológico de la Zona Maya** en Chetumal, Quintana Roo.

El trabajo de Maestría se desarrolló dentro del proyecto: **Biotecnología y ecología de *Cedrela odorata* L.**, registrado en la LGAC Biotecnología y ecología de organismos simbióticos adscrita al CA-UVER-173 Ecología y manejo de la biodiversidad.

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su apoyo al estudiante con una beca académica bajo el N° de becaria **875894**.

Se agradece al programa de posgrado de Maestría en Ciencias en Ecología y Biotecnología, siendo la Coordinadora la Dra. **Ana Elena Dorantes Acosta** y al Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada siendo director el Dr. **Antonio Andrade Torres**.

Xalapa de Enríquez, Veracruz, a 28 de abril de 2021.

## AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** por otorgarme soporte económico a través del financiamiento de la beca de Maestría, gracias a la cual pude realizar mis estudios de posgrado.

Al **Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada (INBIOTECA), Universidad Veracruzana (UV)**, por permitir continuar con mi formación académica.

Al **Dr. Antonio Andrade-Torres**, Investigador del INBIOTECA, UV, por fungir como Director de este trabajo. Agradezco su asesoría, sus consejos, su continua atención en para fortalecer mi formación, gracias a lo cual esta tesis se hizo realidad.

Al **Dr. Luis Alberto Lara Pérez**, por fungir como codirector de este trabajo. Agradezco su apoyo y orientación en mi etapa como estudiante de posgrado.

Al **Dr. Francisco Díaz-Fleischer**, Investigador del INBIOTECA, UV, quien fungió como Asesor del presente proyecto, gracias por su asesoría, observaciones, comentarios, sugerencias y el apoyo brindado para realizar mis estudios de Maestría.

A los miembros del Jurado de Examen de Grado, **Dra. Diana Folger Pérez-Staples, Dr. Juan Carlos Noa Carranza, Dr. Miguel Ángel Vallejo Reyna, Dr. Maurilio López Ortega** por su valiosas observaciones, correcciones, sugerencias y comentarios.

A los **profesores** del programa por sus valiosos conocimientos y enseñanzas transmitidos.

A **todos mis compañeros de la generación 2018-2020** de la Maestría en Ecología y Biotecnología de INBIOTECA por todos los momentos de nuestra formación académica.

Al **Dr. Christian H. Del Ángel Piña**. Gracias por los momentos de apoyo en las actividades de campo y en el laboratorio.

Al **Mtra. Aline Graciela Ruiz Cazares**, compañera de posgrado. Gracias por los momentos de apoyo en las actividades de campo, comentarios y sugerencias.

Al **Mtro. Rubén Fernando Guzmán Olmos**, compañero de posgrado. Gracias por los momentos de apoyo en las actividades de campo.

Al **Mtra. Inés Margarita Zavala Izquierdo** compañera de posgrado. Gracias por los momentos de apoyo en las actividades de laboratorio.

**Al Biólogo Rogelio Lara González** por su apoyo en todo lo referente al laboratorio de ecología en INBIOTECA. Y

**Al personal administrativo del INBIOTECA,** por su cortesía y disponibilidad en los trámites durante mis estudios de maestría.

## **DEDICATORIA**

*Dedico este trabajo a mis padres Judith e Irineo, por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad; muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este. Me motivaron constantemente para alcanzar mis metas.*

*A mis hermanos por apoyarme toda mi trayectoria y darme ánimo de seguir adelante.*

## ABREVIATURAS

<u>Abreviatura</u>	<u>Significado</u>
ADN:	Ácido desoxirribonucleico
COI:	Citocromo oxidasa I
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
KOH	Hidróxido de potasio
cm	Centímetros
mm	milímetros
m	metro
pb	pares de bases
PCR:	Reacción en cadena de la polimerasa
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar
sp.	Especie
h.	horas
mg.	Miligramos
SEMARNAT	Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales
PCA	Análisis de componentes principales



## RESUMEN GENERAL

*Cedrela odorata* es la segunda especie forestal tropical de mayor valor económico después de *Swietenia macrophylla*. Sin embargo, se ve afectado por el ataque de *Hypsipyla grandella* (barrenador de las meliáceas) se considera la principal plaga del cedro rojo, ya que ocasiona severos daños en el tronco del árbol. Estudios recientes sugieren que *C. odorata* tiene 12 haplotipos a lo largo de su distribución en Centro América y México, sin embargo, no hay estudios respecto a *H. grandella*, que lo acompaña en toda su distribución. El objetivo del presente estudio fue conocer la variabilidad morfológica y genética de *H. grandella*. Se realizaron muestreos directos en árboles con daño. Se colectaron larvas y pupas de *H. grandella*. Las larvas se pusieron para cría para obtener adultos, las pupas fueron sexuadas. Hicimos observaciones macroscópicas y microscópicas de la morfología interna y externa de los adultos. Se elaboraron análisis morfométrico con la genitalia de hembras y machos. Realizamos la extracción de ADN, amplificación de las regiones COI por PCR y secuenciación. El material colectado se resguardo en el Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada (INBIOTECA). Presentamos descripción acompañada con evidencia fotográfica. Los resultados muestran diferencias morfológicas en palpo labial, pelos sensoriales y en la genitalia de hembras y machos. Se encontró poca variabilidad genética en *H. grandella*.

**Palabras claves:** Pyralidae, morfología, molecular

# ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS Y CREDITOS INSTITUCIONALES .....	ii
AGRADECIMIENTOS .....	iii
<i>DEDICATORIA</i> .....	v
ABREVIATURAS .....	vi
RESUMEN GENERAL .....	vii
ÍNDICE .....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS .....	ix
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. ESTADO DEL ARTE .....	2
2.1. Biogeografía vegetal .....	2
2.1.1. Especiación .....	3
2.2. <i>Cedrela odorata</i> (Linneo, 1753) .....	4
2.2.1. Importancia de <i>Cedrela odorata</i> .....	5
2.3. Estudios moleculares en <i>Cedrela odorata</i> .....	6
2.4. Plagas de <i>Cedrela odorata</i> .....	6
3. <i>Hypsipyla grandella</i> (Zeller, 1849) .....	7
3.1. Distribución de <i>Hypsipyla grandella</i> .....	8
3.2. Ciclo de vida de <i>Hypsipyla grandella</i> .....	9
3.3. Manejo de la plaga <i>Hypsipyla grandella</i> .....	11
3.4. Estudio molecular en la familia <i>Pyralidea</i> .....	11
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN .....	12
5. HIPÓTESIS .....	12
6. OBJETIVOS .....	13
Objetivo general .....	13
Objetivos específicos .....	13
7. MÉTODO .....	13
8. RESULTADOS .....	19
8.1. Análisis morfológico .....	19
Descripción del adulto de <i>Hypsipyla grandella</i> .....	20

8.2. Análisis morfométricos .....	24
8.3. Análisis molecular.....	25
9. DISCUSIÓN.....	30
10. CONCLUSIÓN .....	33
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	33

## ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS

<b>Figura 1.</b> <i>Cedrela odorata</i> (Tomada de Sepulveda, 2001).....	4
<b>Figura 2.</b> Adulto y larva de la <i>Hypsipyla grandella</i> (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019) .....	8
<b>Figura 3.</b> Distribución geográfica de <i>H. grandella</i> en América.....	9
<b>Figura 4.</b> Ciclo biológico de <i>H. grandella</i> . A) Huevo, B) larva, C) pupa, D) pupa con seda y E) adulto. (Modificada de Tavares de Castro et al., 2016).....	10
<b>Figura 5.</b> Mapa de sitios de muestreo en el estado de Veracruz (modificado de INEGI 2016 mediante el programa Arc View Gis 3.2).....	14
<b>Figura 6.</b> Mapa de sitios de muestreo en el estado de Yucatán (modificado de INEGI 2016 mediante el programa Arc View Gis 3.2).....	14
<b>Figura 7.</b> Árboles jóvenes con daños causados por la larva de <i>Hypsipyla grandella</i> (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019).....	15
<b>Figura 8.</b> Pupa de <i>Hypsipyla grandella</i> con seda (A) y sin seda (B), (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019).....	15
<b>Figura 9.</b> Pupas de ambos sexos de <i>H. grandella</i> , resaltando la abertura genital, que es clave para diferenciar los sexo (Tomada de Vargas et al., 2001) .....	16
<b>Figura 10.</b> Digitalización de puntos (landmarks) en contorno de la transtilla del macho y signum de la hembra (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019). .....	17
<b>Figura 11.</b> Secuencias de <i>Hypsipyla grandella</i> . .....	19
<b>Figura 12.</b> Adultos montados de <i>H. grandella</i> (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019).....	21
<b>Figura 13.</b> Cabeza de <i>Hypsipyla grandella</i> de hembras (A-F) y machos (G-N) en diferentes localidades de Veracruz, México. De Izquierda a derecha, ♀ Tlaltetela A-E, Tuzamapan F ♂ Tlaltetela G, Actopan H-J, Mahuixtlan K-M, Tuzamapan N. Barra de escala=10mm (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019).....	22
<b>Figura 14.</b> Antenas de <i>Hypsipyla grandella</i> de hembras (A-F) y machos (G-N). Presencia y ausencia de pelos sensoriales de izquierda a derecha ♀ Tlaltetela A-E, Tuzamapan F ♂ Tlaltetela G, Actopan H-J, Mahuixtlan K-M, Tuzamapan N. Barra de escala= 10mm (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019).....	22
<b>Figura 15.</b> Genitalia de hembra de <i>Hypsipyla grandella</i> en la localidad de Tlaltetela (A-E), localidad de Tuzamapan (F), diferencias en el signum, en la corpus bursae, lamela	

postvaginalis y en el ductus seminalis Barra de escala = 1 mm (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019).....	23
<b>Figura 16.</b> Genitalia de machos de <i>Hypsipyla grandella</i> en la localidad de Tlaltetela (A), localidad de Actopan (B-D), localidad de Mahuixtlan (E-G), localidad de Tuzamapan (H) diferencias en la forma de adeagus y trastilla. Barra de escala= 1 mm (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019).....	23
<b>Figura 17.</b> Gráfico de PCA de los puntos de referencia de los signum de las hembras. Se resalta con un circo la clasificación de los grupos (Tl. Tlaltetela, Tu. Tuzamapan). .....	24
<b>Figura 18.</b> Gráfico de PCA de los puntos de referencia de la transtilla del macho. Se Resalta con un circulo la clasificación de los grupos (Ac. Actopan, Ma. Mahuixtlan, Tl. Tlaltetela y Tu. Tuzamapan).....	25
<b>Figura 19.</b> Árbol Neighbor-joining del gen COI del género <i>Hypsipyla</i> basado en el modelo Kimura 2 con sustitución de nucleótidos y bootstrap con 1000 repeticiones basado en distancias K2P. ....	26
<b>Figura 20.</b> Árbol Neighbor-Joining (K2P) para 79 secuencias COI ( $\geq 500$ pb) del género <i>Hypsipyla</i> . La profundidad de cada rama muestra la divergencia dentro de cada especie. Tres letras seguidas de cuatro números indican el número de índice de códigos de barras (BIN). .....	28
<b>Figura 21.</b> Diagramas de dispersión para confirmar la existencia y la magnitud de la distancia del código de barras (Barcode Gap) del género <i>Hypsipyla</i> disponibles en el Bold System ( <a href="http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine">http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine</a> ). Superposición de las distancias intraespecíficas máxima y media frente a las distancias interespecíficas (vecino más cercano). .....	29
<b>Figura 22.</b> Pupa de <i>Hypsipyla grandella</i> con daño de hongo y parasitoide. Barra de escala =1mm (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019). .....	30
<b>Cuadro 1.</b> Diferencias morfológicas de adultos en diferentes localidades del Estado de Veracruz. Tlal. Tlaltetela; Act. Actopan; Mahu. Mahuixtlan; Tuza, Tuzamanpan. El color se basó en la tabla de Munsell.....	20
<b>Cuadro 2.</b> Máximas distancias intraespecíficas (Maximum Pairwise Distances) de <i>Hypsipyla grandella</i> agrupadas por países. El análisis estuvo basado en 658 secuencias de pb y distancias K2P. Las distancias se presentan en porcentaje (%). .....	26
<b>Cuadro 3.</b> Comparación de la variación genética entre especies del género <i>Hypsipyla</i> . Valores intraespecíficos medios y máximos de cada especie comparada con la distancia del vecino más cercano. Las distancias se analizaron con el Modelo 2 Kimura del gen COI con alineamiento BOLD con secuencias mayores a 500pb de secuencias disponibles en el Bold System ( <a href="http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine">http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine</a> ). .....	29

## 1. INTRODUCCIÓN

El orden Lepidoptera es el segundo grupo de insectos más diverso en el mundo, con más de 150 000 especies, solo superado por el orden Coleoptera. Muchas de estas especies tienen un impacto negativo y son unas de las principales plagas en la agricultura. No obstante, otras son benéficas por su importancia en la polinización y fuente de alimento de otras especies. Dicho orden empezó a tomar interés de los genetistas en la década de 1960 cuando se realizaron realizando estudios de herencia ligada al sexo en *Abraxas grossulariata* y en *Ephestia kuehniella* observando mutaciones en el pigmento ocular y desarrollando la hipótesis de un gen-una enzima (Roe *et al.*, 2010).

