



**UFRGS**  
UNIVERSIDADE FEDERAL  
DO RIO GRANDE DO SUL



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

**INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

MARCELO FELIPE VARGAS ORTIZ

**Taxonomia e variação genética de um microlepidóptero  
(Gracillariidae), minador foliar de *Morella pavonis* (Myricaceae)  
no deserto de Atacama, Chile.**

PORTO ALEGRE  
2017

MARCELO FELIPE VARGAS ORTIZ

**Taxonomia e variação genética de um microlepidóptero  
(Gracillariidae), minador foliar de *Morella pavonis* (Myricaceae)  
no deserto de Atacama, Chile.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Área de concentração: Biologia comparada.

Orientador: Prof. Dr. Gilson Rudinei Pires Moreira.

Co-orientadores: Dra. Gislene Lopes Gonçalves (UFRGS)

e Dr. Wilson Huanca Mamani (UTA)

PORTO ALEGRE  
2017

MARCELO FELIPE VARGAS ORTIZ

**Taxonomia e variação genética de um microlepidóptero  
(Gracillariidae), minador foliar de *Morella pavonis*  
(Myricaceae) no deserto de Atacama, Chile.**

Aprovada em 03 de Agosto de 2017.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Luis Eduardo Parra Jiménez

---

Prof. Dr. Thales Renato Ochotorena de Freitas

---

Dr. Lucas Augusto Kaminski

## SUMÁRIO

Introdução geral.....	1
Referências.....	7
Artigo - <i>Caloptilia</i> sp1. Vargas-Ortiz & Vargas sp. nov. (Lepidoptera: Gracillariidae): a new leafminer feeding on <i>Morella pavnis</i> (Myricaceae) in the Atacama Desert of northern Chile, with notes on natural history and population genetic structure.....	12
Abstract and keywords.....	13
Introduction.....	13
Material and methods.....	15
Results.....	18
Discussion.....	27
Acknowledgements.....	31
References.....	32
Figure legends.....	39
Tables.....	42
Supporting information.....	44
Figures.....	46
Considerações finais.....	58
Anexo. Normas para publicação na revista Austral Entomology.....	60

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Gilson Moreira que me aceitou como aluno de seu laboratório. Agradeço pela sua disponibilidade, confiança, paciência, e pelo conhecimento entregue.

Ao meus coorientadores, Dra. Gislene Lopes Gonçalves, do Departamento de Genética (UFRGS), e Dr. Wilson Huanca Mamani (UTA, Arica-Chile), pela importante ajuda e sugestões nas análises moleculares, sua disponibilidade, confiança e conhecimento entregue.

Agradeço aos professores do Programa de Pós-graduação em Biologia Animal e do Departamento de Genética, pelos ensinamentos durante todas as disciplinas que consegui realizar, especialmente ao Prof. Dr. Thales Renato Ochotorena de Freitas, do Departamento de Genética, pela possibilidade de fazer a disciplina de Genética e conservação.

Agradeço a todos os meus colegas do Laboratório de Morfologia e Comportamento de Insetos, em especial ao Cristiano Marcondes Pereira, José Ricardo Assmann, Luan Dias Lima e Gabriela Thomaz, pela ajuda proporcionada no desenvolvimento do meu Mestrado e pelos bons tempos juntos.

Ao Dr. Hugo Benítez, da Universidade de Tarapacá, pela possibilidade de fazer um curso de Morfometría Geométrica e um trabalho de pesquisa em colaboração.

Ao Professor Dante Bobadilla Guzmán e Dr. Héctor Vargas Ortiz, da Universidade de Tarapacá (Arica, Chile), pela ajuda indispensável neste processo.

A Universidad de Tarapacá, pela possibilidade de trabalhar em alguns dos seus projetos de investigação científica, e pela infraestrutura utilizada para as análises do meu Mestrado.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica (CME-UFRGS) pela utilização dos seus equipamentos.

Finalmente, agradeço e dedico este trabalho:

A minha família, pela ajuda incondicional neste processo e em toda a vida.

A Emilia Francisca Vargas Espinoza, minha filha, por ser a minha maior motivação.

## INTRODUÇÃO GERAL

Lepidoptera é um dos grupos de organismos mais estudados e com maior diversidade, estando presente em quase todas as regiões e em uma grande variedade de habitats (Kristensen *et al.*, 2007; Friedlander *et al.*, 2000). Estima-se que existam mais de meio milhão de espécies no mundo, no entanto, apenas cerca de 160.000 espécies foram descritas. Na última década, em média, mais de mil novas espécies foram descritas por ano (Kristensen *et al.*, 2007). Existem mais de 14.000 gêneros descritos para a ordem, dos quais perto de 66% são considerados macrolepidopteros, e o restante pertencentes a microlepidoptera (van Nieukerken *et al.*, 2011).

Entre os microlepidópteros, a família Gracillariidae é considerada uma das mais diversas, com mais de 2.000 espécies descritas (De Prins & De Prins, 2017). A maioria são minadores de folhas, mas também há minadores de flores, frutos, brotos e caules (Davis, 1987). A morfogênese larval é caracterizada por apresentar uma notável hipermetamorfose (Kumata, 1978; Davis, 1987) que geralmente inclui, pelo menos, duas formas larvais e com diferentes hábitos alimentares. Conta da única família que apresenta larvas denominadas "*sap-feeding*", as quais tem uma morfologia altamente especializada e ocorrem normalmente nos primeiros ínstares do desenvolvimento (Kumata, 1978; Davis, 1987). Estas são ápodas com corpo e cápsula cefálica achatada dorsoventralmente e tem mandíbulas muito achatadas dorso-ventralmente, tendo um número de dentes apical reduzido, permitindo-a cortar/dilacerar o tecido da planta e absorver seiva a partir de células rompidas (Kumata 1978; Davis, 1987; Davis e Robinson, 1998). Existem, no entanto, espécies que não apresentam este morfotipo (e.g. Brito *et al.*, 2013). A outra forma larval mais comum de Gracillariidae é denominada "*tissue feeding*", que do ponto de visto ontogenético sucede o tipo "*sap-feeding*" no

