



SHILAP Revista de lepidopterología

ISSN: 0300-5267

ISSN: 2340-4078

avives@orange.es

Sociedad Hispano-Luso-Americana de Lepidopterología
España

Rodríguez-Espinosa, F. L.; Santana-Baños, Y.; Pacheco-Escobar,
J.; Martínez-Rivero, M. A.; López-Muraira, I. G.; Gómez-Leyva, J. F.

**Especialización trófica de dos morfoespecies de *Chloridea virescens* (Fabricius, 1777) en
el cultivo de tabaco negro en Pinar del Río, Cuba (Lepidoptera: Noctuidae, Heliothinae)**

SHILAP Revista de lepidopterología, vol. 49, núm. 196, 2021, Octubre-Diciembre, pp. 657-665

Sociedad Hispano-Luso-Americana de Lepidopterología
Madrid, España

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=45569721007>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica Redalyc

Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso
abierto

Especialización trófica de dos morfoespecies de *Chloridea virescens* (Fabricius, 1777) en el cultivo de tabaco negro en Pinar del Río, Cuba (Lepidoptera: Noctuidae, Heliothinae)

F. L. Rodríguez-Espinosa, Y. Santana-Baños, J. Pacheco-Escobar,
M. A. Martínez-Rivero, I. G. López-Muraira & J. F. Gómez-Leyva

Resumen

Mediante la identificación taxonómica integrativa se describen dos morfoespecies del género *Chloridea* Duncan [& Westwood], 1841 que afectan al tabaco negro en la provincia de Pinar del Río, Cuba. Se recolectaron larvas de último instar en dos poblaciones con diferente hábito alimenticio: la primera afectando la yema terminal del tallo y la segunda a los órganos reproductivos del tabaco. Las larvas fueron caracterizadas por la coloración y ornamentación cuticular, así como por 11 caracteres morfológicos de la quetotaxia. La confirmación de la taxonomía molecular se realizó mediante secuenciación del gen mitocondrial de la citocromo oxidasa I (mtCOI), identificando a *Chloridea virescens* (Fabricius, 1777) como única especie para ambas poblaciones, con variabilidad morfológica y divergencia genética asociadas al nicho trófico, sugiriendo una especiación simpátrica.

PALABRAS CLAVES: Lepidoptera, Noctuidae, Heliothinae, taxonomía, variabilidad morfológica, gen COI, Cuba.

**Trophic specialization of two morphospecies *Chloridea virescens* (Fabricius, 1777)
in the dark tobacco crop in Pinar del Río, Cuba
(Lepidoptera: Noctuidae, Heliothinae)**

Abstract

Through integrative taxonomic identification, two morphospecies of the genus *Chloridea* Duncan [& Westwood], 1841, that affect black tobacco in the province of Pinar del Río, Cuba, are described. Last instar larvae were collected in two populations with different eating habits: the first affecting the terminal bud of the stem and the second affecting the reproductive organs of tobacco. The larvae were characterized by cuticular coloration and ornamentation, as well as by 11 morphological characters of chaetotaxy. The confirmation of the molecular taxonomy was carried out by sequencing the mitochondrial gene for cytochrome oxidase I (mtCOI), identifying *Chloridea virescens* (Fabricius, 1777) as the only species for both populations, with morphological variability and genetic divergence associated with the trophic niche, suggesting a sympatric speciation.

KEY WORDS: Lepidoptera, Noctuidae, Heliothinae, taxonomy, morphological variability, genetic variability, gen COI, Cuba.

Introducción

El tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), es una planta herbácea y perenne, de la familia de las solanáceas, nativa de América tropical y de cuyas hojas se produce la mayor parte del tabaco que se consume en

el mundo. La industria tabacalera en Cuba representa uno de los principales rubros económicos por la calidad de exportación de sus productos (CORTÉS *et al.*, 2019). Por lo anterior, resulta de interés mantener el incremento en el rendimiento de este cultivo, el cual se ve afectado por numerosas plagas insectiles, entre los que destaca *C. virescens* (Fabricius, 1777) como gusano cogollero del tabaco y plaga clave de este cultivo, provocando importantes daños, en la calidad de las hojas cosechadas y demuestra un difícil control. Recientemente, se evidenciaron cambios en los parámetros biológicos de dos poblaciones de esta especie, sobre el tabaco negro, los cuales estuvieron condicionados por un compartimiento de ambas poblaciones por el nicho trófico (RODRÍGUEZ *et al.*, 2018).

