

1 Biotempo, 2024, vol. 21 (2), XX-XX.

2 DOI: <https://doi.org/10.31381/biotempo.v21i2.6857>

3 Este artículo es publicado por la revista Biotempo de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú. Este es un artículo de acceso
4 abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea
5 debidamente citada de su fuente original.
6



7
8
9 RESEARCH NOTE/ NOTA CIENTÍFICA

10
11 MOLECULAR IDENTIFICATION, BIOLOGY AND ECOLOGY OF *TITYA SYNOECURA* (DYAR,
12 1914) (LEPIDOPTERA: LASIOCAMPIDAE) IN PANAMA

13
14 IDENTIFICACIÓN MOLECULAR, BIOLOGÍA Y ECOLOGÍA DE *TITYA SYNOECURA* (DYAR,
15 1914) (LEPIDOPTERA: LASIOCAMPIDAE) EN PANAMÁ

16
17 Alonso Santos-Murgas^{1,2*} & Luis A. Jaen³

18
19 ^{1,2}Universidad de Panamá, Museo de Invertebrados G.B. Fairchild, Facultad de Ciencias Naturales,
20 Exactas y Tecnología, Departamento de Zoología, Ciudad de Panamá, Panamá.
21 santosmurgasa@gmail.com.

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

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

25 Santos-Murgas & Jaen

26 Titulillo: Molecular identification of *Titya synoecura*

27 *Corresponding author: santosmurgasa@gmail.com

28
29 Alonso Santos-Murgas:  <https://orcid.org/0000-0001-9339-486X>

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

31

32 **ABSTRACT**

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

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

39

40 **RESUMEN**

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

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

47

48

49 **INTRODUCCIÓN**

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

57

58 La mariposa nocturna *Titya synoecura* (Dyar, 1914) (Lepidoptera: Lasiocampidae), presenta una
59 coloración beige, y son polillas de tamaño mediano. Los machos presentan coloración más intensa en las
60 alas que la hembra y posee abdomen más robusto, esta es una de las diferencias entre ambos sexos.

61 Presenta muy pocos registros de colecta, tampoco se conoce casi nada sobre las plantas hospederas que se
62 alimentan sus larvas (<https://www.acguanacaste.ac.cr/creditos>).

63
64 En cuanto a sus enemigos naturales aún no se conocen; solo se tiene registro que una especie de avispa
65 *Enicospilus* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae), no identificada a nivel de especie, se encontró
66 parasitando larvas de *T. synoecura* en Costa Rica (<https://www.acguanacaste.ac.cr/creditos>).

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

69

70 **MATERIALES Y MÉTODOS**

71 **Área de estudio y procedimientos de campo**

72 Se realizaron cinco visitas al área boscosa en la comunidad de Altos del María, en el corregimiento de
73 Sorá, Distrito de Capira, Panamá. Los meses de muestreo fueron abril, mayo, junio, julio y agosto del
74 2023; cada visita al campo comprendía tres días y dos noches. El sitio se encuentra ubicados a los 08° 38´
75 32,1” Latitud N, 080° 02´ 03,4” Longitud W, a una altitud entre 487,68 y 1005,8 msnm, con una topografía
76 entre ondulada y pendientes.

77

78 Ecológicamente, la región está ubicada en la zona de vida bosque húmedo tropical; tiene una precipitación
79 anual acumulada de 1,500 mm a 1,800 mm; temperatura promedio anual de 26,8 °C; humedad relativa
80 promedio anual de 76,6%; brillo solar anual acumulado de 165,8 h; dirección diurna del viento SE en 2m:
81 1,4 m/seg y dirección nocturna del viento NW a 10 m: 2,7 m/seg. Estos datos fueron suministrados por la
82 Estación meteorológica ETESA, S. A. 8° 57´6” O 79° 51´ 8” W, La Zanguenga, Panamá Oeste, 2024.