desenvolvimento larval. Este morfotipo tem uma morfologia mais "comum" para Lepidoptera, com cabeça e corpo cilíndrico ou subcilíndrico, presença de pernas torácicas, e pseudopódios geralmente bem diferenciados nos segmentos abdominais A3-A5 e A10. As peças bucais são mais desenvolvidas, permitindo a alimentação de tecidos mais complexos, como células do parênquima das folhas. Outra forma larval encontrada em Gracillariidae é denominada "*spinning*", ou prepupa, que difere da forma anterior principalmente por não se alimentar (Kumata, 1978). Geralmente, a atividade desta forma larval destina-se exclusivamente para a formação do casulo pupal; apresenta alterações nas peças bucais, tais como um espinerete mais desenvolvido (Kumata, 1978), que é a peça bucal com o qual constrói o casulo. Outras peças bucais como maxilas, labro e mandíbulas, além das pernas torácicas e pseudopódios, podem também ser reduzidos, ou mesmo estarem ausentes, em algumas espécies (Kumata, 1978; Wagner *et al.*, 2000).

Em geral, as espécies de Gracillariidae tem uma estreita gama de hospedeiros, com muitos casos de monofagia ou oligofagia (De Prins & De Prins, 2014). No entanto, têm sido descritas algumas espécies polípagas, tais como *Marmara gulosa* Guillén & Davis, 2001, cujas larvas são minadoras de pelo menos cinco famílias vegetais (Guillén *et al.*, 2001).

Com relação à diversidade, cerca de 186 espécies de Gracillariidae são descritas para a região Neotropical (De Prins & De Prins, 2017). Porém, estudos recentes revelaram que existe uma grande quantidade de espécies desconhecidas nesta região, principalmente por ser ainda insuficientemente estudada (Lees *et al.*, 2014 ; Brito *et al.*, 2016). No Chile, apenas oito espécies de Gracillariidae foram descritas, das quais seis têm relatos da planta hospedeira (De Prins & De Prins, 2017). No norte em particular, foram relatadas quatro espécies nativas de Gracillariidae, com informações sobre suas

plantas hospedeiras, distribuídas nos vales transversais do deserto do Atacama; *Angelabella tecomae* Vargas & Parra, 2005, *Acrocercops serrigera serrigera* Meyrick, 1915, *Chileoptilia yaroella* Vargas & Landry, 2005, e *Leurocephala chilensis* Vargas & Moreira, 2017. A espécie descrita neste trabalho que é nativa do Deserto do Atacama, foi recentemente descoberta. Pertencente ao gênero *Caloptilia* Hübner, 1825, seu estágio imaturo é monofago e utiliza como planta hospedeira a árvore nativa "Guacano", *Morella pavonis* (Myricaceae).

O gênero *Caloptilia* Hübner, 1825, apresenta 20 espécies relatadas para a região Neotropical e a associação de Gracillariidae com plantas da família Myricaceae como planta hospedeira tem sido relatada para treze espécies de Gracillariidae no mundo, das quais seis pertencem a *Caloptilia*, mas nenhuma delas foi relatada para a região Neotropical (De Prins & De Prins, 2017). Dessa forma, *Caloptilia* sp1.Vargas-Ortiz & Vargas sp. nov., descrita neste trabalho, corresponde à primeira espécie deste gênero registrada para o Chile e também em associação com Myricaceae como planta hospedeira para a região Neotropical. A distribuição geográfica desta espécie está restrita a cinco vales transversais localizados no Deserto do Atacama, norte do Chile: Lluta (18° 24' S, 70° 07' O), Livilcar (18° 30' S, 69° 43 ' O), Codpa (18° 49' S, 69° 40' O), Camiña (19° 18' S; 69° 25' O) e Mamiña (20° 4' S; 69° 13' O).

O Deserto do Atacama é a região mais seca e uma das mais antigas do mundo neste contexto (Clarke, 2006). Sua biota nativa vive em condições extremamente frágeis e isoladas (Pinto *et al.*, 2006; Vargas & Moreira, 2012; Carevic *et al.*, 2013.). Em alguns casos, esta área de deserto representa uma importante barreira geográfica para o fluxo genico entre populações, gerando altos níveis de divergência intra-específica em vários organismos (Baranzelli *et al.*, 2014; Larridon *et al.*, 2015).



Os vales transversais do norte do Chile representam uma importante fonte de biodiversidade dentro do deserto do Atacama. Porém, são fortemente afetados pela atividade humana, principalmente associada com uma agricultura intensiva, o que levou a uma redução significativa da biota nativa (Luebert & Pliscoff, 2006; Estades *et al.*, 2007; Vargas & Parra, 2009; Mendez-Abarca *et al.*, 2012). Um desafio fundamental para a conservação da biodiversidade é identificar com precisão as unidades bióticas, diagnosticando aquelas que merecem planos de conservação (Forister *et al.*, 2007). Estudos de populações naturais, à nível geográfico e ecológico, permitem compreender os processos que determinam os padrões de diversidade observados na natureza. Deste ponto de vista, os estudos de genética de populações são muito importantes para compreender a história e o potencial evolutivo de espécies e populações (Burgman *et al.*, 1993).

Do ponto de vista ecológico, *Caloptilia* sp1 tem pelo menos duas características importantes: 1) é um microlepidóptero, com uma envergadura da asa anterior de 4 mm aproximadamente, o que pode significar uma baixa capacidade de dispersão; 2) é uma espécie monófaga, o que sugere um elevado grau de especialização aos habitats nos quais se encontra sua única planta hospedeira. Estes dois fatores podem levar a uma alta estruturação genética nas populações desta espécie, associada à sua distribuição geográfica. Ou seja, as grandes áreas de deserto que separam os vales transversais, aonde as plantas hospedeiras se encontram, poderiam estar atuando como barreiras geográficas, limitando a dispersão de insetos com baixa capacidade de vôo.