Para Cuba el género *Chloridea* Duncan [& Westwood], 1841 está representado por *Chloridea virescens* (Fabricius, 1777), *Chloridea subflexa* (Guenée, 1852) y *Chloridea tergemina* (Felder & Rogenhofer, 1874) (RIVAS & MARTÍNEZ, 2015). Sin embargo, solo las especies *C. virescens* y *C. tergemina* están presentes en tabaco, de las trece especies que actualmente componen este género (POGUE, 2013). Sin embargo, presentan características morfológicas similares que dificultan su identificación taxonómica en el estado larval.

La manera correcta para la clasificación de las tres especies, se describen en las claves de HALLMAN (1978), la cual se basa en la morfología de la larva, del diseño alar y de los genitales del macho. Según este autor, en el último estadio larval, el único carácter morfológico radica en los tubérculos dorsales de los segmentos abdominales uno y dos (A_1 y A_2), que son por lo menos 2,5 veces más altos que los tubérculos dorsales de los segmentos vecinos en *C. tergemina* y de igual tamaño en *C. virescens* y *C. subflexa*. Estas dos últimas se diferencian por la presencia de microespines en la base de los tubérculos dorsales del octavo segmento abdominal (A_8) en *C. virescens*, que están ausentes en *C. subflexa*; por lo que estas dos especies son semejantes en todas sus fases de desarrollo lo que dificulta su correcta identificación, sobre todo si se encuentran sobre un mismo hospedante (HALLMAN, 1978; POGUE, 2013). No obstante, *C. subflexa* es conocida como especialista de plantas del género *Physalis* (OPPENHEIM *et al.*, 2017), la cual comparte el 99 % de similitud genética con *C. virescens* (CHO *et al.*, 2008); mientras que *C. tergemina* es poco conocida y con distribución en América del Sur en plantas de la familia Solanaceae (POGUE, 2013).

Cuando se estudian organismos con morfología similar y pobres en caracteres morfológicos para la identificación, la clasificación taxonómica puede ser difícil. Ante esta situación, en los últimos años se propone la taxonomía integrativa como un nuevo enfoque y un concepto más riguroso para la delimitación de poblaciones y especies, con la utilización combinada de datos morfológicos, biológicos, ecológicos, etológicos y moleculares, entre otros (DINCA *et al.*, 2011).

El objetivo del presente trabajo fue realizar un análisis de los caracteres morfológicos en dos poblaciones de larvas del género *Chloridea* de último instar con diferentes hábitos alimenticios que afectan al tabaco negro cultivado en la provincia de Pinar del Río, Cuba, así como el análisis de las secuencias para el gen de la citocromo oxidasa I (mtCOI) para la identificación taxonómica.

Materiales y métodos

Se recolectaron 246 larvas de último instar de plantas de tabaco del cultivar (Habana-92) del municipio San Juan y Martínez ($N22^{\circ} 17' 3,84''$, $W83^{\circ} 50' 9,096''$) de la provincia de Pinar del Río en muestreos desarrollados, a través del método de “recorrido itinerante” y se trasladaron al Laboratorio de Entomología de la Universidad de Pinar del Río. Estas se colocaron individualmente en envases de cristal con aireación y se colocó alimento de la zona de la planta donde se recolectó para su alimentación.

Caracterización morfológica de larvas de último estado

Las larvas se separaron en dos grupos: Grupo A, presentes en hojas del cogollo; Grupo B, presentes en los órganos reproductivos (flores y frutos). Luego se individualizaron para su descripción empleando caracteres como la coloración general de la cutícula; presencia y coloración de las líneas

dorsales, subdorsales y laterales, así como la forma, coloración y diferencias en la altura de los tubérculos dorsales (base de las setas, fundamentalmente en los segmentos abdominales uno, dos y ocho) para lo cual se emplearon las claves o descriptores señalados por HALLMAN (1978), GILLIGAN & PASSOA (2014) y RIVAS & MARTÍNEZ (2015).