83

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

90

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

94

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

101

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

106

107

108

109

110

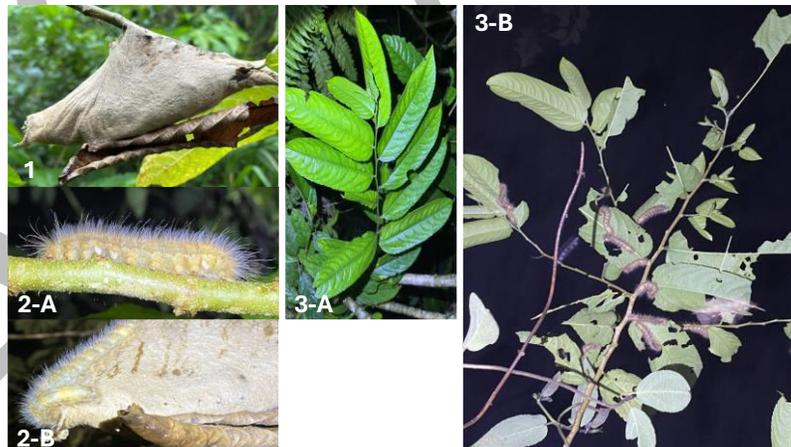
111

112

113

114

115



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

119

120 **Extracción, amplificación y secuenciación del ADN**

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

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

129 Los productos de PCR obtenidos fueron secuenciados con el kit BigDye Terminator v3.1 (Applied
130 Biosystems), siguiendo las indicaciones del fabricante. En la reacción de secuenciación se emplearon 5
131 picomoles del conjunto de cebadores mencionados y se añadieron 40 ng del producto amplificado.
132 Posteriormente, se realizó la electroforesis capilar de los productos secuenciados, que fueron analizados
133 con el analizador genético 3500XL (ThermoFisher Scientific, EE.UU.). La edición de los
134 electroferogramas y la identificación de los insertos se efectuaron utilizando el software UGENE.
135 (Okonechnikov *et al.*, 2012). Las secuencias obtenidas se compararon con secuencias depositadas en el
136 GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>),
137 utilizando el programa Blastn (Altschul *et al.*, 1990) y BOLDSYSTEM
138 (<https://www.boldsystems.org/>) para posteriormente realizar los análisis filogenéticos en el software
139 MEGA 11 (Tamura *et al.*, 2021).

140

141 **Aspectos éticos:** Los autores garantizamos que los procedimientos cumplen la normativa ética exigida en
142 el país.

143

144 **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

145

146 De las cinco visitas realizadas al sitio de estudio, en agosto del 2023 fueron encontradas un grupo de
147 aproximadamente 48 larvas de *T. synoecura* que son muy difíciles de encontrar y observar, debido a que
148 en esta especie sus larvas construyen una estructura a base de seda, con una sola abertura de entrada y
149 salida, bastante compacta en forma de bolsa, adherida a una rama y a una altura de 10 m sobre el suelo, y
150 durante el día se introducen y permanecen dentro de esa “casa”. Durante el día pueden salir a defecar
151 y vuelven a salir nuevamente al caer la noche a alimentarse del mismo árbol donde se encuentran; en este

152 caso las larvas se encuentran en un árbol de *B. guianensis* (Fig. 1; 2-A, 2-B, 3-A, 3-B) esta especie de
153 planta alcanza un tamaño considerable de 2-15 m. Este árbol es muy común en bosques semicaducifolios,
154 zonas norcentral y atlántica; a una altitud de 30–1000 msnm desde Nicaragua hasta Bolivia y Brasil.

155

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

159

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

164



165

166

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

170

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

174

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

177

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

181

182 La secuencia de ADN de nuestra muestra fue deposita en la plataforma GenBank del NCBI con numero
183 de acceso PQ395180, con esta secuencia de ADN del marcador moleculares gen de la subunidad I de
184 citocromo oxidasa (COI), se realizó una búsqueda con la herramienta Blastn
185 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), que ayudó a identificar similitudes y diferencias entre las
186 secuencias. Para nuestra secuencia del gen COI observamos un nivel de similitud del 96.16%, con la
187 secuencia GU204030.1 especie *T. synoecura*. depositada en GenBank. Tanto en En BOLDSYSTEM y
188 GenBank, nuestras secuencias muestran arriba de un 96% de similitud e identidad con secuencias de la
189 especie *T. synoecura*.

190

191 Para el análisis filogenético se alinea la secuencia obtenida del marcador COI con secuencias
192 representativas de las secuencias de referencia de del género *Tytia* y secuencias para posteriormente
193 realizar un árbol filogenético mostrado en la Fig. 10. Este árbol de consenso bootstrap inferido a partir de
194 1000 réplicas se toma para representar la historia evolutiva de los taxones analizados (Felsenstein, 1985).
195 Las ramas correspondientes a particiones reproducidas en menos del 50% de réplicas Bootstrap; junto a
196 las ramas se muestra el porcentaje de árboles replicados en los que los taxones asociados se agruparon en
197 la prueba bootstrap (1000 réplicas) (Felsenstein, 1985).

198

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

201

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

206

207 Este análisis incluyó 21 secuencias de nucleótidos. Las posiciones de codones incluidas fueron
208 1^a+2^a+3^a+No codificante. Se eliminaron todas las posiciones ambiguas de cada par de secuencias (opción
209 de eliminación por pares).