Cheng *et al.* (2016) indicam que o isolamento geográfico separa as populações, impede o fluxo de genes e leva à diferenciação genética, o que pode resultar na evolução de novas espécies. Broquet *et al.* (2010) indicam que a conectividade entre habitats é importante para a manutenção da variação genética em populações naturais, e

restrições e fragmentações destes podem levar a uma redução nas áreas de dispersão disponíveis e o tamanho da população da espécie, especialmente em pequenas populações que tem menor variabilidade genética.

Em Lepidoptera, há alguns estudos nos quais foi analisada a estruturação genética populacional de espécies para determinar a possível falta de conectividade entre populações. Nesse contexto, há casos nos quais se apresenta diferenciação genética atribuída a distribuição geográfica e outros em que as diferentes populações mantêm o fluxo gênico entre elas (Crawford *et al.*, 2011; Keyghobadi *et al.*, 2006; Habel *et al.*, 2013; Snall *et al.*, 2004; Kirichenko *et al.*, 2017), devido principalmente a que os adultos tem uma alta capacidade de dispersão.

Um método amplamente usado para a avaliação da diversidade genética de populações animais é a análise de variações no DNA mitocondrial (mtDNA) (Harper *et al.*, 2008; Gonçalves *et al.* 2009; Morales *et al.*, 2011; Silva-Brandão *et al.*, 2011; Siti-Balkhis *et al.*, 2011) devido ao fato que as mutações recentes (substituição, deleção e inserção de bases) ocorrem geralmente entre 5-10 vezes mais rápido do que no DNA nuclear (Brown *et al.*, 1979). Além disso, diferentes regiões do genoma mitocondrial evoluem a taxas diferentes, permitindo opções específicas para cada estudo. Visto que o mtDNA é herdado via materna (Avisé, 2009), a análise de sua variabilidade para estudos populacionais é uma ferramenta muito informativa, já que no contexto da dinâmica populacional a dispersão das fêmeas é um fator decisivo, pois são elas quem depositam os ovos (Snall *et al.*, 2004).

As espécies de microlepidoptera do norte do Chile têm sido pouco estudadas de uma maneira geral, embora alguns estudos a respeito tenham sido realizados usando ferramentas filogenéticas e populacionais (Vargas *et al.*, 2015 a; Maita-Maita *et al.*, 2015; Vargas *et al.*, 2015 b; Escobar-Suárez *et al.*, 2017). O objetivo principal deste

estudo foi fazer a descrição taxonômica desta nova espécie de *Caloptilia* do Deserto do Atacama, com base na caracterização morfológica dos estágios de desenvolvimento (ovo, larva, pupa, adulto) e da sua história natural com ênfase na interação com a planta hospedeira. Também foi feito um estudo de caracterização e análise da variação genética correspondente, usando sequências de DNA mitocondrial (região barcode do citocromo oxidase subunidade 1 - COI), com o objetivo de determinar as relações filogenéticas com espécies congênicas, e determinar padrões de estruturação genética populacional no Deserto do Atacama.

## REFERÊNCIAS

- Avise JC. 2009. Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography* **36**, 3-15.
- Baranzelli MC, Jhonson LA, Cosacov A & Sersic AN. 2014. Historical and ecological divergence among populations of *Monttea chilensis* (Plantaginaceae), an endemic endangered shrub bordering the Atacama Desert, Chile. *Evolutionary Ecology* **28**, 751-774.
- Brito R, Gonçalves GL, Vargas HA & Moreira GRP. 2013. A new Brazilian *Passiflora* leafminer: *Spinivalva gaucha*, gen.n., sp.n. (Lepidoptera, Gracillariidae, Gracillariinae) the first gracillariid without a sap-feeding instar. *Zookeys* **291**, 1-26.
- Brito R, De Prins J, De Prins W, Mielke OHH, Gonçalves GL & Moreira GRP. 2016. Extant diversity and estimated number of unknown number of Gracillariidae species (Lepidoptera) yet to be discovered in the Neotropical region. *Revista Brasileira de Entomologia* **60**, 275-283.
- Broquet T, Angelone S, Jaquiery J, Joly P, Lena J, Lengagne T, Plenet S, Luquet E & Perrin N. 2010. Genetic bottlenecks driven by population disconnection. *Conservation Biology* **24**, 1596-1605.
- Brown WM, George Jr. M & Wilson AC. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **76**, 1967.
- Burgman MA, Ferson S & Akçakaya HR. 1993. *Risk Assessment in Conservation Biology*. Chapman and Hall, London.
- Carevic FS, Carmona ER & Muñoz-Pedreras A. 2013. Seasonal diet of the burrowing owl *Athene cunicularia* Molina, 1782 (Strigidae) in a hyperarid ecosystem of the Atacama desert in northern Chile. *Journal of Arid Environments* **97**, 237-241.
- Cheng J, Lyu L, Shen YB, Li KX, Liu ZH, Wang WX & Xie L. 2016. Population structure and genetic diversity of *Lithocarpus litseifolius* (Fagaceae) assessed using microsatellite markers. *Nordic Journal of Botany* **34**, 752-760.
- Clarke JDA. 2006. Antiquity of aridity in the Chilean Atacama Desert. *Geomorphology* **73**, 101-114.