Los lepidópteros son usados como un sistema modelo en diversas áreas como la genética, biología, ecología, evolución, gracias a sus características biológicas como la variedad de patrón de color del ala y la morfología de las larvas (Roe *et al.*, 2010). Así mismo se han caracterizado por presentar una amplia radiación adaptativa, debido al proceso de diferenciación de los genes que controlan el comportamiento, la morfología y la fisiología, además de su co-evolución con sus plantas hospederas, lo cual ha generado una gran variedad de especies (Hebert *et al.*, 2004).

Las adaptaciones que tienen las especies específicas, han permitido distinguir especies crípticas. En este sentido, se entiende como especie a aquellos organismos capaces de entrecruzarse entre sí y producir descendencia fértil. No obstante, las especies crípticas son aquellas que no son distinguibles morfológicamente pero son genéticamente diferentes. Un ejemplo de ello son especies como *Spodoptera frugiperda*, *S. ornithogalli* y *S. sunia* plaga de diversos cultivos de maíz, algodón, sorgo, arroz, maní, entre otros. *Astrartes fulgerator* en cultivo de Trigo, *Automeris zugana* en *Quercus* y *Salix*, *Xylophanes porcus*, *Xylophanes libia* en Rubiaceae, *Manduca sexta* y *Pachylia sp.* en *Ficus* (Santos *et al.*, 2009; Gallego, 2010).

El género *Hypsipylla* incluye alrededor de once especies a nivel mundial, dos de ellas son plaga de importancia económica en especies maderables pertenecientes a la Familia Meliaceae. *Hypsipylla grandella* se encuentra en el continente Americano e *H. robusta* en el oriente y occidente de África, Asia (Briceño, 1997; Loayza, 1978; Griffiths, 2001). *H. grandella* tiene una amplia distribución en el continente americano que va desde el sur de

Florida (EEUU), hasta el norte de Argentina, causa daños en plantaciones de *Swietenia macrophylla* y *Cedrela odorata* especies que coinciden con la distribución de su huésped *H. grandella*. Las larvas de la especie se alimentan principalmente de los tejidos vasculares de ramas y tallos, produciendo galerías en el árbol hospedero, ocasionando la ramificación del árbol y surcos en el tronco; si el ataque es severo puede causar la muerte del mismo. También pueden alimentarse de las capsulas de las semillas cuando no hay suficiente alimento (Howard y Merida, 2005). Dada la amplia distribución de *C. odorata* se ha encontrado que, a pesar de no diferir en su morfología a lo largo de toda su distribución, ésta especie presenta gran variabilidad genética, por lo que en ocasiones se considera como un complejo críptico (Caver *et al.*, 2013). Considerando la fuerte interacción que tienen ambas especies, es pertinente estudiar la variabilidad morfológica y genética de *H. grandella*, por lo tanto este trabajo pretende conocer las diferencias morfológicas y genéticas de *este lepidóptero* en México.

## **2. ESTADO DEL ARTE**

### **2.1. Biogeografía vegetal**

La biogeografía es la ciencia que estudia la distribución geográfica de los seres vivos y sus cambios a través del tiempo, siendo su objetivo principal describir y comprender los patrones de distribución geográfica de las especies (Morrone, 2000). La tierra ha sufrido diversos cambios debido principalmente a la actividad volcánica, durante los periodos Mioceno y Pleistoceno que han permitido distintas adaptaciones de las especies a su entorno (Halffter *et al.*, 2008). La región neotropical tiene una historia geológica compleja que involucró cambios drásticos en el paisaje, estos eventos paleogeográficos actuaron como impulsores de la diversificación de las especies. Ejemplo de lo anterior son la aparición del río Amazonas, la elevación andina como divisores de poblaciones o bien, el Istmo de Panamá, que conectó biotas anteriormente aisladas de América del Norte y del Sur (Woodburne, 2010). Los cambios climáticos ocurridos durante el Pleistoceno fueron los principales factores para la especiación geográfica y la distribución actual de las especies (Rull, 2006). La filogeografía estudia los aspectos históricos de la distribución geográfica de los linajes

genealógicos esto ha sido útil para describir procesos que afectan la estructura una población o que causan especiación.

### **2.1.1. Especiación**

La especiación es el proceso a través del cual se forman nuevas especies producto de diferentes combinaciones génicas en poblaciones separadas, implicando la falta de flujo génico entre las poblaciones, dicho fenómeno da origen a dos formas principales de especiación (Arbeláez *et al.*, 2015). La especiación aditiva, consiste en la evolución de dos o más especies a partir de un ancestro en común y la especiación reductiva es la reducción del número de especies. Sin embargo, se reconocen tres modelos principales de especiación geográfica de acuerdo con el grado de separación entre las poblaciones implicadas durante el proceso: alopatría, parapatría y simpatría (Becerra *et al.*, 2015).

La especiación alopátrica implica un aislamiento entre poblaciones de una especie por las separaciones geográficas, ésta a menudo está dividida por dos formas vicarianza y peripatría (Coyne y Orr, 2004). En la vicarianza, es el aislamiento reproductivo que se debe a la aparición de una barrera, causada por eventos climáticos o geológicos impidiendo la reproducción entre ambas poblaciones y por tanto el flujo génico, permitiendo que las poblaciones diverjan por deriva génica o selección natural, la peripatría es una pequeña población aislada de la original, a causa de la búsqueda de un nuevo nicho (Rull, 2008).

La especiación parapátrica es el aislamiento entre dos poblaciones que mantiene flujo génico limitado a través de una zona durante el proceso de divergencia, implicando una adaptación de las poblaciones sus hábitats locales (Gravilets *et al.*, 2000).

La especiación simpátrica es la formación de una especie a través de la variación genética entre las poblaciones, sin que exista una separación geográfica (Gravilets *et al.*, 2000). Ejemplos de esto son las polillas como *Ostrinia nubilalis* que han evolucionado en dos razas asociadas al maíz y a la artemisia en Francia, *Yponomeuta padellus* se encuentra asociada a plantas de espino y de ciruelo en los Estados Unidos, *Zeiraphera diniana* se da en plantas de alerce y pino en Europa y *Spodoptera frugiperda* es la principal plaga en gramíneas y diferentes razas están asociadas al maíz y arroz (Gallego, 2010). Otro ejemplo

es la mosca de la fruta *Rhagoletis pomonella* se encuentra asociada a *Crataegus* sp, pero han aparecido razas de la misma especie en cerezo (Feder *et al.*, 1988).

## 2.2. *Cedrela odorata* (Linneo, 1753)

*Cedrela odorata* es una especie arbórea nativa de América (Fig. 1), en poblaciones naturales se distribuye desde el norte de México hasta el norte de Argentina incluidas las islas del Caribe. Esta especie ha sido introducida en diversas regiones de África, sur de Florida y las Islas Fiji (Van der Hout, 2015). En México, *C. odorata* es conocido comúnmente como cedro rojo (Pennington y Sarukhán, 1998) y se puede encontrar sobre la vertiente del Golfo de México, desde Tamaulipas hasta la península de Yucatán y en el Pacífico, desde Sinaloa hasta Guerrero y la costa de Chiapas (Patiño, 1997). Ocupa altitudes que van desde el nivel del mar hasta los 1200 m.s.n.m. (Hernández Ramos *et al.*, 2018).



**Figura 1.** *Cedrela odorata* (Tomada de Sepulveda, 2001)

El ciclo reproductivo del cedro esta sincronizado con la época de lluvias, en México comienza a florecer de mayo a agosto, en Argentina es de septiembre a octubre, en Colombia de abril a junio, con un segundo periodo de septiembre a noviembre (Marroquín, 1988). Se caracteriza por tener una altura de 35 m de alto y 1.5 m de diámetro. Presenta hojas compuestas, las cuales emiten un penetrante olor a ajo (Varela y Souki, 2013).



### 2.2.1. Importancia de *Cedrela odorata*

*Cedrela odorata* ecológicamente puede presentarse como una especie secundaria o primaria a la vez, pues se ha encontrado como pionera en la vegetación secundaria de diversas selvas y bosques, además de tener un potencial para la reforestación en zonas degradadas de selva (Andrade y Solís, 2004). Además, se han usado sus metabolitos secundarios para inhibir el crecimiento de los insectos (De Paula *et al.*, 1997).

En Costa Rica se realizó un estudio al aceite natural del tallo donde se encontró la presencia de sesquiterpenos como  $\beta$ -cariofileno y en el aceite de la corteza se hallaron sesquiterpenos hidrocarbonados como  $\beta$ -elemeno, D-germacreno y  $\beta$ -acoradieno, así mismo compuestos fenólicos como metilcumarinas y furanocumarinas, flavonoides como la quercitina los cuales promueven la resistencia contra la larva de *Hypsipyla grandella* (Mariscal-Lucero, 2014). Varias partes del árbol (hojas, tallo, raíz y semilla) tienen usos medicinales en el centro y sur del país, ya que se utiliza para dolor e infección de boca y oídos, para tratar problemas de gastritis, diarrea, indigestión, vómitos, dolor de estómago y como antiinflamatorio (Andrade y Solís, 2004).

Aunado a la anterior *C. odorata* tiene alto valor económico, ya que su madera se considera como fina y preciosa, se estima que en México el valor de la madera es de \$2 511.000 por m<sup>3</sup> (SIPRE, 2016). La madera es usada para la fabricación de muebles, instrumentos musicales, artesanías y de ornato en áreas verdes. Así mismo es usado en comunidades rurales como combustible, sombra en potreros, cafetales y plantaciones de cacao (Ruiz-Jiménez *et al.*, 2018). La sobreexplotación de árboles de cedro rojo por uso maderable, son la causa principal de la deforestación de sus bosques.

Debido a lo anterior *C. odorata* está considerada como una especie vulnerable por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, 2011) en su lista roja, además está dentro del Apéndice III de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre (CITES); en México se encuentra en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 como especie sujeta a protección especial (SEMARNAT, 2010).

### 2.3. Estudios moleculares en *Cedrela odorata*

Estudios previos en América Central basados en marcadores moleculares sobre *C. odorata* han demostrado diferenciación genética entre los tipos del norte (noroeste de Costa Rica a México), los cuales se adaptan a la sequía, y los del sur (este y sureste de Costa Rica a Panamá), adaptados a lluvias (Navarro *et al.*, 2004; Cavers *et al.*, 2003a, b). Una revisión basada en datos moleculares, mostró la presencia de al menos tres linajes genéticos dentro de *C. odorata*, donde caracterizaron 22 haplotipos de Honduras hasta Brasil (Caver *et al.*, 2013).

En un estudio en la Amazonia peruana se determinó la estructura poblacional, la diversidad genética y la distancia geográfica entre poblaciones de *C. odorata* donde se observó un 99% de polimorfismo entre los individuos de las poblaciones así como una variación del 98% entre las poblaciones estudiadas la cual también se reflejó en la distancia geográfica (De la Torre *et al.*, 2008).

En Costa Rica se utilizaron marcadores microsatelites para determinar la diversidad genética y el sistema de apareamiento en *C. odorata* y se observó una gran variabilidad genética así como exogamia (Hernández *et al.*, 2018). En México se han realizado estudios en poblaciones de *C. odorata* en los estados de Hidalgo y Tabasco, encontrando en Tabasco baja variabilidad genética y en Hidalgo variabilidad genética alta, además de exogamia y polimorfismo en las poblaciones (Leshner *et al.*, 2018; Macelo, 2018).

### 2.4. Plagas de *Cedrela odorata*

Las plantaciones forestales tienen varios problemas fitosanitarios como ataques de plagas y enfermedades, el cedro no es la excepción ya que durante su desarrollo puede ser atacado por muchas plagas. Las termitas de las especies *Coptotermes crassus* (Snyder) afectan la parte central del tronco y mientras que *Heterotermes aureus* (Snyder), forma en la madera senderos cubiertos con tierra, ataca principalmente durante la primavera. Los escarabajos de las especies *Xyleborus volvulus* (Fabricius) manchan la madera y *Xyleborus ferrugineus* (Fabricius) pueden infectar al árbol con el hongo *Ceratocystis fimbriata* (Ell y Halst) el cual causa la marchitez del tallo y raíz (Taringa *et al.*, 2010). *Hypsipylla grandella* (Zeller) ataca los brotes nuevos de las plantas y si el ataque es masivo es capaz de matar a la

plántula. Finalmente las hormigas de *Atta cephalotes* (Linneo) causan la defoliación de sus hojas (Ruiz-Cancino y Coronado-Blanco, 2010).

Entre todas las plagas mencionadas la que destaca es *H. grandella* por causar daños económicamente importantes ya que, durante su desarrollo, las larvas se alimentan de los tejidos vasculares de ramas y tallos, produciendo galerías en el hospedero, lo cual ocasiona la ramificación del árbol, surcos y en ocasiones la muerte si el ataque es constante, debido a esto, el valor comercial de la madera es afectado de forma considerable (Howard y Merida, 2005).

