

Biotempo (Lima)



<https://revistas.urp.edu.pe/index.php/Biotempo>

RESEARCH NOTE / NOTA CIENTÍFICA

MOLECULAR IDENTIFICATION, BIOLOGY AND ECOLOGY OF *TITYA SYNOECURA* (DYAR, 1914) (LEPIDOPTERA: LASIOCAMPIDAE) IN PANAMA

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR, BIOLOGÍA Y ECOLOGÍA DE *TITYA SYNOECURA* (DYAR, 1914) (LEPIDOPTERA: LASIOCAMPIDAE) EN PANAMÁ

Alonso Santos-Murgas^{1,2*} & Luis A. Jaen³

^{1,2}Universidad de Panamá, Museo de Invertebrados G.B. Fairchild, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología, Departamento de Zoología, Ciudad de Panamá, Panamá. santosmurgasa@gmail.com.

² Estación Científica Coiba (Coiba-AIP), Ciudad del Saber, Panamá, Panamá.

³ Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología, Departamento de Genética y Biología Molecular, Ciudad de Panamá, Panamá. luisangeljaen@gmail.com

*Corresponding author: santosmurgasa@gmail.com

Alonso Santos-Murgas:  <https://orcid.org/0000-0001-9339-486X>

Luis A. Jaen:  <https://orcid.org/0000-0002-9374-8741>

ABSTRACT

This work provides information on molecular identification, biology, and ecology of the moth *Titya synoecura* (Dyar, 1914) (Lepidoptera: Lasiocampidae) and aggregates of its larvae are recorded carrying out herbivory on *Banara guianensis* Aublet 1775 (Plantae: Salicaceae). Also, this species of moth is recorded for the first time in Panama. Information is provided on the behavior of the larvae in their nest, and information on their distribution in the region is updated.

Keywords: *Banara guianensis* – Herbivory – Hymenoptera – Lasiocampidae – *Titya synoecura*.

RESUMEN

En el presente trabajo se aporta información sobre la identificación molecular, biología y ecología de la mariposa nocturna *Titya synoecura* (Dyar, 1914) (Lepidoptera: Lasiocampidae) y se registran agregados de sus larvas efectuando herbivoría en *Banara guianensis* Aublet 1775 (Plantae: Salicaceae). También, se registra por primera vez para Panamá esta especie de polilla. Se aporta información de la conducta de las larvas en su nido de seda, y se actualiza información sobre su distribución en la región.

Palabras clave: *Banara guianensis* – Herbivoría – Hymenoptera – Lasiocampidae – *Titya synoecura*.



INTRODUCCIÓN

Los lasiocámpidos son polillas de la familia Lasiocampidae; son lepidópteros ditrisios, conocidas como “eggars”, “orugas de tienda”, “polillas hociqueras o polillas lappet”, con más de 2.000 especies y posiblemente con muchas especies sin describir. Son de distribución cosmopolita. Las larvas están cubiertas de vellosidad, especialmente en la parte lateral de su cuerpo. En muchas especies, las larvas conforman grandes agregaciones y construyen una red de hilos de seda en el árbol donde viven como protección. Los adultos son robustos y de gran tamaño, con alas anchas. Algunos tienen las piezas bucales reducidas y algunos de estos no se alimentan cuando son adultos (Fitzgerald, 1995; García-Barros, 1999).

La mariposa nocturna *Titya synoecura* (Dyar, 1914) (Lepidoptera: Lasiocampidae), presenta una coloración beige, y son polillas de tamaño mediano. Los machos presentan coloración más intensa en las alas que la hembra y posee abdomen más robusto, esta es una de las diferencias entre ambos sexos. Presenta muy pocos registros de recolecta y tampoco se conoce casi nada sobre las plantas hospederas que se alimentan sus larvas (<https://www.acguanacaste.ac.cr/creditos>).

En cuanto a sus enemigos naturales aún no se conocen; solo se tiene registro que una especie de avispa *Enicospilus* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae), no identificada a nivel de especie, que se encontró parasitando larvas de *T. synoecura* en Costa Rica (<https://www.acguanacaste.ac.cr/creditos>).