- Crawford LA, Desjardins S & Keyghobadi N. 2011. Fine-scale genetic structure of an endangered population of the Mormon metalmark butterfly (*Apodemia mormo*) revealed using AFLPs. *Conservation Genetics* **12**, 991-1001.
- Davis DR. 1987. Gracillariidae. In: Stehr FW (Ed) *Immature Insects*. Kendall/Hunt Publishing Company, Dubuque, 372-374.
- Davis DR & Robinson GS. 1998. The Tineoidea and Gracillarioidea, p.91-117. In N.P. Kristensen (ed.), *Handbook of zoology, Lepidoptera, moths and butterflies*, vol. 1: Evolution systematics and biogeography. Walter de Gruyter, Berlin & New York.
- De Prins J & De Prins W. 2017. Global Taxonomic Database of Gracillariidae (Lepidoptera). World Wide Web electronic publication (<http://www.gracillariidae.net>)[accession date: June 20 2017]
- Estades CF, Aguirre J, Escobar MAH, Tomasevic JA, Vukasovic MA & Tala C. 2007. Conservation Status of the Chilean Woodstar *Eulidia yarrellii*. *Bird Conservation International* **17**, 163-175.
- Escobar-Suárez S, Huanca-Mamani W, Vargas HA. 2017. Genetic divergence of a newly documented population of the cecidogenous micromoth *Eugnosta azapaensis* Vargas & Moreira (Lepidoptera: Tortricidae) in the Atacama Desert of northern Chile. *Revista Brasileira de Entomologia*, <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2017.05.004>.
- Forister M, Nice C, Fordyce J, Gompert Z & Shapiro A. 2008. Considering evolutionary processes in the use of single-locus genetic data for conservation, with examples from the Lepidoptera. *Journal of Insect Conservation* **12**, 37-51.
- Friedlander TP, Regier J, Mitter C, Wagner DL & Fang QQ. 2000. Evolution of heteroneuran Lepidoptera (Insecta) and the utility of dopa decarboxylase for Cretaceous-age phylogenetics. *Zoological Journal of the Linnean Society* **130**, 213-234.
- Gonçalves G, Marinho J & Freitas T. 2009. Genetic structure of sigmodontine rodents (Cricetidae) along an altitudinal gradient of the Atlantic Rain Forest in southern Brazil. *Genetics and Molecular Biology* **32**, 882-885.
- Guillén M, Davis DR & Heraty JM. 2001. Systematics and biology of a new, polyphagous species of *Marmara* (Lepidoptera: Gracillariidae) infesting grapefruit in the southwestern United States. *Proceedings of the Entomological Society of Washington* **103**, 636-654.

- Habel JC, Husemann M, Schmitt T, Dapporto L, Rödder D & Vandewoestijne S. 2013. A forest butterfly in Sahara desert oases: isolation does not matter. *Journal of Heredity* **104**, 234-247.
- Harper GL, Maclean N & Goulson D. 2008. Molecular evidence for a recent founder event in the UK populations of the Adonis blue butterfly (*Polyommatus bellargus*). *Journal of Insect Conservation* **12**, 147-153.
- Keyghobadi N, Unger KP, Weintraub JD & Fonseca DM. 2006. Remnant populations of the regal fritillary (*Speyeria idalia*) in Pennsylvania: local genetic structure in a high gene flow species. *Conservation Genetics* **7**, 309-313.
- Kirichenko N, Triberti P, Ohshima I, Haran J, Byun BK, Li H, Augustin S, Roques A, Lopez-Vaamonde C. 2017. From east to west across the Palearctic: Phylogeography of the invasive lime leaf miner *Phyllonorycter issikii* (Lepidoptera: Gracillariidae) and discovery of a putative new cryptic species in East Asia. *Plos one*. DOI:10.1371/journal.pone.0171104.
- Kristensen N, Scoble M & Karsholt O. 2007. Lepidoptera phylogeny and systematics: the state of inventorying moth and butterfly diversity. *Zootaxa* **1668**, 699-747.
- Kumata T. 1978. A new stem-miner of alder in Japan, with a review of the larval transformation in the Gracillariidae (Lepidoptera). *Insecta Matsumurana, New Series* **13**, 1-27.
- Larridon I, Walter HE, Guerrero PC, Duarte M, Cisternas MA, Hernández CP, Bauters K, Asselman P, Goetghebeur P & Samain MS. 2015. An integrative approach to understanding the evolution and diversity of *Copiapoa* (Cactaceae), a threatened endemic Chilean genus from the Atacama Desert. *American Journal of Botany* **102**, 1506-1520.
- Lees DC, Kawahara AY, Rougerie R, Ohshima I, Kawakita A, Bouteleux O, De Prins J & Lopez-Vaamonde C. 2014. DNA barcoding reveals a largely unknown fauna of Gracillariidae leaf-mining moths in the Neotropics. *Molecular Ecology Resources* **14**, 286-296.
- Luebert F & Plischoff P. 2006. *Sinopsis bioclimática y vegetacional de Chile*. Editorial Universitaria, Santiago, Chile. 316 p.
- Maita-Maita J, Huanca-Mamani W, Vargas HÁ. 2015. First remarks on genetic variation of the little known leaf miner *Angelabella tecomae* Vargas & Parra (Gracillariidae) in the Atacama Desert of northern Chile. *Journal of the Lepidopterist's Society* **69**, 192-196.