### **3. *Hypsipyla grandella* (Zeller, 1849)**

El género *Hypsipyla* incluye alrededor de once especies a nivel mundial, algunas de ellas son plaga de importancia económica. Cuatro taxones se encuentran en el continente americano, las cuales son *H. dorsimaculata*, *H. fluviatela*, *H. ferrealis* e *H. grandella*; siendo esta última la especie de mayor importancia debido a los daños que genera en plantaciones forestales de árboles que producen maderas preciosas (Fig. 2). *H. grandella* pertenece a la familia Pyralidae, subfamilia Phycitinae y es conocida como el barrenador de las Meliaceae. Este insecto limita el establecimiento de plantaciones comerciales de caoba (*Swietenia spp.*) y cedro (*Cedrela spp.*) debido a la coevolución que tiene con sus hospederos (Cauch-Ramírez, 2004; Griffiths, 2001).



**Figura 2.** Adulto y larva de la *Hypsipylla grandella* (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019)

En insectos se ha observado la importancia en la morfología y variabilidad de los genitales, principalmente en órdenes como *Diptera*, *Coleoptera* y *Lepidoptera*, las características particulares de los genitales masculinos (genitalia), que son una características morfológica muy versátiles y trascendentes en la taxonomía, ya que suelen ser muy particulares en aquellas especies relacionadas filogenéticamente (Solano y Ramirez, 2015; Villalobos, 2013). En algunos casos, en especies crípticas puede o no existir variación en la genitalia y ser útil para la clasificación taxonómica (Murillo-Hiller, 2007).

### **3.1. Distribución de *Hypsipylla grandella***

La especie presenta una amplia distribución en el continente americano, desde el sur de Florida (EEUU) hasta Argentina, incluyendo las islas del Caribe (Fig. 3). En México, existen registros de la presencia de *H. grandella* en los estados del Golfo de México desde Veracruz hasta Yucatán, también existen registros en Oaxaca y Chiapas (Ruiz-Cancino y Coronado-Blanco, 2010). En el estado de Veracruz hay registros de presencia de *H. grandella* en árboles de cedro en las localidades Mahuixtlan en el municipio de Coatepec (Barradas, 2016), también se tiene conocimiento de su presencia en los municipio de Actopan

(coms.pers F. Díaz Fleischer) y en el municipio de Tlaltetela (coms.pers Guillermo Hernández Morales).



**Figura 3.** Distribución geográfica de *H. grandella* en América (Tomado de Griffiths, 2001)

### 3.2. Ciclo de vida de *Hypsipyla grandella*

*Hypsipyla grandella* es una mariposa nocturna que durante su ciclo de vida presenta metamorfosis, pasando por las fases de huevo, larva, pupa y adulto (Fig. 4). El desarrollo de este organismo tiene una duración aproximada de cinco semanas dependiendo de las condiciones ambientales (Tavares *et al.*, 2016).

Los huevos son depositados de forma individual en la noche o en las primeras horas de la mañana, en ocasiones suelen ser depositados en grupos de dos a siete huevos (Hijie y Cornelius, 2001). Estos son ovalados y llegan a medir 0.5 mm de alto y 0.45 mm de diámetro, son blancos cuando se ponen por primera vez y cambian a color a rojo entre las 12 - 24 horas si son fertilizados. En condiciones naturales eclosionan entre 96-120 horas después de la ovoposición, bajo condiciones de laboratorio este periodo varia de 82 - 97 horas (Gómez-Piñerez, 2014).

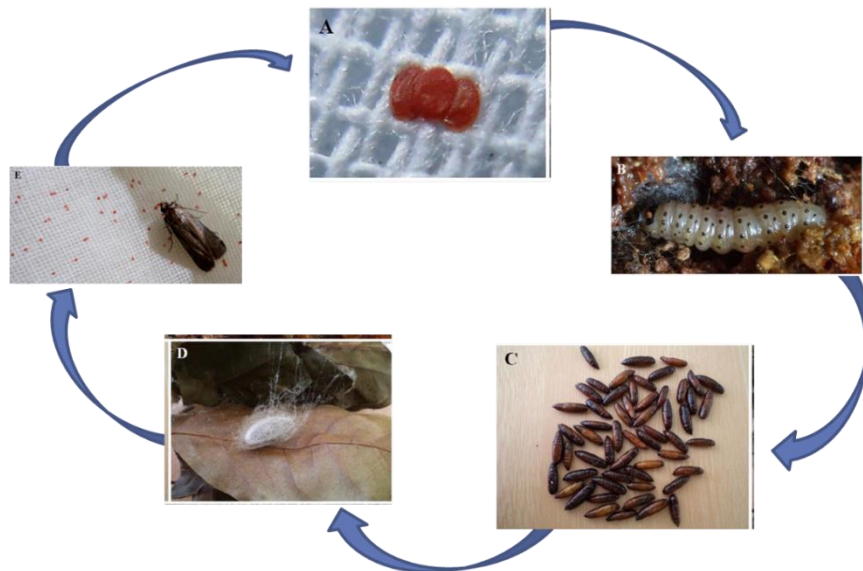
La larva posee tres segmentos torácicos y diez abdominales, presenta tres pares de patas torácicas, cuatro pares abdominales de pseudopatas y un par anal. La cabeza es de color marrón, el color del cuerpo cambia a medida que el insecto se desarrolla. La etapa de larva consta de seis instares (mudas de crecimiento), en los primeros instares (I - IV) la larva es de

color crema y en el último instar (V-VI) se torna a color azul-verde (Vargas *et al.*, 2001). La duración de la larva varía de 30 – 104 días dependiendo de las condiciones ambientales (Tavares *et al.*, 2016).

Después de la eclosión del huevo, en el primer instar la larva llega a penetrar los brotes nuevos de la planta, mientras las larvas del instar V y VI se desplazan a la parte superior del tallo principal. Se ha observado canibalismo entre las larvas del instar V y VI hacia las larvas del instar I o II (Gómez-Piñerez, 2014).

Las larvas pupan dentro de las galerías que formaron durante su alimentación. Las pupas son ovaladas de color marrón, están cubiertas por una seda blanca. En el extremo caudal presenta un cremaster (orificio anal) formado por ocho ganchos pequeños (Vargas *et al.*, 2001). El periodo de la pupa varía de 7- 17 días para eclosionar en el adulto (Gómez-Piñerez, 2014).

Los adultos de *H. grandella* poseen palpos labiales y maxilares desarrollados, la cabeza, el cuerpo y patas son de color gris, las alas anteriores son grises, poseen gran cantidad de escamas y presentan un brillo violáceo tenue, las alas posteriores son semi-transparentes, con márgenes oscuros. Los adultos presentan dimorfismo sexual, la hembra suele ser de mayor tamaño con una envergadura alar de 26-32 mm, mientras que el macho son de 24-28 mm. (Gómez-Piñerez, 2014; Barrada, 2016).



**Figura 4.** Ciclo biológico de *H. grandella*. A) Huevo, B) larva, C) pupa, D) pupa con seda y E) adulto. (Modificada de Tavares de Castro *et al.*, 2016)

### **3.3. Manejo de la plaga *Hypsipyla grandella***

Se han usado varios métodos para el control de *H. grandella*, la aplicación de insecticidas químicos es la opción más usada, por su rápida acción y efectos inmediatos en el control de la plaga, para ello se recomienda el uso de Dipterex ya que reduce el 50% del ataque de *H. grandella* (Hochmut, 1981). Prácticas silviculturales plantean la siembra de los árboles en suelos con alto nivel de calcio, ya que con esto el ataque de *H. grandella* es menor (Mariscal-Lucero, 2014). En el control biológico, se emplean enemigos naturales de *H. grandella* (parasitoides, depredadores y entomopatógenos), para regular su población, se han identificado 11 especie de parasitoides pertenecientes a las familias Braconidae, Trichogrammatidae, Ichnemonidae y Chalcididae y moscas (Tachinidae) así como depredadores avispas, chinches y arañas las cuales se alimentan de huevos y larvas (Hilje y Cornelius, 2001). Por otra parte, se encuentran los microorganismos patógenos como *Metarhizium anisopliae* (Sorokin), *Beauveria bassia* (Vuillemin), *Beauveria tenella* y la bacteria *Bacillus thuringiensis* que causan la muerte de *H. grandella*. El uso de los hongos y de la bacteria antes mencionada, se ha visto una reducción del 75 % en el daño causado por dicho lepidóptero (CATIE, 1978; Mariscal-Lucero, 2014).

El control etológico consiste en emplear feromonas de la hembra para atraer al macho, para un monitoreo y poder tener un método de combate directo. La otra opción son metabolitos secundarios que repelen a las hembras para que permanezcan alejadas de los árboles y así evitar la ovoposición (Hijie y Cornelius, 2001).

### **3.4. Estudio molecular en la familia *Pyralidea***

El gen mitocondrial de la citocromo oxidasa I (COI) se ha usado a nivel mundial en trabajos de sistemática molecular donde se propuso un fragmento estandarizado de 658 pb, para determinar las relaciones de filogenia entre especies ya que posee un amplio rango de señal evolutiva en comparación a otros genes mitocondriales (Hebert, 2003).

En un estudio sobre la filogenia molecular de la familia *Pyralidae*, se recolectaron adultos de América del Norte de la subfamilia Phycitinae y de la tribu Phycitini. Para ello utilizaron la identificación morfológica encontrando diferencias evolutivas en cuatro

estructuras morfológicas claves de los adultos, las cuales son: venación del alerón trasero, antenas del macho, palpi maxilar masculinos y modificaciones del abdomen masculino para la dispersión de feromonas, así mismo usaron dos regiones genéticas independientes (COI), se identificaron dos clados que agrupan a distintos géneros de la subfamilia Phycitinae encontrando homoplasia (Roe *et al.*, 2015). En otro estudio se examinó el género *Dioryctria*, se recolectó un total de 66 adultos de 11 especies de América del Norte, para la identificación del ala se utilizó la descripción de Neunzing (1990), además se usó el gen COI donde se identificaron dos grupos de especie con escamas oscuras y escamas claras. Los taxos de escamas oscuras presentaron un clado monofilético en comparación con aquellas de escamas claras que presentaron un clado parafilético (Roe *et al.*, 2011).

Son pocos los estudios que se han llevado a cabo en las especies perteneciente a la familia Pyralidae, inclusive la información molecular y morfológica del género *Hypsipyla* es poca. Por tanto, este trabajo tuvo como objetivo registrar la variabilidad genética y morfológica de *H. grandella* así como elaborar un mapa filogenético.

#### **4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuál es la variabilidad genética y morfológica en poblaciones de *Hypsipyla grandella* asociada a *Cedrela odorata* en México?

#### **5. HIPÓTESIS**

Dada la estrecha relación de *Hypsipyla grandella* con *Cedrela odorata* y considerando la diversidad genética que se ha observado en distintas poblaciones del hospedero en varios países de América, se espera encontrar variabilidad genética y morfológica en poblaciones de dicha plaga asociadas a *C. odorata* en México.



## 6. OBJETIVOS

### Objetivo general

Estudiar la variabilidad genética de *Hypsipyla grandella* asociada a distintas poblaciones de *Cedrela odorata* en México.

### Objetivos específicos

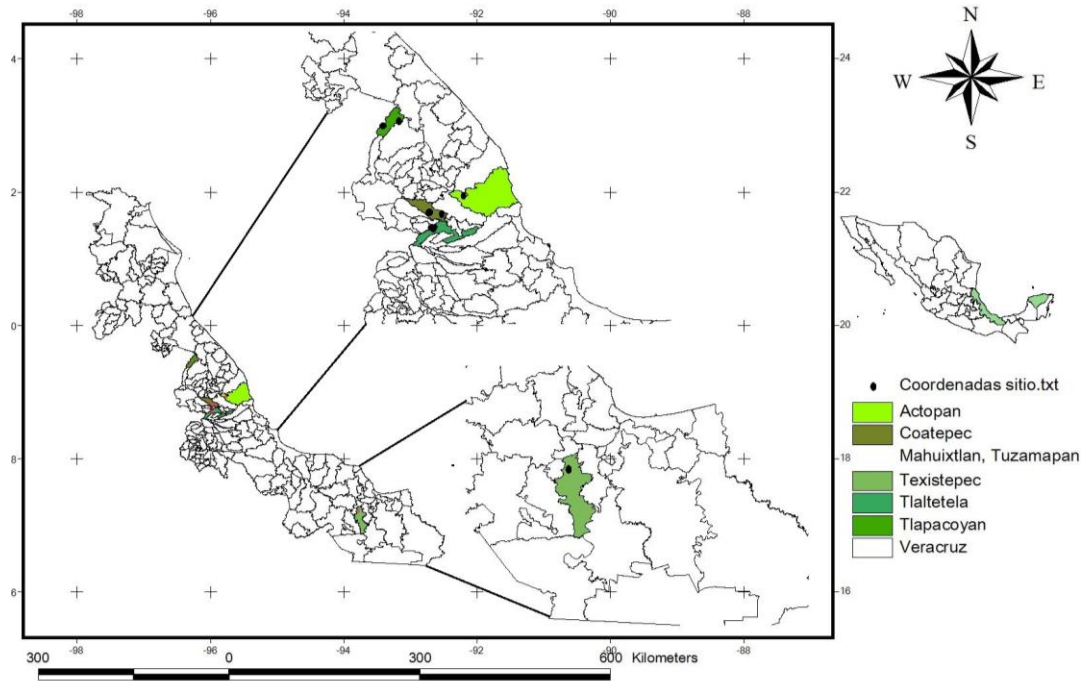
- Determinar la variabilidad genética intra específica de *Hypsipyla grandella*.
- Identificar la variabilidad genética intra poblacional en diferentes áreas de estudio.
- Determinar la identidad taxonómica de las muestras analizadas mediante la secuencia de los genes específicos.