El presente trabajo tiene como objetivos aportar información biológica y ecológica de *T. synoecura* para Panamá.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y procedimientos de campo

Se realizaron cinco visitas al área boscosa en la comunidad de Altos del María, en el corregimiento de Sorá, Distrito de Capira, Panamá. Los meses de muestreo fueron abril, mayo, junio, julio y agosto del 2023; cada visita al campo comprendía tres días y dos noches. El sitio se encuentra ubicados a los 08° 38' 32,1" Latitud N, 080° 02' 03,4" Longitud W, a una altitud entre 487,68 y 1005,8 msnm, con una topografía entre ondulada y pendientes.

Ecológicamente, la región está ubicada en la zona de vida bosque húmedo tropical; tiene una precipitación anual acumulada de 1,500 mm a 1,800 mm; temperatura promedio anual de 26,8 °C; humedad relativa promedio anual de 76,6%; brillo solar anual acumulado de 165,8 h; dirección diurna del viento SE en 2m: 1,4 m/seg y dirección nocturna del viento NW a 10 m: 2,7 m/seg. Estos datos fueron suministrados por la Estación meteorológica ETESA, S. A. 8° 57' 6'' O y 79° 51' 8'' W, La Zanguenga, Panamá Oeste, 2024.

En agosto de 2023 se recolectaron en campo, 130 larvas de Lasiocampidae sobre un árbol de *Bianara guianensis* Aubl. con larvas de *T. synoecura*. Se esperó que iniciaran el proceso de pupa y posteriormente fueron trasladados a una cámara de cría al Laboratorio de Entomología Sistemática del Museo de Invertebrados, G.B. Fairchild, Universidad de Panamá (Fig. 1; 2-A, 2-B, 3-A, 3-B). La investigación fue de naturaleza descriptiva y exploratoria. Se realizaron observaciones a la vegetación aledaña y se llevó registro fotográfico de todas las etapas de desarrollo observadas de los insectos.

El 90% de los especímenes que emergieron de las pupas fueron liberados en el sitio donde se colectaron; el 10% fueron debidamente etiquetados con la información de colecta para su preservación e identificación y fungieran como “Voucher”.

La identificación se realizó en el Laboratorio de Entomología Sistemática del Museo de Invertebrados G. B. Fairchild, Universidad de Panamá; consultándose la colección de referencia, además se utilizó la Colección de referencia del Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales, Panamá. Se realizaron comparaciones de caracteres morfológicos y se revisó la distribución conocida de *T. synoecura*. Para la identificación de la planta *B. guianensis* Aubl (Malpighiales: Salicaceae) se utilizó a Missouri Botanical Garden (2024).

Para la identificación de todos los insectos, se utilizó un estereoscopio Leica M205°. Todo el material biológico se encuentra depositado en la Colección Nacional de Referencia del Museo de Invertebrados G. B. Fairchild, de la Universidad de Panamá (MIUP-UP) con números de registro: MIUP-DS-0001-2024 al MIUP-DS-0042-2024.

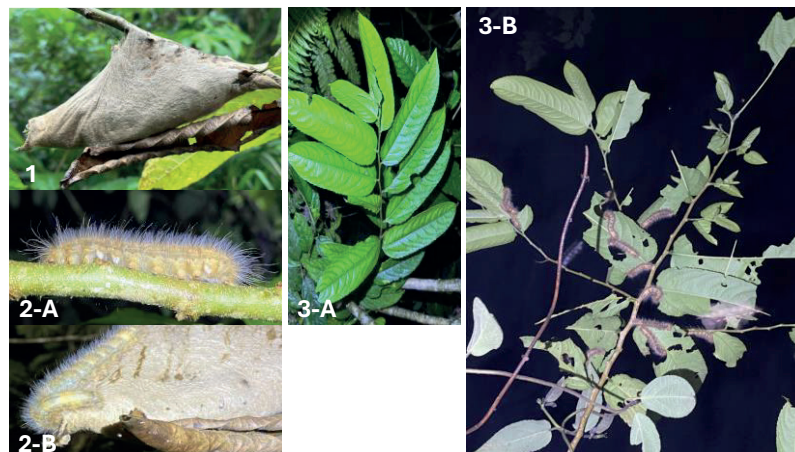


Figura 1. Bolsa de seda “casa” de *Titya synoecura*. **Figura 2-A.** Larva de *T. synoecura* recorriendo el árbol de *B. guianensis*. **Figura 2-B.** Larva de *T. synoecura* saliendo de la “casa”. **Figura 3-A.** Rama con hojas de *B. guianensis*. **Figura 3-B.** Larvas de *T. synoecura* herborizando en horas de la noche.