- Méndez-Abarca F, Mundaca E & Vargas HA. 2012. First remarks on the nesting biology of *Hypodynerus andeus* (Packard) (Hymenoptera, Vespidae, Eumenidae) in the Azapa valley, northern Chile. *Revista Brasileira de Entomologia* **56**, 240-243.
- Morales P, Vila I & Poulin E. 2011. Genetic structure in remnant populations of an endangered cyprinodontid fish, *Orestias ascotanensis*, endemic to the Ascotán salt pan of the Altiplano. *Conservation Genetics* **12**, 1639-1643.
- Pinto R, Barria I & Marquet PA. 2006. Geographical distribution of *Tillandsia lomas* in the Atacama Desert, northern Chile. *Journal of Arid Environments* **65**, 543-552.
- Siti-Balkhis AB, Jasmari AF, Hwai TS, Yasin Z & Sitiiazizah MN. 2011. Evidence of geographical structuring in the Malaysian Snakehead, *Channa striata* based on partial segment of the CO1 gene. *Genetics and Molecular Biology* **34**, 520-523.
- Silva-Brandao KL, Lyra ML, Santos TV, Seraphim N, Albernaz KC, Pavinato VA, Martinelli S, Consoli FL & Omoto C. 2011. Exploitation of mitochondrial nad6 as a complementary marker for studying population variability in Lepidoptera. *Genetics and Molecular Biology* **34**, 719-725.
- Snall N, Huoponen K, Saloniemi I, Savontaus ML & Ruohomaki K. 2004. Dispersal of females and differentiation between populations of *Epirrita autumnata* (Lepidoptera: Geometridae) inferred from variation in mitochondrial DNA. *European Journal of Entomology* **101**, 495-502.
- Vargas HA & Parra LE. 2009. Prospección de lepidópteros antófagos asociados a *Acacia macracantha* Willd. (Fabaceae) en el norte de Chile. *Revista Brasileira de Entomologia* **53**, 291-293.
- Vargas H & Moreira G. 2012. A new species of *Bucculatrix* Zeller (Lepidoptera: Bucculatricidae) associated with *Baccharis salicifolia* (Asteraceae) in northern Chile. *Zootaxa* **3300**, 20-33.
- Vargas HA, Pollo P, Basilio DS, Goncalves GL, Moreira GRP. 2015 a. New cecidogenous species of *Eugnosta* Huubn (Lepidoptera: Tortricidae) associated with *Baccharis salicifolia* (Asteraceae) in the northern Chilean Atacama Desert: Life-history description and phylogenetic inferences. *Zootaxa* **3920**, 265-280.
- Vargas HA, Vargas-Ortiz M, Huanca-Mamani W. 2015 b. First record of folivory on a newly documented host plant for the little known geometrid moth *Eupithecia yubitzae* Vargas & Parra (Lepidoptera, Geometridae) in northern Chile. *Revista Brasileira de Entomologia* **59**, 121-123.

- van Nieukerken EJ, Kaila L, Kitching IJ, Kristensen NP, Lees DC, Minet J, Mitter C, Mutanen M, Regier JC, Simonsen TJ, Wahlberg N, Yen S-H, Zahiri R, Adamski D, Baixeras J, Bartsch D, Bengtsson BÅ, Brown JW, Bucheli SR, Davis DR, De Prins J, De Prins W, Epstein ME, Gentili-Poole P, Gielis C, Hätenschwiler P, Hausmann A, Holloway JD, Kallies A, Karsholt O, Kawahara AY, Koster S(JC), Kozlov MV, Lafontaine JD, Lamas G, Landry J-F, Lee S, Nuss M, Park K-T, Penz C, Rota J, Schintlmeister A, Schmidt BC, Sohn J-C, Solis MA, Tarmann GM, Warren AD, Weller S, Yakovlev RV, Zolotuhin VV, Zwick A. 2011. Order Lepidoptera Linnaeus, 1758. In: Zhang, Z.-Q. (Ed.), Animal biodiversity: an outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. *Zootaxa* **3148**, 212-221.
- Wagner DL, Loose JL, Fitzgerald TD, De Benedictis JA & Davis DR. 2000. A hidden past: the hypermetamorphic development of *Marmara arbutiella* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Annals of the Entomological Society of America* **93**, 59-64.



***Caloptilia* sp1. Vargas-Ortiz & Vargas sp. nov. (Lepidoptera: Gracillariidae): a new leafminer feeding on *Morella pavonis* (Myricaceae) in the Atacama Desert of northern Chile, with notes on natural history and population genetic structure**

**Marcelo Vargas-Ortiz<sup>1,2</sup>, Gislene L. Gonçalves<sup>2,3</sup>, Wilson Huanca-Mamani<sup>4</sup>, Héctor A. Vargas<sup>2</sup> and Gilson R. P. Moreira<sup>5,\*</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>2</sup>Universidad de Tarapacá, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Recursos Ambientales, Arica, Chile

<sup>3</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Departamento de Genética, Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>4</sup>Universidad de Tarapacá, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Producción Agrícola, Arica, Chile

<sup>5</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Departamento de Zoologia, Porto Alegre, RS, Brazil

\*corresponding author

Running title: a new leafminer *Caloptilia* from the Atacama Desert

## **Abstract**

The highly diverse and widely distributed micro-moth genus *Caloptilia* Hübner [1825] (Lepidoptera: Gracillariidae: Gracillariinae) is reported for the first time in Chile. Adults, immature stages and natural history, including the mine of *Caloptilia* sp1. Vargas-Ortiz&Vargas sp. nov. are described and illustrated with the aid of optical and scanning electron microscopy. Larva is a leafminer of the native tree "guacano" *Morella pavonis* (Myricaceae) in the transverse valleys of the Atacama Desert. DNA barcode sequences are provided and used to assess preliminarily the relationships with congeneric species and to investigate population genetic structure of this new species in northern Chile.