## 7. MÉTODO

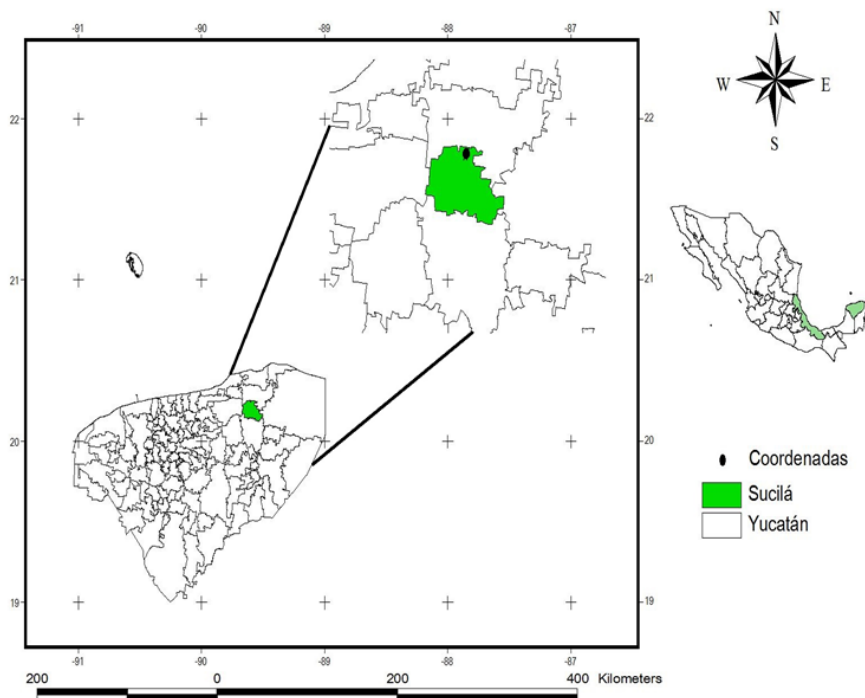
### Área de estudio.

Con el objetivo de detectar y coleccionar especímenes de *H. grandella* en distintas poblaciones, se seleccionaron seis áreas de muestreo en la zona centro y sur del estado de Veracruz, México: **I)** municipio de Tlapacoyan, con dos sitios de colecta ubicados en 19° 59' 35.4" N, 97° 13' 35.0" W y 20° 01' 45.6" N, 97° 07' 25.9" W, presenta un clima cálido húmedo con lluvias todo el año. Tipo de roca ígnea extrusiva. Suelo de tipo phaeozem; **II)** municipio Tlaltetela, ubicado en 19° 18' 55.9" N, 96° 54' 58" W, presenta un clima cálido con lluvias en verano. Tipo de roca ígnea extrusiva. Suelo de tipo leptosol; **III)** localidad de Mahuixtlan en el municipio de Coatepec ubicado en 19° 25' 0.12" N, 96° 55' 0.12" W; con un clima templado-húmedo. Tipo de roca ígnea extrusiva. Suelo de tipo andosol; **IV)** municipio Actopan 19°32'8.02" N, 96°41'41.179" W con un clima húmedo. Tipo de roca ígnea extrusiva. Suelo de tipo Arenosol; **V)** municipio de Texistepec 17° 54' 2.369" N, 94° 49' 42.862" W con un clima cálido-extremoso. Tipo de roca sedimentaria. Suelo de tipo luvisol; **VI)** localidad de Tuzamapan en el municipio de Coatepec ubicado en 19° 24' 27.496" N, 96° 50' 9.581" W con un clima templado-húmedo-regular. Tipo de roca ígnea extrusiva. Suelo andosol **VII)** Sucilá, Yucatán ubicado en 21°07' N, 88°14' W con un clima cálido húmedo

con lluvias en verano. Tipo de roca sedimentaria caliza. Suelo de tipo leptosol (Fig. 5, 6; INEGI, 2016).



**Figura 5.** Mapa de sitios de muestreo en el estado de Veracruz (modificado de INEGI 2016 mediante el programa Arc View Gis 3.2)



**Figura 6.** Mapa de sitios de muestreo en el estado de Yucatán (modificado de INEGI 2016 mediante el programa Arc View Gis 3.2)

### ***Colecta de Hypsipyla grandella***

Se realizaron muestreos directos en arboles de *C. odorata*, con presencia de daño en tallos y hojas (Fig. 7), esto para poder obtener larvas de diferentes instar y pupas. Las larvas colectadas se depositaron individualmente en frascos de plástico (10 x 25 cm) con hojas de cedro para su alimentación hasta su traslado al laboratorio (Barrada, 2016), las pupas igualmente se depositaron en frascos (10 x 25 cm) (Fig. 8). El material colectado se depositó en el Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada de la Universidad Veracruzana, en Xalapa, Veracruz, México.



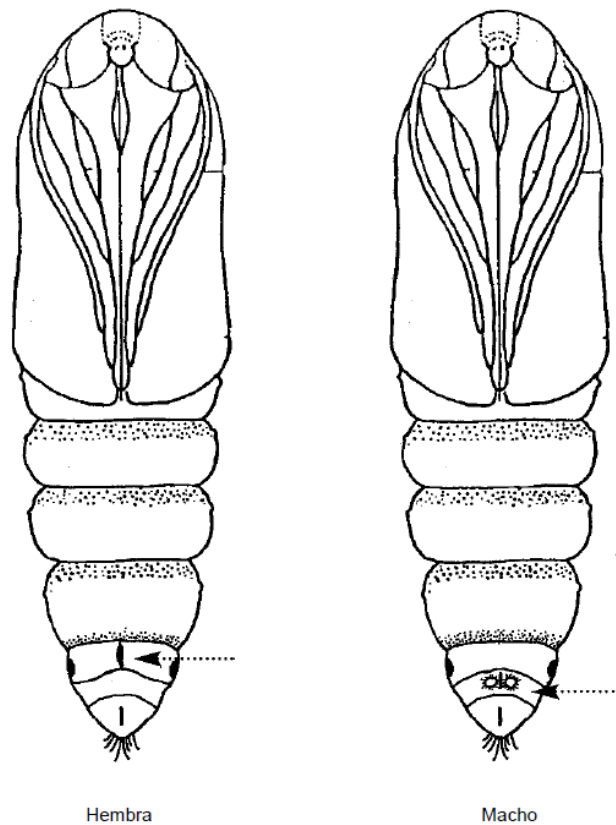
**Figura 7.** Arboles jóvenes con daños causados por la larva de *Hypsipyla grandella* (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019)



**Figura 8.** Pupa de *Hypsipyla grandella* con seda (A) y sin seda (B), (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019).

### ***Crianza en el laboratorio de larvas de Hypsipyla grandella***

Las larvas se mantuvieron en el laboratorio a 25-29 °C con un ciclo alterno de 12 h de luz natural y oscuridad de acuerdo al método de Vargas *et al.* (2001) y Taveras *et al.* (2004). Las larvas recolectadas del campo fueron alimentadas con hojas y tallo de cedro, previamente lavadas con agua destilada y depositadas junto con las larvas hasta que estas completaron el desarrollo. Las pupas fueron sexadas observando en la hembra el VIII segmento abdominal que está dividido en su mitad por la abertura genital, mientras que en el macho ésta se desplaza hacia el XI segmento y ésta acompañada por dos pequeños abultamientos (Fig. 9; Vargas *et al.*, 2001).



**Figura 9.** Pupas de ambos sexos de *H. grandella*, resaltando la abertura genital, que es clave para diferenciar los sexo (Tomada de Vargas *et al.*, 2001)

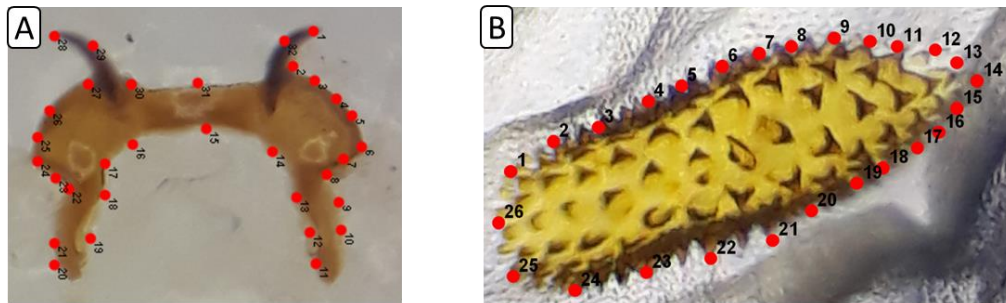
### ***Análisis morfológico***

Se realizó la identificación morfológica en adultos de *H. grandella* con el uso de un estereomicroscopio (Eakins, Zhejiang, China) examinando los caracteres: venación alar, antenas de macho y hembra, palpi labial y la genitalia. Para la extracción de la genitalia, se

preparó el abdomen y se colocó en KOH al 10% en agua tibia durante 30 min, dicha técnica se llama maceración. Después de la maceración, el abdomen se lava con agua corriente. Posteriormente con pinceles delgados se retiran las escamas y se extrae la genitalia de machos y hembras, se observaron estructuras como aedeagus, transtilla en macho, corpus bursae, signum en hembras. Las fotografías de cada estructura se tomaron con una cámara (Samsung SM-j530GM).

### *Análisis morfométrico*

Para la digitalización de la genitalia se tomaron fotografías en microscopio y posteriormente se usaron los programas tspUtil64 y tspDig232, se seleccionaron puntos localizados en el contorno de la cada genitalia, 32 puntos (landmarks) para macho (Fig. 10a) y 26 puntos (landmarks) para hembra (Fig.10b) y en las venas de las alas de ambos sexos.



**Figura 10.** Digitalización de puntos (landmarks) en contorno de la transtilla del macho y signum de la hembra (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019).

### *Análisis estadísticos*

Se compararon los tamaños de envergadura de los adultos entre macho y hembra así mismo entre las hembras y entre los machos. Se analizó mediante una prueba de T-student utilizando la envergadura. Se usó el paquete estadístico R versión 3.5.1.

Para la morfometría se realizó un Análisis Generalizado de Procrustes, éste consiste en minimizar las diferencias entre las configuraciones de landmarks basado en mínimos cuadrados. La superposición de Procrustes se basa en tres pasos para remover la información no relacionada a la forma. La variación en el tamaño se elimina al ajustar cada configuración de landmarks de modo que tenga un tamaño de centroide igual a 1 (el tamaño de centroide cuantifica la extensión de landmarks entorno su centro de gravedad). La variación en la posición es removida mediante el desplazamiento de las configuraciones de forma que

compartan la misma posición de su centro de gravedad, por último las configuraciones rotan hasta encontrar una orientación óptima para cada una de las configuraciones (Klingerberg, 2013).

Se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA) para explicar las asociaciones morfométricas entre las localidades, así mismo se usaron pruebas de permutación (1000) para evaluar la significancia, utilizando las genitalias de hembras y macho. Se usó el paquete morfométrico geométrico MorphoJ versión 10.7.3.

### ***Análisis molecular***

El ADN se extrajo con un protocolo estándar (Ivanova *et al.*, 2006) de una sola pata trasera y se secuenció una región de 658 pb del gen de la subunidad I del citocromo oxidasa mitocondrial (COI) utilizando los primers y el protocolo descrito por Heber *et al.* (2013). Además de nuestras secuencias se obtuvieron secuencias del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) y del BOLD systems (Fig. 11). La secuencia consenso se generó a partir de las secuencias sentido y antisentido del gen COI con el programa del programa BioEdit ver. 7.0.9.0 (Hall *et al.*, 2011). Los cálculos de distancia genética se realizaron utilizando el modelo de distancia de Kimura-2-Parameter (K2P) en MEGA10 (Kimura 1980), y se construyó un árbol Neighbor-joining (NJ) (Saitou y Nei 1987). Las distancias genéticas entre especies (intraespecífica) se reporta como máxima distancia por pares (Maximum pairwise distances).



**Figura 11.** Secuencias de *Hypsipyla grandella*.

## 8. RESULTADOS

### 8.1. Análisis morfológico

Se obtuvieron un total de 74 larvas *H. grandella* en arboles juveniles de *C. odorata* de diferentes municipios del estado de Veracruz de cada población se obtuvieron 12 larvas, de las cuales se usaron 34 larvas para extracción de DNA y 40 larvas para cría de cada población fueron 7 larvas. Durante la crianza de las larvas, aquellas pertenecientes a los de los municipios de Tlapacoyan y Texistepec no sobrevivieron, ya que durante la fase de pupa 7 de éstas no llegaron a término.

Se obtuvo un total de 19 adultos, 5 fueron montados por completo para apreciar diferencias en la anatomía y se realizó la extracción de la genitalia de 14 individuos. Se realizó una descripción morfológica de los adultos donde se apreciaron diferencias morfológicas externas como el palpi labial dividido y entero, presencia y ausencia de pelo sensorial en antenas y la coloración en las alas (Cuadro 1; Fig.12, 13, 14).

**Cuadro 1.** Diferencias morfológicas de adultos en diferentes localidades del Estado de Veracruz. Tlal. Tlaltetela; Act. Actopan; Mahu. Mahuixtlan; Tuza, Tuzamanpan. El color se basó en la tabla de Munsell.