Extracción, amplificación y secuenciación del ADN

El ADN genómico de las muestras se obtuvo del tórax del insecto utilizando un kit NucleoSpin DNA Insect (Macherey-Nagel), siguiendo las indicaciones del fabricante.

Para la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), como marcador molecular se utilizó el gen que codifica la proteína mitocondrial citocromo oxidasa I (COI). Los cebadores necesarios para la amplificación por PCR se obtuvieron de (Folmer *et al.*, 1994; Simons *et al.*, 1994) para gen COI. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo siguiendo el protocolo de (Murphy *et al.*, 2007) en volúmenes de reacción de 50 μ L utilizando el kit GoTaq® Green Master Mix de Promega. Los productos amplificados se analizaron en una electroforesis en gel de agarosa al 1,2%.

Los productos de PCR obtenidos fueron secuenciados con el kit BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems), siguiendo las indicaciones del fabricante. En la reacción de secuenciación se emplearon 5 picomoles del conjunto de cebadores mencionados y se añadieron 40 ng del producto amplificado. Posteriormente, se realizó la electroforesis capilar de los productos secuenciados, que fueron analizados con el analizador genético 3500XL (ThermoFisher Scientific, EE.UU). La edición de los electroferogramas y la identificación de los insertos se efectuaron utilizando el software UGENE. (Okonechnikov *et al.*, 2012). Las secuencias obtenidas se compararon con secuencias depositadas en el GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), utilizando

el programa Blastn (Altschul *et al.*, 1990) “basic local alignment search tool” (BLAST y BOLDSYSTEM (<https://www.boldsystems.org/>)) para posteriormente realizar los análisis filogenéticos en el software MEGA 11 (Tamura *et al.*, 2021).

Aspectos éticos

Los autores garantizamos que los procedimientos cumplen la normativa ética exigida en el país.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las cinco visitas realizadas al sitio de estudio, en agosto del 2023 fueron encontradas un grupo de aproximadamente 48 larvas de *T. synoecura* que son muy difíciles de encontrar y observar, debido a que en esta especie sus larvas construyen una estructura a base de seda, con una sola abertura de entrada y salida, bastante compacta en forma de bolsa, adherida a una rama y a una altura de 10 m sobre el suelo, y durante el día se introducen y permanecen dentro de esa “casa”. Durante el día pueden salir a defecar y vuelven a salir nuevamente al caer la noche a alimentarse del mismo árbol donde se encuentran; en este caso las larvas se encuentran en un árbol de *B. guianensis* (Figs. 1, 2-A, 2-B, 3-A, 3-B). Esta especie de planta alcanza un tamaño considerable de 2-15 m. Este árbol es muy común en bosques semicaducifolios, zonas norcentral y atlántica; a una altitud de 30–1000 msnm desde Nicaragua hasta Bolivia y Brasil.

El “saco” de seda se dejó en el sitio por ocho días adicionales hasta que todas puparon en el interior del “saco” de seda. Las pupas se encuentran envueltas en seda y el capullo miden aproximadamente 3,2 mm. Posteriormente en el laboratorio emergieron las 48 mariposas nocturnas, *T. synoecura*.



Figura. 4. *Titya synoecura* en cópula. **Fig. 5.** Hembra de *T. synoecura* ovipositando en el laboratorio. **Fig. 6.** Huevos de *T. synoecura* expuestos. **Fig. 7.** Larva de *T. synoecura* sobre “casa”. **Fig. 8.** Tamaño de las pupas de *T. synoecura*. **Fig. 9.** Liberación de *T. synoecura* (macho) en campo.

Es el segundo reporte de esta especie en condiciones naturales observadas desde larvas hasta adulto. El primer reporte fue realizado en Costa Rica, Guanacaste, Sector Pitilla ACG, Estación Biológica Quica, Calma (412 msnm).