## REFERENCES

- Arévalo-Maldonado HA. 2014. Caracterización morfológica y del daño de Gracillariidae (Lepidoptera: Gracillariidae) en plantas de importancia económica en Colombia. Unpublished Master Thesis, Universidad Nacional de Colombia.
- Bandelt H J, Forster P & Röhl A. 1999. Median-Joining Networks for inferring intraspecific Phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* **16**, 37-48.
- Baranzelli MC, Jhonson LA, Cosacov A & Sersic AN. 2014. Historical and ecological divergence among populations of *Monttea chilensis* (Plantaginaceae), an endemic endangered shrub bordering the Atacama Desert, Chile. *Evolutionary Ecology* **28**, 751-774.
- Bobadilla D & Vargas HA. 2015. First record of *Cydia tonosticha* (Meyrick) (Tortricidae) from Chile and a new host plant. *Journal of the Lepidopterists Society* **69**, 331-333.
- Bourquin F. 1962. Microlépidopteros nuevos con sus biología. *Revista de la Sociedad Entomologica Argentina* **23**, 31-46.
- Brito R, Gonçalves GL, Vargas HA, Moreira GRP. 2012. A new species of *Phyllocnistis* Zeller (Lepidoptera: Gracillariidae) from southern Brazil, with life-history description and genetic comparison to congeneric species. *Zootaxa* **3582**, 1-16.
- Brito R, Gonçalves GL, Vargas HA & Moreira GRP. 2013. A new Brazilian *Passiflora* leafminer: *Spinivalva gaucha*, gen.n., sp.n. (Lepidoptera, Gracillariidae, Gracillariinae) the first gracillariid without a sap-feeding instar. *Zookeys* **291**, 1-26.
- Brito R, De Prins J, De Prins W, Mielke OHH, Gonçalves GL & Moreira GRP. 2016. Extant diversity and estimated number of unknown number of Gracillariidae species (Lepidoptera) yet to be discovered in the Neotropical region. *Revista Brasileira de Entomologia* **60**, 275–283.
- Brito R, Mielke OHH, Gonçalves GL & Moreira GRP. 2017. Description of three new species of *Phyllocnistis* Zeller, 1848 (Lepidoptera: Gracillariidae) from the Atlantic forest, south Brazil, with notes on natural history and phylogeny. *Austral Entomology* (submitted).
- Busck A. 1920. A new *Gracilaria* injurious to Avocado (Lepid.). *Canadian Entomologist* **52**, 239.

- Carevic F, Carmona E & Muñoz-Pedrerros A. 2013. Seasonal diet of the burrowing owl *Athene cunicularia* Molina, 1782 (Strigidae) in a hyperarid ecosystem of the Atacama desert in northern Chile. *Journal of Arid Environments* **97**, 237-241.
- Davis DR. 1987. Gracillariidae. In F.W. Stehr (Ed), *Immature insects*, Vol. 1, pp. 372-374, 376-378. Kendall/Hunt Publ. Co., Dubuque.
- Davis DR, Mc Kay F, Oleiro M, Vitorino MD & Wheeler GS. 2011. Biology and systematics of the leafmining Gracillariidae of Brazilian pepper tree, *Schinus terebinthifolius* Raddi, with descriptions of a new genus and four new species. *Journal of the Lepidopterists' Society* **65**, 61-93.
- Davis DR, Fox MS & Hazen RF. 2013. Systematics and biology of *Caloptilia triadicae* (Lepidoptera: Gracillariidae), a new species of leaf-mining moth of the invasive Chinese Tallow Tree (*Triadica sebifera* (L.) Euphorbiaceae). *Journal of the Lepidopterists' Society* **67**, 281–290.
- De Prins J & De Prins W. 2017. Global Taxonomic Database of Gracillariidae (Lepidoptera). [Accessed 13 Feb 2017.] Available from URL: <http://www.gracillariidae.net>
- De Prins J, Gumovsky A & De Coninck E. 2015. Discovery of a new species of *Caloptilia* (Lepidoptera: Gracillariidae) from east and central Africa with its suggested associated host (Gentianales: Rubiaceae) and natural enemies (Hymenoptera: Eulophidae). *Zootaxa* **3957**, 383-407.
- De Prins J, Brito R & Moreira GRP. 2016. An annotated taxonomic checklist of the Neotropical Gracillariidae (Lepidoptera) with links to the information on hostplants and parasitoids. *Zootaxa* **4158**, 1-51.
- Estades CF, Aguirre J, Escobar MAH, Tomasevic JA, Vukasovic MA & Tala C. 2007. Conservation status of the Chilean Woodstar *Eulidia yarrellii*. *Bird Conservation International* **17**, 163-175.
- Escobar-Suárez S, Huanca-Mamani W, Vargas HA. 2017. Genetic divergence of a newly documented population of the cecidogenous micromoth *Eugnosta azapaensis* Vargas & Moreira (Lepidoptera: Tortricidae) in the Atacama Desert of northern Chile. *Revista Brasileira de Entomologia*, <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2017.05.004>.

- Excoffier L. 2004. Patterns of DNA sequence diversity and genetic structure after a range expansion: lessons from the infinite-island model. *Molecular Ecology* **13**, 853-864.
- Excoffier L. 2006. Arlequin ver. 3.1. *Computational and molecular population genetics lab CMPG*. Zoological Institute, University of Berne.
- Felsenstein J. 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution* **17**, 368-376.
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* **39**, 783-791.
- Frankham R, Ballou J & Briscoe D. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, New York.
- Frantine-Silva W, Giangarelli D, Penha RES, Suzuki KM, Dec E, Gaglianone MC, Alves dos Santos I & Sofia SH. 2016. Phylogeography and historical demography of the orchid bee *Euglossa iopoeila*: signs of vicariant events associated to Quaternary climatic changes. *Conservation Genetics* **18**, 539-552.
- Freeland JR. 2005. *Molecular ecology*. John Wiley & Sons Ltd, West Sussex.
- 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 and Marine Biology Biotechnology* **3**, 294-299.
- Gatica-Castro A, Marticorena A, Rojas G, Arancio G & Squeo FA. 2015. Estado de conservación de la flora nativa de las regiones de Arica-Parinacota y de Tarapacá, Chile. *Gayana Botánica* **72**, 305-339.
- Hall BG. 2013. Building phylogenetic trees from molecular data with MEGA. *Molecular Biology and Evolution* **30**, 1229-1235
- Harpending HC. 1994. Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology* **66**, 591-600.
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL & DeWaard JR. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B* **270**, 313-321.
- Huanca-Mamani W, Rivera-Cabello D & Maita-Maita J. 2015. A simple, fast and inexpensive CTAB-PVP-silica based method for genomic DNA isolation from single small insect larvae and pupae. *Genetics and Molecular Research* **14**, 7990-8000.
- Hu B, Wang S, Zhang J & Li H. 2011. Taxonomy and biology of two seedparasitic