Individuos	Sitio	Sexo	Envergadura (cm)	Largo (cm)	Diámetro (mm)	Color ojos	de Pelo sensorial en antenas	Palpi labial
1	Tlal.	M	3.1	2	0.040	Marrón rojizo	Presente	Dividido/largo
2	Tlal.	H	3.2	1.6	0.035	Negro	Ausente	Dividido/pequeño
3	Tlal.	H	3.2	2	0.041	Marrón amarillento claro	Ausente	Entero/largo
4	Tlal.	H	2.5	1.6	0.052	Marrón rojizo	Ausente	Dividido/largo
5	Tlal.	H	2.7	1.2	0.053	Negro	Presente	Entero/largo
6	Tlal.	H	2.5	1.8	0.001	Negro	Ausente	Entero/pequeño
7	Act.	M	2.2	1.6	0.080	Negro	Presente	Entero/largo
8	Act	M	2.6	1.5	0.090	Marrón amarillento oscuro	Presente	Entero/largo
9	Act.	M	2.7	1.7	0.032	Marrón rojizo oscuro	Presente	Entero/largo
10	Mahu	M	2.7	1.8	0.002	Marrón oscuro	Presente	Dividido/largo
11	Mahu	M	2.8	1.5	0.090	Negro	Presente	Entero/largo
12	Mahu	M	2.1	1.2	0.072	Marrón oscuro	Presente	Dividido/largo
13	Tuza	F	2.7	1.8	0.029	Marrón oscuro	Ausente	Entero/largo
14	Tuza	M	3	2	0.027	Marrón amarillento claro	Presente	Entero/pequeño

### Descripción del adulto de *Hypsipyla grandella*

Los adultos tienen una envergadura del ala 2.1-3.1 cm en el macho y 2.5-3.2 cm en la hembra

Palpos labiales: el primer segmento es blanquecino, el segundo segmento gris claro con punto blanco y el tercer segmento gris oscuro. Antena beige- café, ciliada en el macho, débilmente



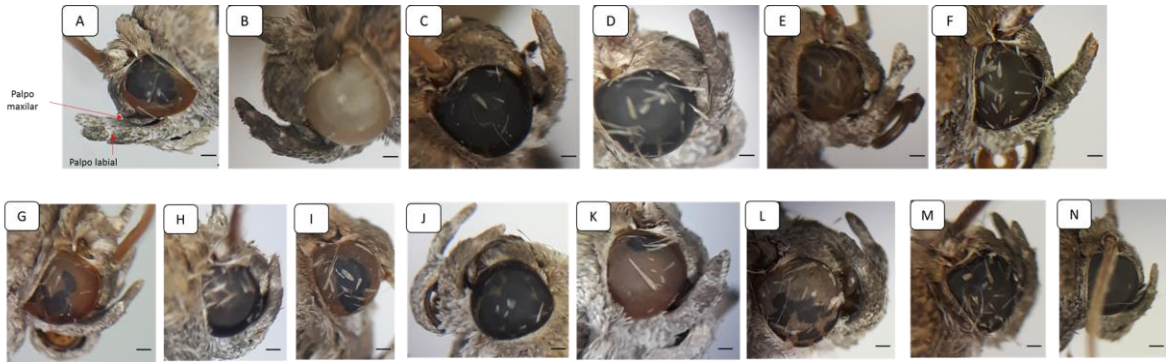
ciliada en hembras. Cabeza café claro. Tórax café oscuro. Ala anterior café, sombreadas con escamas negras, una mancha clara en el centro del ala Rs-A1, una banda poco marcada y sinuoso paralela en el termen R5-A1, a lo largo del termen presenta una frimbia, con una línea de café claro o blanca. El ala posterior es blanca transparente y en Sc+ R1 gris con una banda poco marcada y sinuosa paralela al termen Sc+ R1- A1, a lo largo del termen presenta una frimbia, con una línea de gris. Las patas son blanquecinas internamente y externa de color gris. El abdomen es café del lado dorsal y gris del lado ventral.

Órgano genital masculino: Uncus estrecho y amplio en la parte posterior. Gnathos más corto que el uncus, forma de V en el ápice y angosto en la parte central. Transtilla completa, con dos expansiones en la parte anterior en forma de cuernos y dos en la parte posterior que se abren hacia fuera. Vinculum ancho. Valvas largas y delgadas en la parte anterior y ancha en la parte posterior. Aedeagus cilíndrico, angosto hacia el ápice.

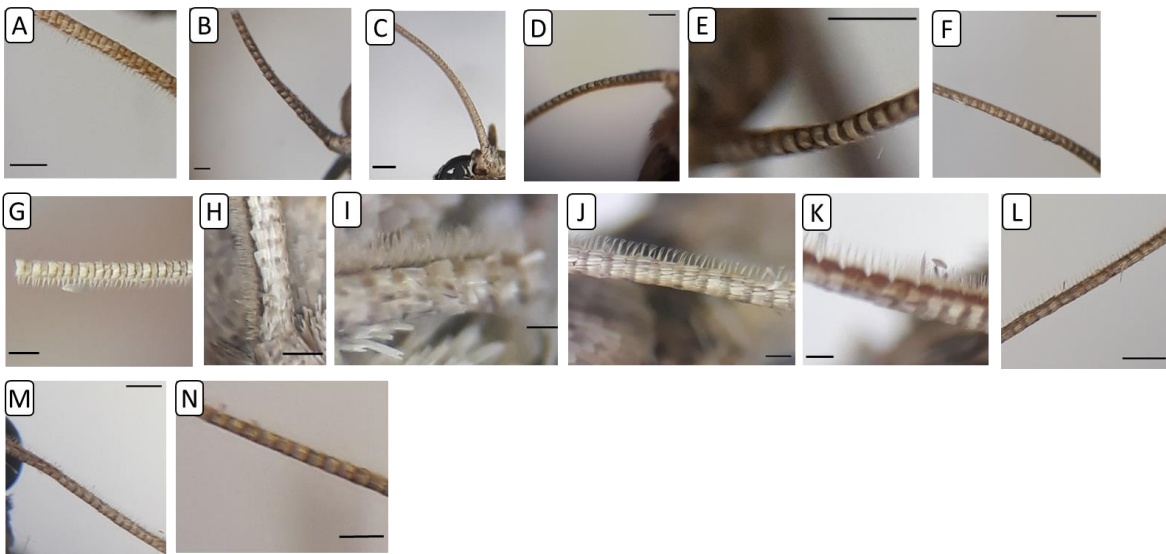
Órgano genital femenino: presenta paneles anales unidos a la lamella postvaginal en la parte anterior. Ductus bursae es angosto y membranoso, conecta el ostium bursae y bursae corporatix. Bursa corporatix elongada; la corpus bursae es globosa y membranosa en la parte anterior que sobresale del ductus seminalis que es angosto y largo, signum presente en con forma ovalada con puntas.



**Figura 12.** Adultos montados de *H. grandella* (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019).

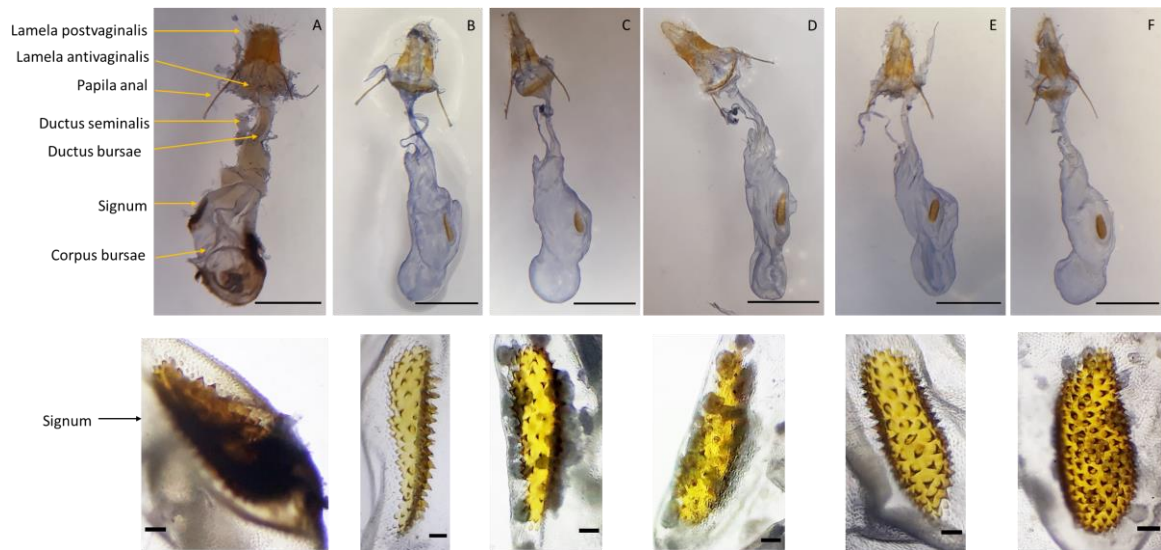


**Figura 13.** Cabeza de *Hysipyla grandella* de hembras (A-F) y machos (G-N) en diferentes localidades de Veracruz, México. De Izquierda a derecha, ♀ Tlaltetela A-E, Tuzamapan F ♂ Tlaltetela G, Actopan H-J, Mahuixtlan K-M, Tuzamapan N. Barra de escala=10mm (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019).



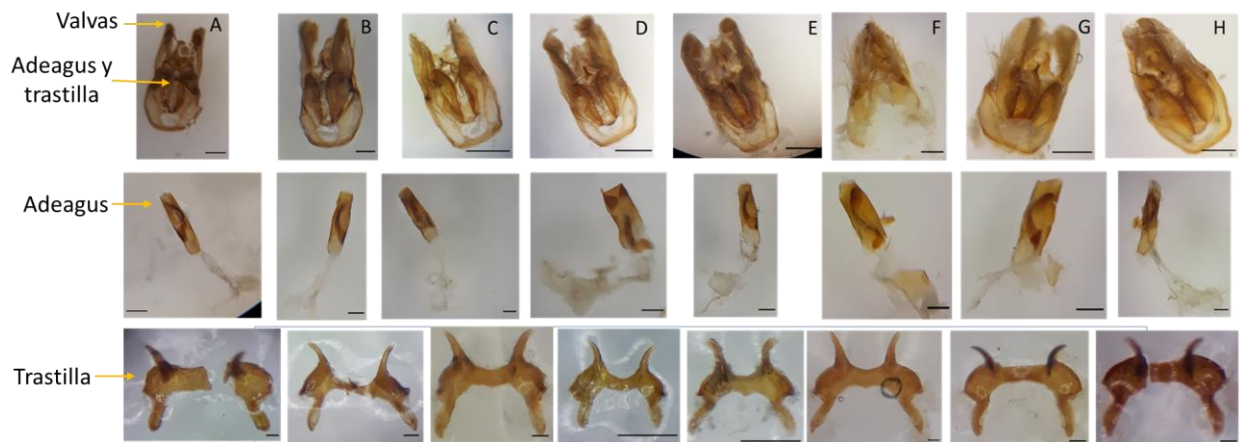
**Figura 14.** Antenas de *Hysipyla grandella* de hembras (A-F) y machos (G-N). Presencia y ausencia de pelos sensoriales de izquierda a derecha ♀ Tlaltetela A-E, Tuzamapan F ♂ Tlaltetela G, Actopan H-J, Mahuixtlan K-M, Tuzamapan N. Barra de escala= 10mm (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019)

En la genitalia extraída de machos y hembras se observan diferencias morfológicas. En hembras, las diferencias está en el corpus buseae, lamella vaginalis y la forma del signum (Fig. 15). En el signum se aprecias 3 formas diferentes lanceolada, ovalada y lineal dentro de la misma localidad de Tlaltetela (A-E), en las de la localidad de Tuzamapan su signum (F) es ovalado igual que el de la localidad de Tlaltetela (A).



**Figura 15.** Genitalia de hembra de *Hypsipyla grandella* en la localidad de Tlaltetela (A-E), localidad de Tuzamapan (F), diferencias en el *signum*, en la *corpus bursae*, *lamela postvaginalis* y en el *ductus seminalis* Barra de escala = 1 mm (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019).

Mientras que en los macho las diferencias se muestran en el *adeagus* y *transtilla*. Se aprecian diferencias en la parte central de la *transtilla* donde se aprecia el centro convexo (Fig. 16 B-E) y recto (Fig. 16 A, G y H).