Se confirma el comportamiento de *T. synoecura* que viven camufladas en dentro de la casa de seda, durante el día y salen al caer la noche para herbivorizar las hojas del árbol *B. guianensis*.

La secuencia de ADN del marcador COI de *T. synoecura*, obtenida a partir del producto amplificado de PCR usando los cebadores universales para COI (Folmer *et al.*, 1994; Simons *et al.*, 1994) se identifica mediante el código de barras de ADN COI.

La secuencia de ADN de nuestra muestra fue depositada en la plataforma GenBank del NCBI con número de acceso PQ395180, con esta secuencia de ADN del marcador molecular gen de la subunidad I de citocromo oxidasa (COI), se realizó una búsqueda con la herramienta Blastn (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), que ayudó a identificar similitudes y diferencias entre las secuencias. Para nuestra secuencia del gen COI observamos un nivel de similitud del 96,16%, con la secuencia GU204030.1 especie *T. synoecura*. depositada en GenBank. Tanto en

En el laboratorio hembras y machos copularon (5 parejas) y colocaron masas de huevos envueltos en cúmulos de hilos unidos fuertemente, parecen escamas alargadas endurecidas, en su interior se encontraban entre dos a cuatro huevos y eran colocados en las paredes de la malla donde se encontraban. Posterior a este evento reproductivo las parejas fueron liberadas al campo (Fig. 4, 5, 6, 7, 8, 9).

En BOLDSYSTEM y GenBank, nuestras secuencias muestran arriba de un 96% de similitud e identidad con secuencias de la especie *T. synoecura*.

Para el análisis filogenético se alineó la secuencia obtenida del marcador COI con secuencias representativas de las secuencias de referencia del género *Titya* y secuencias para posteriormente realizar un árbol filogenético mostrado en la Fig. 10. Este árbol de consenso bootstrap inferido a partir de 1000 réplicas se toma para representar la historia evolutiva de los taxones analizados (Felsenstein, 1985). Las ramas correspondientes a particiones reproducidas en menos del 50% de réplicas Bootstrap; junto a las ramas se muestra el porcentaje de árboles replicados en los que los taxones asociados se agruparon en la prueba bootstrap (1000 réplicas) (Felsenstein, 1985).

Las distancias evolutivas se calcularon utilizando el método de Kimura de 2 parámetros (Kimura, 1980), y están en unidades del número de sustituciones de bases por sitio.

La variación de la tasa entre sitios se modeló con una distribución gamma (parámetro de forma = 1). El árbol ME se buscó utilizando el algoritmo Close-Neighbor-Interchange (CNI) (Nei & Kumar, 2000) a un nivel de búsqueda de 1. El algoritmo Neighbor-joining (Saitou & Nei, 1987) se utilizó para generar el árbol inicial.

Este análisis incluyó 21 secuencias de nucleótidos. Las posiciones de codones incluidas fueron 1^a+2^a+3^a+No codificante. Se eliminaron todas las posiciones ambiguas de cada par de secuencias (opción de eliminación por pares).

En el conjunto de datos final había un total de 391 posiciones. Los análisis evolutivos se realizaron en MEGA11 (Tamura *et al.*, 2021). Nuestra muestra PAN *Titya* se incluye dentro del grupo de especies de *T. synoecura* con un alto nivel de parentesco lo que corrobora el análisis taxonómico y comparación de nucleótidos en la plataforma BOLDSYSTEM y GenBank.

Entre las principales limitaciones que presentamos en este estudio es la poca información bibliográfica publicada en varios aspectos, biológicos, ecológicos y taxonómicos. De igual forma las escasas colectas y observaciones en campo de la especie. Otras de las limitaciones son las pocas secuencias alojadas en los bancos de genes (GenBank) de la región, para poder comparar y tener una aproximación mas exacta.

Podemos concluir que este trabajo contribuye a llenar un vacío al conocimiento biológico, ecológico, distribución geográfica e identificación molecular de la especie. Además, contribuimos en alojar la secuencia genética de la especie al banco de genes (GenBank) para la región; esto contribuye para que otros investigadores puedan tener acceso a la información y poder utilizarlas en sus investigaciones relacionada al tema y al grupo de insecto.