- gracillariid moths (Lepidoptera, Gracillariidae) with description of a new species. *Zookeys* **83**, 43-56.
- Kawahara AY, Plotkin D, Ohshima I, Lopez-Vaamonde C, Houlihan P, Breinholt JW, Kawakita A, Xiao L, Regier JC, Davis DR, Kumata T, Sohn J-C, De Prins J & Mitter C. 2017. A molecular phylogeny and revised higher-level classification for the leaf-mining moth family Gracillariidae and its implications for larval host use evolution. *Systematic Entomology* **42**, 60-81.
- Kawakita K & Kato M. 2016. Revision of the Japanese species of *Epicephala* Meyrick with descriptions of seven new species (Lepidoptera, Gracillariidae). *Zookeys* **568**, 87-118.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* **16**, 111-120
- Kirichenko N, Huemer P, Deutsch H, Triberti P, Rougerie R & Lopez-Vaamonde C. 2015. Integrative taxonomy reveals a new species of *Callisto* (Lepidoptera, Gracillariidae) in the Alps. *ZooKeys* **473**, 157-176.
- Kramp K, Cizek O, Madeira PM, Ramos A, Konvicka M, Castilho R & Schmitt T. 2016. Genetic implications of phylogeographical patterns in the conservation of the boreal wetland butterfly *Colias palaeno* (Pieridae). *Biological Journal of the Linnean Society* **119**, 1068-1081.
- Kumata T. 1978. A new stem-miner of alder in Japan, with a review of the larval transformation in the Gracillariidae (Lepidoptera). *Insecta Matsumurana*, New Series **13**, 1-27.
- Kumata T. 1981. Notes on *Caloptilia* (*Sphyrophora*) *octopunctata* (Turner, 1894) of India, with description of its larva (Lepidoptera; Gracillariidae). *Insecta Matsumurana*, New Series **24**, 1-16.
- Kumata T. 1982. A taxonomic revision of the *Gracillaria* group occurring in Japan (Lepidoptera: Gracillariidae). *Insecta Matsumurana*, New Series **26**, 1-186.
- Landry B. 2006. The Gracillariidae (Lepidoptera, Gracillarioidea) of the Galapagos Islands, Ecuador, with notes on some of their relatives. *Revue Suisse de Zoologie* **113**, 437-485.
- Lees DC, Kawahara AY, Rougerie R, Ohshima I, Kawakita A, Bouteleux O, De Prins J, Lopez-Vaamonde C. 2014. DNA barcoding reveals a largely unknown fauna of Gracillariidae leaf-mining moths in the Neotropics. *Molecular Ecology Research*

14, 286-296.

- Luebert F. 2004. Apuntes sobre la vegetación de bosque y matorral del desierto precordillerano de Tarapacá (Chile). *Chloris chilensis* 7:  
<http://chlorischile.cl/luebertmyrica/imagua.htm>
- Luebert F & Pliscoff P. 2006. *Sinopsis bioclimática y vegetacional de Chile*. Editorial Universitaria, Santiago.
- Maita-Maita J, Huanca-Mamani W & Vargas HA. 2015. First remarks on genetic variation of the little known leaf miner *Angelabella tecomae* Vargas & Parra (Gracillariidae) in the Atacama Desert of northern Chile. *Journal of the Lepidopterists' Society* **69**, 192-196.
- Meyrick E. 1915. Descriptions of South American Micro-Lepidoptera. *Transactions of the Entomological Society of London* **2**, 201-256.
- Moreira GRP, Pollo P, Brito R, Gonçalves GL & Vargas HA. 2017. *Cactivalva nebularia*, gen. et sp. nov. (Lepidoptera: Gracillariidae): a new *Weinmannia* leaf miner from southern Brazil. *Austral Entomology* doi: 10.1111/aen.12267.
- Mori BA., Davis CS & Evenden ML. 2016. Genetic diversity and population structure identify the potential source of the invasive red clover casebearer moth, *Coleophora deauratella*, in North America. *Biological Invasions* **18**, 3595-3609.
- Mundaca EA, Parra LE & Vargas HA. 2013. A new genus and species of leaf miner (Lepidoptera, Gracillariidae) for Chile associated to the native tree *Lithraea caustica*. *Revista Brasileira de Entomologia* **57**, 157-164.
- Muñoz-Pizarro C. 1966. *Sinopsis de la flora Chilena: claves para la identificación de familias y géneros*. Ediciones de la Universidad de Chile. Santiago.
- Mutanen M, Hausmann A, Hebert PDN, Landry J-F, de Waard JR & Huemer P. 2012. Allopatry as a Gordian Knot for Taxonomists: Patterns of DNA Barcode Divergence in Arctic-Alpine Lepidoptera. *Plos One* **7**.
- Nakadai R & Kawakita A. 2016. Phylogenetic test of speciation by host shift in leaf cone moths (*Caloptilia*) feeding on maples (*Acer*). *Ecology and Evolution* **6**, 4958-4970.
- Opler PA. 1971. Seven new lepidopterous leaf-miners associated with *Quercus agiufolia* (Heliozelidae, Gracillariidae). *Journal of the Lepidopterists' Society* **25**, 194-211.
- Parra-O C. 2002. New combinations in South American Myricaceae. *Brittonia* **54**, 322-326.