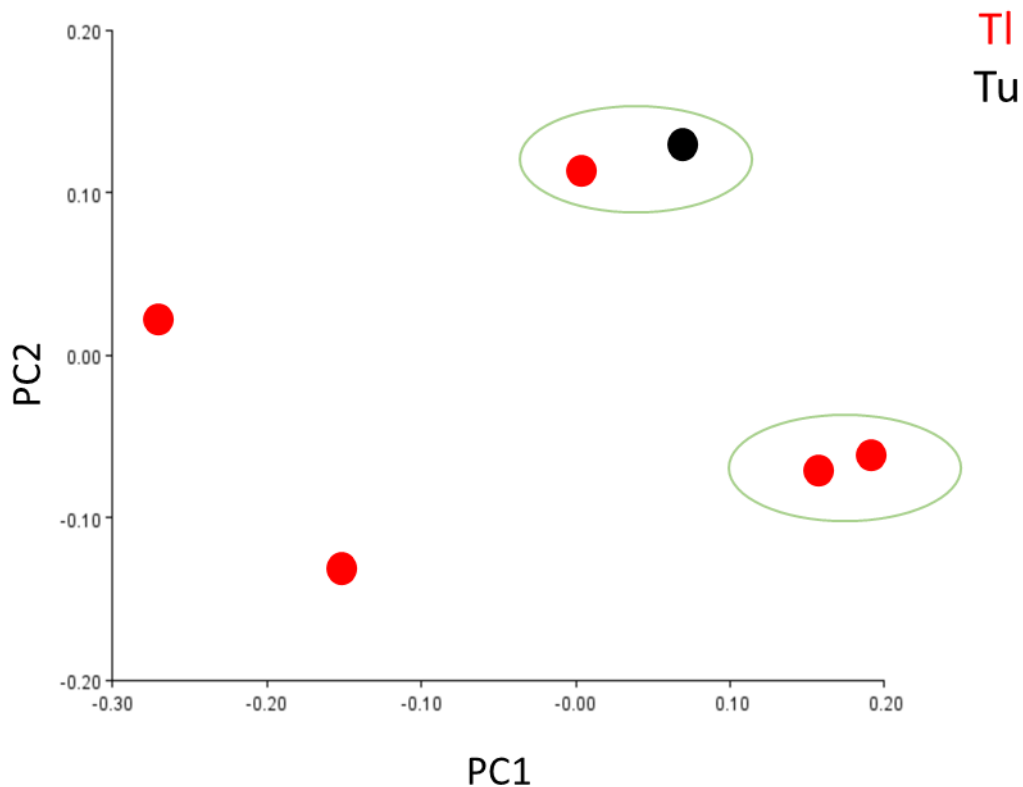
**Figura 16.** Genitalia de machos de *Hypsipyla grandella* en la localidad de Tlaltetela (A), localidad de Actopan (B-D), localidad de Mahuixtlan (E-G), localidad de Tuzamapan (H) diferencias en la forma de *adeagus* y *transtilla*. Barra de escala= 1 mm (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019).

No se encontraron diferencias significativas en la envergadura de los adultos entre las hembras y los machos ( $t=30.335$ ,  $df=13$ ,  $p=1.884$ ), por ende no se considera que exista presencia de dimorfismo sexual. Entre las hembras no se muestra diferencias significativas ( $t=21.268$ ,  $df=5$ ,  $p=4.261$ ), al igual que entre los machos.

## 8.2. Análisis morfométricos

**Genitalia de hembras:** 26 puntos (landmarks) de la superficie de las genitalias se utilizaron para realizar un PCA. La PCA y la variación en la forma mostraron que las primeras tres PC representaron el 93.548% (PC1=62.278%; PC2= 21.431%; PC3= 9.839%).

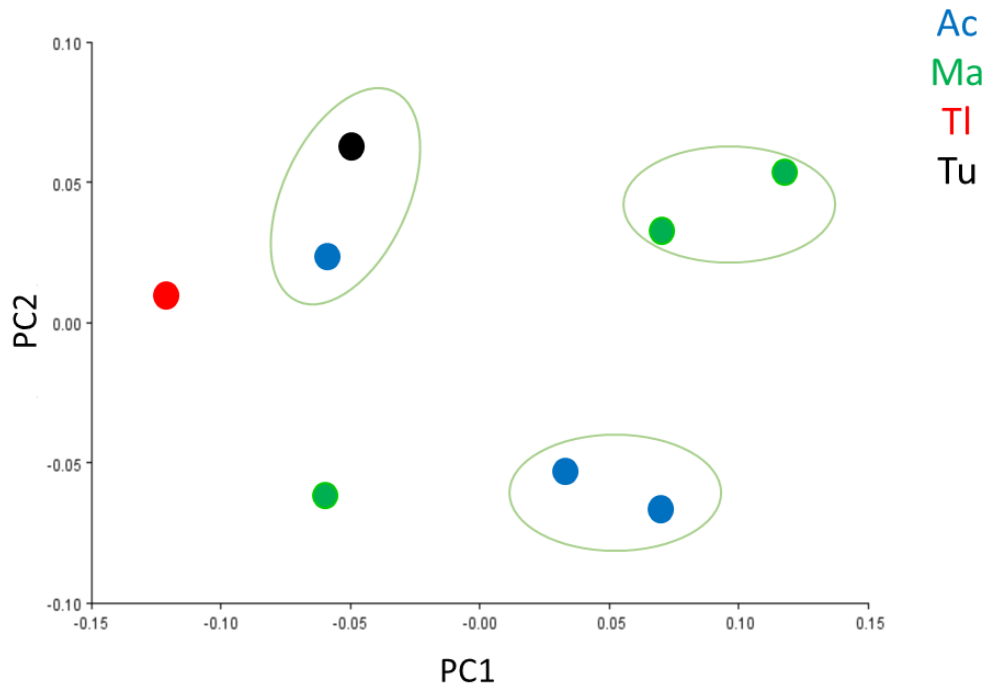
Encontrando dos grupos, en el primer grupo se aprecia dos hembras de las localidades de Tuzamanpan y Tlaltetela y el segundo grupo de la localidad de Tlaltetela (Fig.17).



**Figura 17.** Gráfico de PCA de los puntos de referencia de los signum de las hembras. Se resalta con un circo la clasificación de los grupos (Tl. Tlaltetela, Tu. Tuzamanpan).

**Genitalia de machos:** 32 puntos (landmarks) de la superficie de la genitalias se utilizaron para realizar un PCA. La PCA y la variación en la forma mostraron en las primeras tres PC el 80.035% (PC1 = 47.170%; PC2= 18.850%; PC3 = 14.015%).

Encontrando tres grupo diferentes. En el primer grupo se aprecia solo la localidad de Mahuixtlan, el segundo grupo la localidad de Actopan y en el tercer grupo se aprecian las localidades Tuzamapan, Actopan y Tlaltetela (Fig. 18).

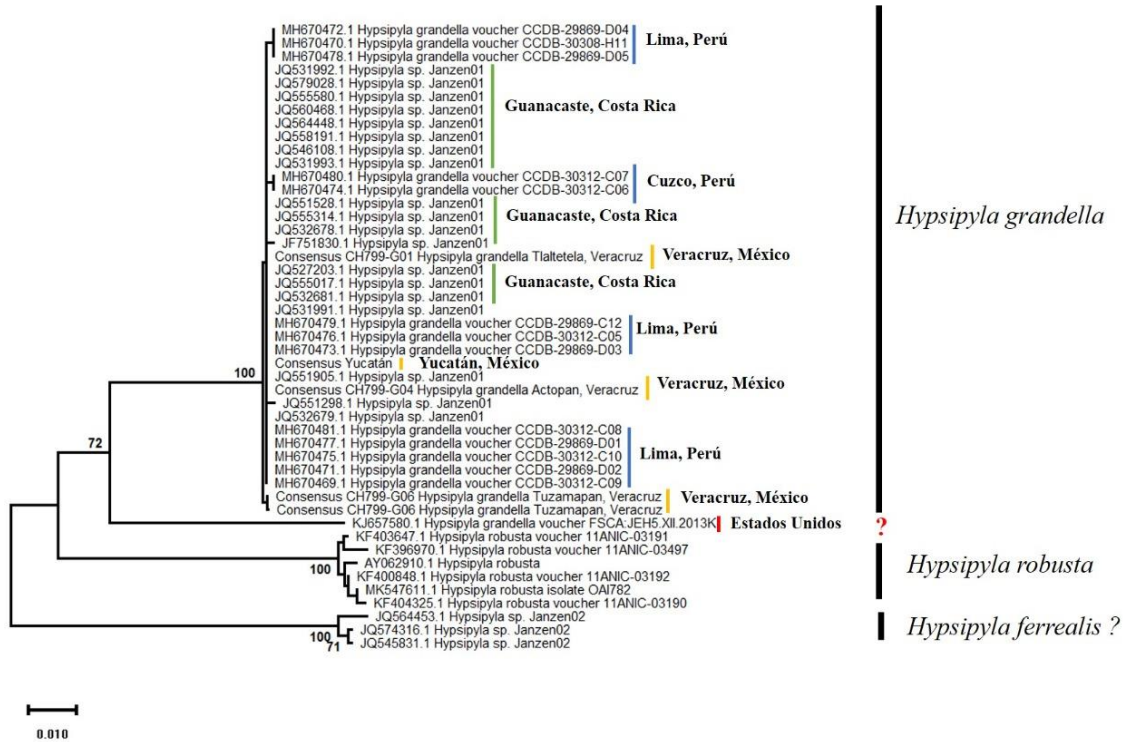


**Figura 18.** Gráfico de PCA de los puntos de referencia de la transtilla del macho. Se Resalta con un círculo la clasificación de los grupos (Ac. Actopan, Ma. Mahuixtlan, Tl. Tlaltetela y Tu. Tuzamapan).

### 8.3. Análisis molecular

Se obtuvieron cinco secuencias consenso de 658 pb de ejemplares de Tlaltetela (1), Tuzamapan, (2) de Actopan, Veracruz y un espécimen de Sucilá, Yucatán (Fig. 19). Las distancias genéticas basadas en K2P de los ejemplares de México comparado con Costa Rica y Perú son de aproximadamente (0.16 %), lo que indica baja variabilidad genética entre poblaciones distantes (Figura 19, Cuadro 2). Sin embargo, con el único ejemplar con el número de accesoión (KJ657580), al parecer de Estados Unidos, e identificado como *H. grandella* tiene una diferencia de más de 8 % (Figura 19, Cuadro 2). Esta divergencia tan grande indica que se trata de una especie distinta, sin embargo, antes de cualquier conclusión, hay que corroborar la identificación a nivel genital y conocer el sitio de colecta. El título de

esta secuencia en el NCBI es “Digital Identification of Microlepidoptera on Solanaceae”. Por lo que hace pensar que sea un error en la identificación.



**Figura 19.** Árbol Neighbor-joining del gen COI del género *Hypsipyla* basado en el modelo Kimura 2 con sustitución de nucleótidos y bootstrap con 1000 repeticiones basado en distancias K2P.

**Cuadro 2.** Máximas distancias intraespecíficas (Maximum Pairwise Distances) de *Hypsipyla grandella* agrupadas por países. El análisis estuvo basado en 658 secuencias de pb y distancias K2P. Las distancias se presentan en porcentaje (%).

Grupos	México	Costa Rica	Perú	Estados Unidos
México				
Costa Rica	<b>0.109</b>			
Perú	<b>0.160</b>	0.089		
Estados Unidos	<b>8.769</b>	8.902	8.964	

Se obtuvieron de BOLD SYSTEMS 79 secuencias consenso de  $\geq 500$  pb del género de *Hypsipyla*, las distancias genéticas basadas en K2P de él género indicó alta divergencia entre

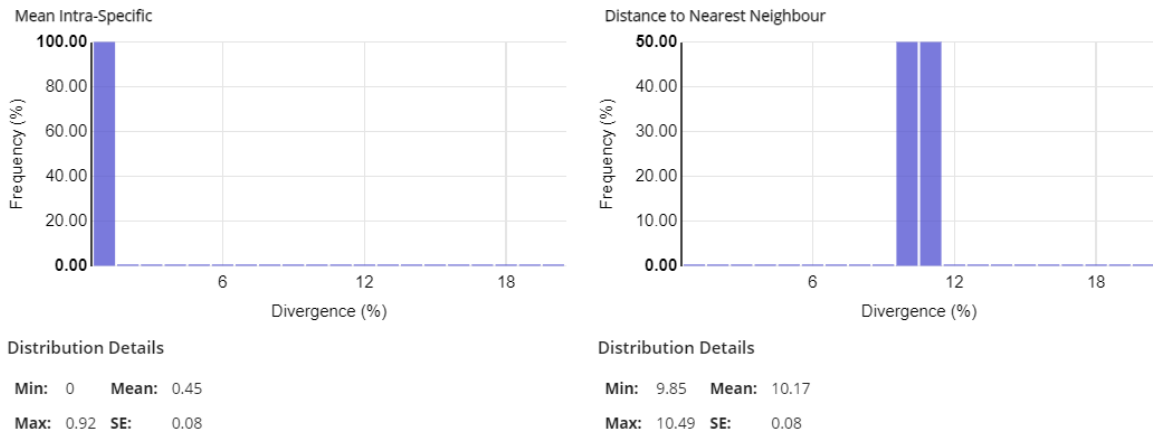
especies y baja variabilidad intraespecifica (Figura 20, 21). La variación genética intraespecifica de *Hypsipyla grandella* es del 8%, en comparación de *Hypsipyla* Janzen 02 y 03, lo cual indica otra especie (Cuadro 3).



**Figura 20.** Árbol Neighbor-Joining (K2P) para 79 secuencias COI ( $\geq 500$  pb) del género *Hypsipyla*. La profundidad de cada rama muestra la divergencia dentro de cada especie. Tres letras seguidas de cuatro números indican el número de índice de códigos de barras (BIN).