210

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

215

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

220

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

226

227

228
229
230
231
232
233
234
235
236
237
238
239
240
241
242
243
244
245
246
247
248
249
250
251
252
253
254
255
256
257
258

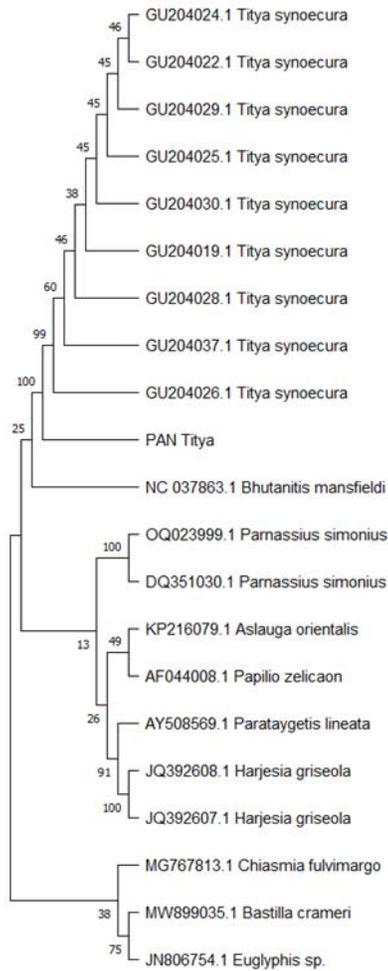


Figura. 10. Árbol filogenético, obtenido con el método de máxima verosimilitud, resultado del análisis del análisis de secuencias COI depositadas en el Genbank y nuestra secuencia (PAN *Titya*).

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)

259 **ASM** = Alonso Santos-Murgas

260 **LAJ** = Luis A. Jaen

261

262 **Conceptualization:** ASM

263 **Data curation:** ASM, LAJ

264 **Formal Analysis:** ASM, LAJ

265 **Funding acquisition:** ASM

266 **Investigation:** ASM

267 **Methodology:** ASM, LAJ

268 **Project administration:** ASM

269 **Resources:** ASM, LAJ

270 **Software:** LAJ

271 **Supervision:** ASM

272 **Validation:** ASM

273 **Visualization:** ASM, LAJ

274 **Writing – original draft:** ASM

275 **Writing – review & editing:** ASM, LAJ

276

277 **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

278

279 Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search
280 tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403–410.

281 Área de Conservación de Guanacaste, (2024). Fuente de Vida y Desarrollo. *Titya synoecura*
282 (Lasiocampidae). [https://www.acguanacaste.ac.cr/paginas-de-especies/insectos/114-
283 lasiocampidae/286-dinia-martinez](https://www.acguanacaste.ac.cr/paginas-de-especies/insectos/114-lasiocampidae/286-dinia-martinez)

284 Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39,
285 783–791.

286 Fitzgerald, T. D. (1995). *The tent caterpillars*. Cornell University Press.

287 Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of
288 mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular*
289 *Marine Biology and Biotechnology*, 3, 294–299.

290 Garcia Barros, E. (1999). Filogenia y Evolución de Lepidoptera. *Boletín Sociedad Entomológica*
291 *Aragonesa*, 26, 475-483.

292 Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through
293 comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16, 111–120.

294 Murphy, N. P., Carey, D., Castro, L. R., Dowton, M., & Austin, A. D. (2007). Phylogeny of the
295 platygastroid wasps (Hymenoptera) based on sequences from the 18S rRNA, 28S rRNA and
296 cytochrome oxidase I genes: implications for the evolution of the ovipositor system and host
297 relationships. *Biological journal of the Linnean Society*, 91, 653–669.

298 Nei, M., & Kumar, S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press.

299 Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M., Varlamov, A., Vaskin, Y., Efremov, I., German Grehov, O.
300 G., Kandrov, D., Rasputin, K., Syabro, M., & Tleukenov, T. (2012). *Unipro UGENE: A unified*
301 *bioinformatics toolkit*. *Bioinformatics*, 28, 1166–1167.

302 Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic
303 trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4, 406–425.

304 Simons, C., Frati, F., Beckenbach, A., & Crespi, B. (1994). Evolution, weighting, and phylogenetic utility
305 of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved Polymerase Chain Reaction
306 Primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 87, 651–701.

307 Tamura, K., & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region
308 of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10, 512-
309 526.

310 Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis
311 Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38, 3022–3027.

312 Received August 7, 2024.

313 Accepted September 30, 2024.