- Patočka J. & Zach P. 1995. The pupae of the central European Caloptilia (Lepidoptera: Gracillariidae). *European Journal of Entomology* **92**, 483-496.
- Peterson B, Bezuidenhout CC & Van den Berg J. 2016. Cytochrome *c* Oxidase I and Cytochrome *b* gene sequences indicate low genetic diversity in south african *Busseola fusca* (Lepidoptera: Noctuidae) from maize. *African Entomology* **24**, 518-523.
- Pereira CM, Silva DS, Gonçalves GL, Vargas HA & Moreira GRP. 2017. A new species of *Leurocephala* Davis & Mc Kay (Lepidoptera, Gracillariidae) from the Azapa Valley, northern Chilean Atacama Desert, with notes on life-history. *Revista Brasileira de Entomologia* **61**, 6-15.
- Pinto R, Barria I & Marquet PA. 2006. Geographical distribution of *Tillandsia lomas* in the Atacama Desert, northern Chile. *Journal of Arid Environments* **65**, 543-552.
- Piwczyński M, Pabijan M, Grzywacz A, Glinkowski W, Bereś PK & Buszko J. 2016. High regional genetic diversity and lack of host-specificity in *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) as revealed by mtDNA variation. *Bulletin of Entomological Research* **106**, 512-521.
- Ray N, Currant M & Excoffier L. 2003. Intra-deme molecular diversity in spatially expanding populations. *Molecular Biology and Evolution* **20**, 76-86.
- Rodríguez F, Oliver JL, Marin A & Medina JR. 1990. The general stochastic model of nucleotide substitution. *Journal of Theoretical Biology* **142**, 485-501.
- Rodríguez R, Matthei O & Quezada M. 1983. *Flora arbórea de Chile*. Universidad de Concepción. Concepción
- Rogers AR & Harpending HC. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution* **9**, 552-569.
- Rosa JF, Ramalho M & Arias MC. 2016. Functional connectivity and genetic diversity of *Eulaema atleticana* (Apidae, Euglossina) in the Brazilian Atlantic Forest Corridor: assessment of gene flow. *Biotropica* **48**, 509-517.
- Sarswat M, Dewan S & Fartyal RS. 2016. Mitochondrial DNA sequence variation in Drosophilid species (Diptera: Drosophilidae) along altitudinal gradient from central Himalayan region of India. *Journal of Genetics* **95**, 357-367.
- Seraphim N, Barreto MA, Almeida GSS, Esperanço AP, Monteiro RF, Souza AP, Freitas AVL & Silva-Brandão KL. 2016. Genetic diversity of *Parides ascanius* (Lepidoptera: Papilionidae: Troidini): implications for the conservation of Brazil's



- most iconic endangered invertebrate species. *Conservation Genetics* **17**, 533-546.
- Shapiro LH, Scheffer SJ, Maisin N, Lambert S, Purung HB, Sulistyowati E, Vega FE, Gende P, Laup S, Rosmana A, Djam S & Hebbar PK. 2008. *Conopomorpha cramerella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in the Malay Archipelago: Genetic signature of a bottlenecked population? *Annals of the Entomological Society of America* **101**, 930-938.
- Snäll N, Huoponen K, Saloniemi I, Savontaus M & Ruohomäki K. 2004. Dispersal of females and differentiation between populations of *Epirrita autumnata* (Lepidoptera: Geometridae) inferred from variation in mitochondrial DNA. *European Journal of Entomology* **101**, 495-502.
- Sarswat M, Dewan S & Fartyal RS. 2016 Mitochondrial DNA sequence variation in Drosophilid species (Diptera: Drosophilidae) along altitudinal gradient from central Himalayan region of India. *Journal of Genetics* **95**, 357-367.
- Slatkin M & Hudson RR. 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics* **129**, 555-562.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A & Kumar S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* **30**, 2725-2729.
- Valade R, Kenis M, Hernandez-Lopez A, Augustin A, Mari-Mena N, Magnoux E, Rougerie R, Lakatos F, Roques A & Lopez-Vaamonde C. 2009. Mitochondrial and microsatellite DNA markers reveal a Balkan origin for the highly invasive horse-chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* (Lepidoptera, Gracillariidae). *Molecular Ecology* **18**, 3458-3470.
- Vargas HA & Landry B. 2005. A new genus and species of Gracillariidae (Lepidoptera) feeding on flowers of *Acacia macracantha* Willd. (Mimosaceae) in Chile. *Acta Entomológica Chilena* **29**, 47-57.
- Vargas HA & Parra LE. 2005. Un nuevo género y una nueva especie de Oecophyllembiinae (Lepidoptera: Gracillariidae) de Chile. *Neotropical Entomology* **34**, 227-233.
- Vargas HA, Vargas-Ortiz M, Huanca-Mamani W & Bobadilla D. 2013. First record of *Acrocercops serrigera serrigera* Meyrick (Lepidoptera: Gracillariidae) from Chile. *Neotropical Entomology* **42**, 112-114.
- Vargas HA & Moreira GRP. 2012. A new species of *Bucculatrix* Zeller (Lepidoptera: Bucculatricidae) associated with *Baccharis salicifolia* (Asteraceae) in northern

Chile *Zootaxa* **3300**, 20-33.

- Velasco-Cuervo SM, Espinosa LL, Duque-Gamboa DN, Castillo-Cardenas MF, Hernández LM, Guzmán YC, Manzano MR & Toro-Perea N. 2016. Barcoding, population structure, and demographic history of *Prodiplosis longifila* associated with the Andes. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **158**, 217-227.
- Wagner DL, Loose JL, Fitzgerald TD, De Benedictis JA & Davis DR. 2000. A hidden past: the hypermetamorphic development of *Marmara arbutiella* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Annals of the Entomological Society of America* **93**, 59-64.
- Wang XY, Zhou LH, Zhong T & Xu GQ. 2014. Genetic variation, phylogeographic structure of *Spodoptera exigua* in the Welsh onion-producing areas of North China. *Journal of applied entomology* **138**, 612-622.