Distance Distribution Histograms

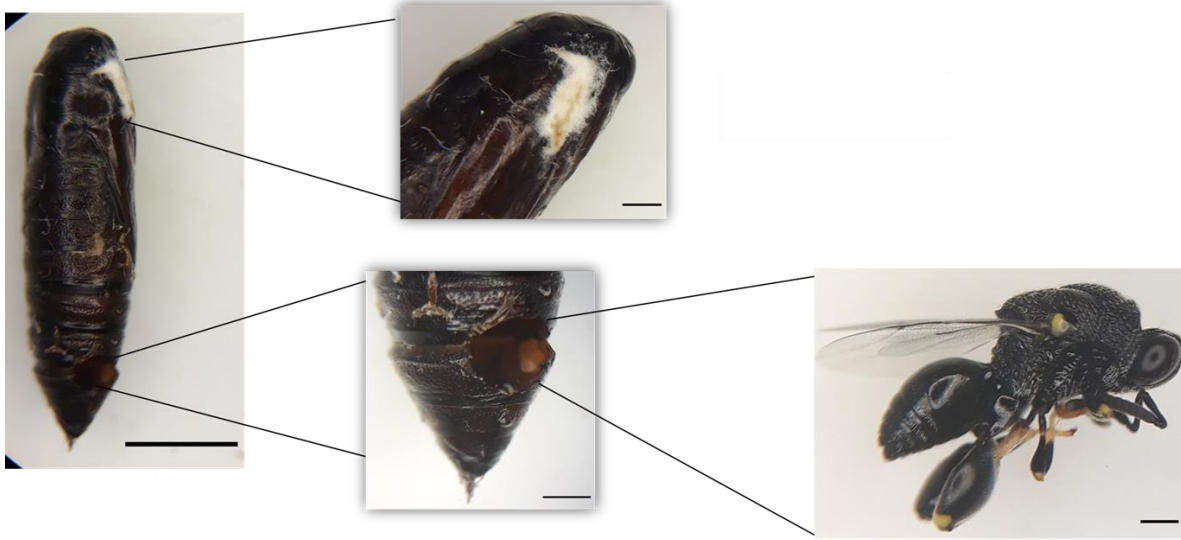


**Figura 21.** Diagramas de dispersión para confirmar la existencia y la magnitud de la distancia del código de barras (Barcode Gap) del género *Hypsipyla* disponibles en el Bold System ([http://www.boldsystems.org/index.php/IDS\\_OpenIdEngine](http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine)). Superposición de las distancias intraespecíficas máxima y media frente a las distancias interespecíficas (vecino más cercano).

**Cuadro 3.** Comparación de la variación genética entre especies del género *Hypsipyla*. Valores intraespecíficos medios y máximos de cada especie comparada con la distancia del vecino más cercano. Las distancias se analizaron con el Modelo 2 Kimura del gen COI con alineamiento BOLD con secuencias mayores a 500pb de secuencias disponibles en el Bold System ([http://www.boldsystems.org/index.php/IDS\\_OpenIdEngine](http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine)).

Species	Mean Intra-Sp	Max Intra-Sp	Nearest Neighbour (BIN)	Nearest Species	Distance to NN
<i>Hypsipyla</i> Janzen02	0.92	1.32	BLPAA13076-18	<i>Hypsipyla</i> Janzen03	10.49
<i>Hypsipyla</i> Janzen03	0	0	BLPBD653-07	<i>Hypsipyla</i> Janzen02	10.49
<i>Hypsipyla</i> grandella	0.39	8.63	LNSWF171-06	<i>Hypsipyla</i> robusta	9.75
<i>Hypsipyla</i> robusta	0.56	0.97	MHMYA578-09	<i>Hypsipyla</i> grandella	9.75

Un hallazgo interesante se presentó en una muestra proveniente de la localidad de Mahuixtlan, Coatepec donde se detectó un himenóptero del género *Brachymeria* spp. (Chalcidoidea) posible parasitoide, la determinación a nivel específico está en proceso. Así mismo se observó el crecimiento de un hongo del género *Fusarium*, dicho hongo se asocia a plantas, posiblemente su presencia en *H. grandella* sea accidental (Fig. 22).



**Figura 22.** Pupa de *Hypsipyla grandella* con daño de hongo y parasitoide. Barra de escala =1mm (Fotos de Guadalupe Pérez, 2019).

## 9. DISCUSIÓN

De acuerdo a lo encontrado en este estudio *Hypsipyla grandella* no presenta dimorfismo sexual, ya que la hembra presentó una envergadura de 2.5 -3.2 cm y el macho de 2.2 cm – 3.1 cm, en contraste con Gómez-Piñerez (2014) que menciona que la hembra tiene una envergadura de 2.6-3.2 cm, mientras que el macho es de 2.4 – 2.8 cm. Becker (1973) menciona en su trabajo que el tamaño de los adultos varía de acuerdo a su alimentación, larvas criadas en tallos miden 1.1- 1.2 cm mientras las larvas criadas con frutos miden aproximadamente 2.0 cm de largo. Heinrich (1956) indica que los ejemplares estudiados medían 2.0 -4.5 cm de envergadura. Esta diferencia puede ser por la cantidad de alimento que las larvas consumían.

Se observaron diferencias morfológicas en los adultos de *H. grandella* tanto en estructuras externas como internas, en estructuras como: el palpi labial, pelo sensorial en antenas y en estructuras internas como la genitalia. En los palpos labiales tienen tres tipos de color blanquecino, gris claro y gris oscuro, antenas beige- café, ciliada en el macho, débilmente ciliada en hembras. Cabeza café claro. Tórax café oscuro. Ala anterior café, sombreada con escamas negras, una mancha clara en el centro del ala Rs-A1, una banda poco

marcada y sinuosa paralela al termen R5-A1, a lo largo del termen presenta una frimbia, con una línea de café claro o blanca. Ala posterior blanca transparente y en Sc+ R1 gris con una banda poco marcada y sinuosa paralela al termen Sc+ R1- A1, a lo largo del termen presenta una frimbia, con una línea de gris. Patas blanquecinas internamente y externa de color gris. Abdomen café de lado dorsal y gris lado ventral. En contraste con la descripción de Becker (1973), dónde menciona que la cabeza y tórax son de gris fusca, la coloración de las alas es de gris fusca con brillo violáceo leve, abdomen de color gris en la parte dorsal y blanquecino en la parte ventral, sin embargo, se coincide con el autor la variación de color en la especie.

Heinrich (1956) no describe a detalle el adulto, a pesar de esto la descripción dada, menciona el color del ala anterior como grisáceo fosforescente con sombras rojas, con bordes negros y manchas blancas en la parte central, el ala posterior tiene una coloración blanca. En contraste con nuestro estudio los adultos el ala anterior es de café con sombras negras, con bordes café claro y el ala posterior blanca con manchas grises. Dicho autor describe otras especies del género, *Hypsipyla dorsimacula* e *H. fluviatella* las cuales, coinciden un poco con la coloración de nuestros ejemplares con un color café. También menciona que *H. robusta* es similar a *H. grandella* aunque sus genitales son diferentes.

En cuanto a las diferencias en la genitalia de ambos sexos; en hembras fueron en la courpus buseae y la forma del signum, dichas estructuras coinciden con el trabajo de Becker (1973) y Heinrich (1956) en la presencia de signum y la forma de la courpus buseae. Las especies *Hypsipyla ferrealis* e *H. dorsimacula* no presentan signum. En el macho en la transtilla, se observó el centro completo y cóncavo, abriéndose hacia fuera en los cuernos solo en cuatro ejemplares y quedando recto en tres ejemplares en contraste con Becker (1973) dónde la transtilla solo se mostró completa.

A pesar que encontramos diferencias morfológicas internas, principalmente en la transtilla de los machos, la forma del *signum* en las hembras y diferencias en la coloración externa de *H. grandella* de México, los datos moleculares basados en el gen COI muestra baja variabilidad genética. Con los datos moleculares de los estados de Veracruz y Yucatán de México y secuencias disponibles de Perú y Costa Rica podemos confirmar que hay poca divergencia genética en el clado de *H. grandella* en esta poblaciones distantes. Sin embargo,

existe una distancia genética muy grande (>8%) con un ejemplar al parecer de Estados Unidos (KJ657580). Esta divergencia tan grande indica que se trata de una especie distinta, sin embargo, antes de cualquier conclusión, hay que corroborar la identificación a nivel genital y conocer el sitio de colecta. El título de que lleva esta secuencia en el NCBI es “Digital Identification of Microlepidoptera on Solanaceae”. Por lo que hace pensar que sea un error en la identificación. Pero se requiere más estudios al respecto.

Aunque no encontramos diferencias altas en los ejemplares de Veracruz, y Yucatán, reconocemos que todavía falta por analizar algunas zonas como la vertiente del pacífico y regiones más norteñas de la vertiente del Golfo y Estados Unidos.

Al tener poca variabilidad genéticas *H. grandella* podría apoyar la técnica del insecto estéril dicha técnica es usada como control de plagas y requiere la producción en masa, la esterilización y la liberación del insecto objetivo en proporciones adecuadas para reducir la reproducción de la población natural de la plaga (Barradas *et al.*, 2016). Se ha utilizado con éxito en algunas especies de Lepidópteros como el gusano rosado de la cápsula *Pectinophora gossypiellav* (Saunders) en los Estados Unidos y el norte de México (Simmons *et al.*, 2007), la falsa polilla de la manzana, *Thaumatotibia leucotreta* (Meyrick) en Sudáfrica (Bloem *et al.*, 2007), la polilla australiana de la manzana pintada, *Teia anartoides* (Walker) en Nueva Zelanda (Suckling *et al.*, 2007) y la polilla de la manzana, *Cydia pomonella* L. en Canadá (Bloem y Carpenter, 2001).

En este trabajo se halló un parasitoide de la familia *Chalcidoidea* en la pupa de *H. grandella*, así mismo en esta especie se reportan parasitoides del género *Trichospilus* (Eulophidae) en Chile, del género *Trichogramma* (Trichogrammatidae) en Perú, Costa Rica, Estados Unidos y las islas del Caribe, los géneros *Apantales* (Braconidae), *Flavopimpla* (Ichneumonidae), *Tetrastichus* (Eulophidae), *Anthrocephalus* (Chalcididae) y *Trichogrammatoidea* (Trichogrammatidae) en Belice, Trinidad y Brasil, para uso de control biológico (CATIE, 1978).

## 10. CONCLUSIÓN

Se encontraron diferencias morfológicas en *H. grandella* de diferentes localidades del estado de Veracruz, dichas diferencias se dieron en la coloración de las alas, palpos labiales así como en el signum en hembras y la trastilla en machos.

Con los estudios moleculares se mostró la baja variabilidad en *H. grandella* con 0.16% de divergencia de los estados de Veracruz y Yucatán, a pesar de la gran variabilidad genética que presenta *Cedrela odorata* en toda su distribución no se encontró dicha variabilidad en su principal plaga, esto podría aportar para el uso del técnica del insecto estéril.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aburto, C., R. Godoy., L. Bardehle., A. Quiroz., A. Mutis., H. Venthur. 2019. Antennal morphology and localization of a general odorant-binding protein in the great wax moth, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae).
- Andrade-Torres, A., L. Solís- Ramos. 2004. Las bondades del cedro. Ciencia y hombre. 17(3).
- Arbeláez-Cortés, E., L.A. Sánchez-González., S.V. Ávalos., A.G. Navarro-Sigüenza. 2015. Modelos de especiación. En Becerra, A., A. Castañeda., D. Piñero. Evolución Orgánica. Pp 5-23.
- Barradas Juanz, N. 2016. Mejoramiento del método de cría y estudio del comportamiento reproductivo de *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). Tesis. Universidad Veracruzana, Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada. Veracruz, México.
- Barradas Juanz, N., F. Díaz-Fleishcer., P. Montoya., A. Dorantes., D. Pérez Staples. New rearing and larval diet for the mahogany shoot borer *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidar). Florida entomologist. 99: 85-191.
- Bloem, S., J.E., Carpenter JE. 2001. Evaluation of population suppression by irradiated Lepidoptera and their progeny. Florida Entomologist 84: 165-171.
- Bloem, S., J.E. Carpenter., H. Hofmeyr. 2007. Area-wide control tactics for the false codling moth *Thaumatotibia leucotreta* in South Africa: a potential invasive species, pp. 351-359 In Vreysen MJB, Robinson AS, Hendrichs J [eds.], Area-wide Control of Insect Pests: From Research to Field Implementation. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Briceño Vergara, A.J. 1997. Aproximación hacia un manejo integrado del barrenador de las Meliaceae, *Hypsipyla grandella* (Zeller). Revista Forestal Venezolana. 41(1):23-28.
- CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). 1978. Seminario sobre el manejo integrado de plagas. El barrenador de los brotes de las Meliaceae *Hypsipyla grandella*.
- Cauich-Ramírez, R. 2004. El barrenador de los brotes de la Meliáceae *Hypsipyla grandella* Zeller (Lepidoptera, Pyralidae). Monografía de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, Buenavista, Santillo, Coahuila, México.