AGRADECIMIENTOS

Todos los autores declaramos que no tenemos conflicto de interés. Agradecemos el financiamiento de la Universidad de Panamá y a través del contrato de subsidios económicos SENACYT DDCCT N°. 004-2023.

Author contributions: CRediT (Contributor Roles Taxonomy)

ASM = Alonso Santos-Murgas

LAJ = Luis A. Jaen

Conceptualization: ASM

Data curation: ASM, LAJ

Formal Analysis: ASM, LAJ

Funding acquisition: ASM

Investigation: ASM

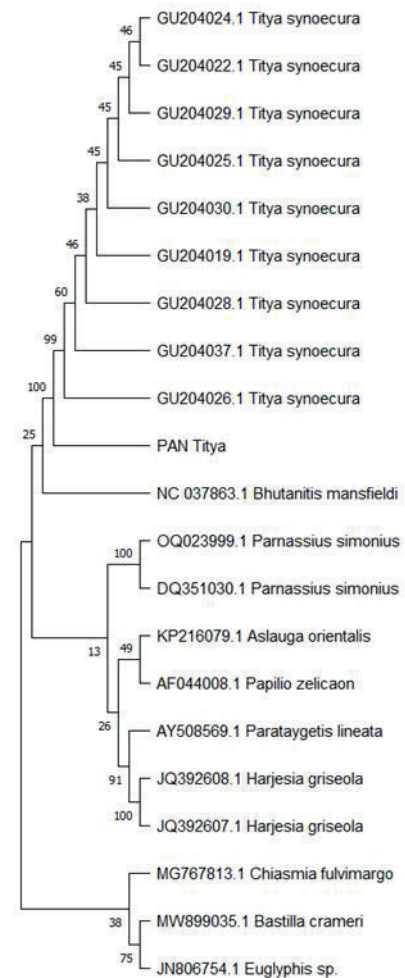


Figura. 10. Árbol filogenético, obtenido con el método de máxima verosimilitud, resultado del análisis de secuencias COI depositadas en el Genbank y nuestra secuencia (PAN *Titya*).

Methodology: ASM, LAJ

Project administration: ASM

Resources: ASM, LAJ

Software: LAJ

Supervision: ASM

Validation: ASM

Visualization: ASM, LAJ

Writing – original draft: ASM

Writing – review & editing: ASM, LAJ

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, *215*, 403–410.
- Área de Conservación de Guanacaste, (2024). *Fuente de Vida y Desarrollo. Titya synoecura* (Lasiocampidae). <https://www.acguanacaste.ac.cr/paginas-de-especies/insectos/114-lasiocampidae/286-dinia-martinez>
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, *39*, 783–791.
- Fitzgerald, T. D. (1995). *The tent caterpillars*. Cornell University Press.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, *3*, 294–299.
- García-Barros, E. (1999). Filogenia y Evolución de Lepidoptera. *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*, *26*, 475–483.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, *16*, 111–120.
- Murphy, N. P., Carey, D., Castro, L. R., Dowton, M., & Austin, A. D. (2007). Phylogeny of the platygastroid wasps (Hymenoptera) based on sequences from the 18S rRNA, 28S rRNA and cytochrome oxidase I genes: implications for the evolution of the ovipositor system and host relationships. *Biological journal of the Linnean Society*, *91*, 653–669.
- Nei, M., & Kumar, S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press.
- Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M., Varlamov, A., Vaskin, Y., Efremov, I., German-Grehov, O. G., Kandrov, D., Rasputin, K., Syabro, M., & Tleukenov, T. (2012). Unipro UGENE: A unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*, *28*, 1166–1167.
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, *4*, 406–425.
- Simons, C., Frati, F., Beckenbach, A., & Crespi, B. (1994). Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved Polymerase Chain Reaction Primers. *Annals of the Entomological Society of America*, *87*, 651–701.
- Tamura, K., & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, *10*, 512–526.
- Tamura, K., Steche, G., & Kumar, S. (2021). MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, *38*, 3022–3027.

Received August 7, 2024.

Accepted September 30, 2024.