- Caver, S., A. Telford., F. Arenal., A.J. Pérez., R. Valencia., C. Navarro., A. Buonamici., A.J. Lowe., G.G. Vendramin. 2013. Cryptic species and phylogeographical structure in the tree *Cedrela odorata* L. throughout the Neotropics. *Journal of Biogeography*. 40:732-746.
- Cavers, S., C. Navarro., J. Lowe. 2003a. Chloroplast DNA phylogeography reveals colonization history of a Neotropical tree, *Cedrela odorata* L., in Mesoamerica. *Molecular Ecology*. 12:1451-1460.
- Cavers, S., C. Navarro., A.J. Lowe. 2003b. A combination of molecular markers identifies evolutionarily significant units in *Cedrela odorata* L. (Meliaceae) in Costa Rica. *Conservation Genetics*, 4: 571–580.
- Coyne, J.A., H.A. Orr. 2004. *Speciation*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, USA. 545 p.
- De la Torre, A., C. López., E. Yglesias., J.P. Cornelius. 2008. Genetic diversity of nine *Cedrela odorata* populations in Madre de Dios, southern Peruvian Amazon. *Forest Ecology and Management* 255(2): 334-339.
- De Paula, J.R., J.C. Ivo., M. Vieira., G.F. Fátima Das., E. Rodrigues., J.B. Fernandes., P. Vieira., A.L. Pinheiro., E. Vilela. 1997. Sesquiterpenes, triterpenoids, limonoids and flavonoids of *Cedrela odorata* graft and speculations on the induced resistance against *Hypsipyla grandella*. *Phytochemistry*. 44(8):1449-1454.
- Feder, J.L., C.A Chilcote., G.L. Bush. 1988. Genetics differentiation between sympatric host races of the apple maggot fly *Ragoletis pomonella*. *Nature* 336:61-64.
- Gallego, F.L. 2010. La posible especiación simpátrica o alosimpátrica de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae). *Museo entomológico. Universidad Nacional de Colombia*. 4(2):9-26.
- Gavrilets, S., H. Li., M.D. Vose. 2000. Patterns of parapatric speciation. *Evolution* 54: 1126-1134.
- Gómez-Piñerez, L.M. 2014. *Hypsipyla grandella* (Zeller 1848) (Lepidoptera:Pyralidae: Phycitinae) en plantaciones de *Cedrela odorata* en Colombia. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Ciencias Agrarias Medellín, Colombia.
- Griffiths, M.W. 2001. The biology and ecology of *Hypsipyla* shoot borers. pp. 74-80. In Floyd RB, Hauxwell C (eds.), *International Workshop on Hypsipyla shoot borers in Meliaceae*, 20-23 August 1996. ACIAR Proceedings No. 97.
- Halfiter, G., J. Llorente-Bousquets., J.J. Morrone. 2008. La perspectiva biogeográfica histórica, en *Capital natural de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, pp. 67-86.
- Hebert, P. D., A. Cywinska., S. L. Ball., J. R. De Waard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceeding of the Royal Society of London serie B*, 270, 313–321.
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., & de Waard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceeding of the Royal Society of London serie B*, 270, 313–321.
- Hebert, P.D.N., E.H. Penton., J.M. Burns., D.H. Jazen., W. Hallwachs. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*.
- Hernández Ramos, J., R. Reynoso Santos., A. Hernández Ramos., X. García Cuevas., E. Hernández-Máximo., J.V. Cob Uicab., D. Sumano López. 2018. Distribución histórica, actual y futura de *Cedrela odorata* en México. *Acta Botanica Mexicana* 124.

- Hernandez, G., A. Buonamici., K. Walker., G.G. Vendramin., C. Navarro., S. Cavers. 2008. Isolation and characterization of microsatellite markers for *Cedrela odorata* L. (Meliaceae), a high value neotropical tree. *Converv Genet.* 9:457-459.
- Hijie, L., J. Cornelius. 2001. ¿Es inmaneable *Hypsipyla grandella* como plaga forestal? *Manejo integrado de plagas.* 61:1-4.
- Hochmut, R. 1981. Métodos silviculturales para la protección de las meliaceas contra el ataque del barrenador *Hypsipyla grandella*. *Boletín de Reseñas Forestales.* 1:19. La Habana.
- Howard, F.W., M.A Merida. 2005. El taladrador de las meliáceas, *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Insecta: Lepidóptera: Pyralidae: Phycitinae), *Entomology and Nematology, UF/IFAS Extension* pp. 1-8.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2016. Tlacotalpan. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Gobierno del Estado de Veracruz, México.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2016. Tlatetela. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Gobierno del Estado de Veracruz, México.
- IUCN. 2019. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2018-2. <http://www.iucnredlist.org>
- Ivanova, N.V, J.R. de Waard., P.D.N. Hebert. 2006. An inexpensive, automation friendly protocol for recovering high-quality DNA. *Molecular Ecology Notes* 6:998–1002.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16:111–120.
- Leshner-Gordillo, A.M., J.L. Martínez-Sánchez., P. Orduña- Rodas., A.I. Hernández-Carreta. 2018. Diversidad genética del cedro rojo (*Cedrela odorata*) en el estado de Tabasco, México. *Bosque.* 39(3): 411-417.
- Loayza, M. 1978. El barrenador de las Meliaceae *Hypsipyla grandella* (Zeller). CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigaciones y Enseñanza).
- Macedo, M.A. 2018. Efecto del manejo sobre la variabilidad genética de *Cedrela odorata* L. en el estado de Hidalgo. Tesis de maestría. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería área académica de biología. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo.
- Marin- Hernandez, T., H.S. Azpiroz., C. Parraguirre., V. Sanchez., E. Velasco., R. Hernandez., A. Sanchez., A. Rueda. 2012. Análisis de dimensiones dasométricas y porcentaje del ataque de *Hypsipyla grandella* Zeller en *Cedrela odorata* L. *Revista mexicana de ciencias forestales.* 3(13).
- Mariscal-Lucero, S.R. 2014. Estudio de la variabilidad molecular y fitoquímica de *Cedrela odorata* L. cultivada. Tesis de Doctorado en Ciencias en Biotecnología. Instituto Politecnico Nacional.
- Marroquín, G.G. 1988. Experiencias colombianas con cedro. Corporación Nacional de Investigaciones y Fomento Forestal. Bogotá. 85p.
- Morrone, J.J. 2000. Sistemática, biogeografía, evolución. Los patrones de la biodiversidad en tiempo-espacio. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Murillo-Hiller, L.R. 2007. Un método para la identificación de tres especies cripticas de *Protesilaus*, (Lepidoptera: Papilionidae) del sur de Brasil, basada en su morfología genital. *Rev. Biol.Trop.* 55(2).
- Navarro, C., S. Cavers., A. Pappinen., P. Tigerstedt., A. Lowe., J. Merila. 2005. Contrasting quantitative traits and neutral genetic markers for genetic resource assessment of Mesoamerican *C. odorata*. *Silvae Genetica,* 54(6):281-292.

- Neunzig, H. H. 1990. A new species of *Dioryctria* (Pyralidae: Phycitinae) from Mexico. Proc. Entomol. Soc. Wash. 92: 493-496  
<https://www.biodiversitylibrary.org/page/26238084#page/505/mode/thumb>.
- Patiño, F. 1997. Recursos genéticos de *Swietenia* y *Cedrela* en los neotrópicos. Propuestas para acciones coordinadas. FAO. pp 58,
- Pennington, T.D., J. Sarukhán. 1998. (Segunda Edición). Árboles Tropicales de México. Manual para la Identificación de las Principales Especies. UNAM/FCE 498 p.
- Roe, A.D., D.R. Miller., S.J. Weller. 2011. Complexity in *Dioryctria zimmermani* species group: incongruence between species limits and molecular diversity. Ann. Entomol. Soc. Am. 104 (6): 1207-1220.
- Roe, A.D., F.A.H Sperling. 2007. Population structure and species boundary delimitation of cryptic *Dioryctria* moths: an integrative approach. Mol. Ecol. 16:3617-3633.
- Roe, A.D., F.A.H Sperling. 2007. Population structure and species boundary delimitation of cryptic *Dioryctria* moths: an integrative approach. Mol. Ecol. 16:3617-3633.
- Roe, A.D., J.D. Stein., N.E Gillette., F.A.H Sperling. 2006. Identification of *Dioryctria* (Lepidoptera: Pyralidae) in a seed orchard at Chico, California. Ann. Entomol. Soc. Am. 99:433-448.
- Roe, A.D., S. J. Weller., J. Baixeras., J. Brown., M.P. Cummings., D.R. Davis., A.Y. Kawahara., C.S. Parr., J.C. Regier., D. Rubinoff., T.J. Simonsen., N. Wahlberg., A. Zwick. 2010. Evolutionary Framework for Lepidoptera Model Systems. Molecular Biology and Genetics of the Lepidoptera. Editors M.R. Goldsmith and Frantisek.
- Roe, A.D., S.J Weller., J. Baixeras., J. Brown., M.P. Cummings., D.R. Davis., A.Y. Kawahara., C.S. Parr., J.C. Regier., D. Rubinoff., T.J. Simonsen., N. Wahlberg., A. Zwick. 2010. Evolution Framework for Lepidoptera Model Systems. En M.R. Goldsmith., F. Marec (Ed.) Molecular Biology and Genetics of the Lepidoptera (pp. 1-24).
- Roe, A.D., T. Simonsen., B. Sholtens., F.H. Sperling., S. Weller. 2015. Phycitinae Phylogeny Based On Two Genes, With Implications For Morphological Trait Evolution And Heinrich's Tribal Classification (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of the Lepidopterists' Society 69(3): 157–172.
- Ruiz-Cancino, E., J.M. Coronado-Blanco. 2010. Manual de plagas y enemigos naturales en cedro rojo de Tamaulipas, norte de Veracruz y de San Luis Potosí. Plaza y Valdes, S.A de C.V. México, D.F.
- Ruiz-Jiménez, C.A., H.M. De los Santos-Posadas., J.F. Parraguirre-Lezama., F.D. Saavedra-Millán. 2018. Evaluación de la categoría de riesgo de extinción de cedro rojo (*Cedrela odorata*) en México. Revista mexicana de biodiversidad 89(3).
- Rull, V. 2006. Quaternary speciation in the Neotropics. Mol Ecol 15, 4257-4259.
- Rull, V. 2008. Speciation timing and neotropical biodiversity: the Tertiary–Quaternary debate in the light of molecular phylogenetic evidence. *Molecular Ecology* 17: 2722-2729.
- Saitou, N., M. Nei. 1987. The neighborjoining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. 4:406–425 through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 270(1512), 313-321.
- Sánchez-Soto, S., M. Domínguez- Domínguez., H. Cortes-Madrigal. 2009. Efecto de la sombra en plantas de Caoba sobre la incidencia de *Hypsipyla grandella* Zeller y otros insectos, en Tabasco, México. Universidad y Ciencia 25(3): 225-232.



- Santos, O., O. Delgado., J. Argüelles., E. Aguilar. 2009. Evaluación del comportamiento del complejo *Spodoptera* con la introducción de algodón transgénico al Tolima, Colombia. Revista Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria. 10 (1): 24-32.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, MX). 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059. Protección ambiental - Lista de especies en riesgo. 78 p.
- Simmons, G.S., L. Alphey., T. Vasquez., N.I. Morrison., M.J. Epton., T.A. Miller., R.T. Staten. 2007. Potential use of a conditional lethal transgenic pink bollworm *Pectinophora gossypiella*, pp. 119-123 In Vreysen MJB, Robinson AS, Hendrichs J [eds.], Area-Wide Control of Insect Pests: From Research to Field implementation. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- SIPRE. 2016. Precios de productos forestales maderables. Sistema de Precios de Productos Forestales Maderables, México, Distrito Federal, México. Recuperado el 15 febrero, 2019 de <https://www.cnf.gob.mx:8443/snif/portal/economica/sipre>
- Suckling D.M., A.M. Barrington. AM, A. Chagan. A, A.E.A. Stephens., G.M. Burnip., J.G. Charles., S.L. Wee. 2007. Eradication of the Australian painted apple moth *Teia anartoides* in New Zealand: trapping, inherited sterility, and male competitiveness, pp. 603-615 In Vreysen MJB, Robinson AS, Hendrichs J. [eds.], Area-Wide Control of Insect Pests: From Research to Field Implementation. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Tavares de Castro, M., S.C. Linhares., R. Gomes. 2016. Breeding and biology of *Hypsipyla grandella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) fed with mahogany seeds (*Swietenia macrophylla* King). Journal of Asia-Pacific Entomology 19:217-221.
- Taveras, R., H. Hilje., M.Carballo. 2004. Development of *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidea) in response to constant temperatures. Neotropical Entomology. 33(1): 001-006.
- Van der Hout. 2015. Resource Assessment and Forest Management Plan for the CITES-Listed
- Varela, C., M.E Souki. 2013. Relaciones fenéticas y clave taxonómica para diferenciar las especies del género *Cedrela* (Meliaceae) en Venezuela. Caldasia. 35(2):281-292.
- Vargas, C., P.J. Shannon., R. Taveras., F. Soto., L. Hilje. 2001. Un nuevo método para la cría masiva de *Hypsipyla grandella* Hoja Técnica No. 39. Manejo Integrado de Plagas, 62.
- Woodburne, M. 2010. The Great American Biotic Interchange: Dispersals, Tectonics, Climate, Sea Level and Holding Pens. *Journal of Mammalian Evolution* 17, 245-264.
- Zhu, X., M. Yuan., M. Shakeel., Y. Zhang., S. Wang., X. Wang., S. Zhan., T. Kang., J. Li. 2014. Selection and evaluation of reference genes for expression analysis using qRT-PCR in the beet Armyworm *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Plos one. 9(1).