Para la descripción se utilizaron 179 larvas provenientes de cogollo y 67 de las estructuras reproductivas de plantas de tabaco. Se extrajo el complejo hipofaringeal y las mandíbulas de la cabeza, mientras que para la quetotaxia larval se siguió la terminología de *Chloridea virescens* descrita por GILLIGAN & PASSOA (2014). Todas las observaciones morfológicas, patrones de coloración, medidas y fotografías de macro y microestructuras se registraron con microscopio estereoscopio marca Zeiss Modelo DV20. Se describieron 11 caracteres morfológicos: diente interno mandibular (1- Presente; 2- ausente); complejo hipofaringeal (1- espinoso en la región distal; 2- liso dorsalmente); forma de la base de la seta D₁ en segmento A₈ (1- Chalaza; 2- Pinacula); forma de la base de la seta D₁ en segmentos A₁ y A₂ (1- Chalaza; 2- Pinacula); altura de la base en la seta D₁ respecto a la D₂ en segmentos A₁ y A₂ (1- Mayor; 2- Igual); microespinas en la seta D₁ en segmento A₈ (1- Presentes; 2- ausentes); microespinas en las setas D₁ en segmentos A₁ y A₂ (1- Presente; 2- ausente); posición de la seta L₁ de acuerdo a línea imaginaria que pasa por la mitad del espiráculo en el segmento A₄ (1- debajo; 2- en el centro); forma de la base de la seta SD₁ en los segmentos abdominales (1- en forma de chalaza; 2- en forma de pinácula); conexión por microespinas de la seta SD₁ y L₁ (1- conectadas; 2- no conectadas); CM-11: Franjas subdorsales (1- presentes; 2- ausentes).

Se empleó discriminante canónico para determinar las variables (caracteres morfológicos) que permiten la diferenciación de los grupos morfológicos formados. Se construyeron tablas de contingencia para conocer el número de individuos que cumplen cada criterio de medida con el propósito de caracterizarlos y compararlos con las claves disponibles. Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico INFOSTAT (2016).

Caracterización molecular mediante el gen mtCOI

Se escogieron ocho muestras por grupo (cinco yema apical y tres de los órganos reproductivos), las que se depositaron individualmente en tubo de ensayo con etanol al 75 %. La extracción del DNA genómico se realizó empleando el método de DOYLE & DOYLE (1990). La amplificación del gen de la citocromo oxidasa que codifica la subunidad I del DNA mitocondrial (mtCOI) se realizó empleando los cebadores HCO2198 (5'-TAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') y LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATA-AAGATATTGG-3') descritos por FOLMER *et al.* (1994). Todas las reacciones de PCR se realizaron en volumen final de 25 µl que contienen, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM de cada dNTP's, 10 pM de cada cebador; 0.2 U de Taq DNA Polimerasa y 10 ng de DNA genómico.

Las condiciones de PCR fueron: desnaturación de 5 min a 95°C, seguido por 40 ciclos (1 min a 95°C de desnaturación, 1 min a 60°C de alineación, 1 min a 72°C de extensión) y un último ciclo de 5 min a 72°C de extensión. Los programas de amplificación se efectuaron en un Termociclidador programable (SelectCycler: MultiGene™ Mini Personal Thermal Cycler). Los productos amplificados se visualizaron en gel de agarosa en SB (Borato de sodio 10 mM) al 1,8 % y se purificaron siguiendo el protocolo Kit PureLink® (Invitrogen™), de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Los electroferogramas obtenidos con los productos de PCR fueron analizados empleando el programa BioEdit 7.0.5.3 y las secuencias generadas fueron comparadas mediante la herramienta BLASTn (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast). Los nucleótidos obtenidos se ensamblaron y alinearon usando el programa CLUSTAL W (THOMPSON *et al.*, 1994), con accesiones de *C. virescens* y tres secuencias como grupos extras: dos disponibles en el GeneBank (*C. subflexa* y *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797)) y una disponible en el laboratorio y recolectada sobre tomatillo (*Physalis philadelphica*). (*C. subflexa*). Se calculó la matriz de las distancias evolutivas por el método de Pairwise y se realizó un análisis filogenético mediante el método Máxima Verosimilitud, usando el modelo de Kimura dos

parámetros, que generó un dendrograma con un soporte de topología interna por análisis de re-muestreo de 1.000 réplicas (bootstrap) empleando software MEGA 6 (TAMURA *et al.*, 2013).

Resultados y discusión

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LARVAS DE ÚLTIMO INSTAR

Las larvas presentaron diferencias fenotípicas de acuerdo con el órgano de la planta donde se recolectaron: grupo A proveniente yema apical: Larvas de color verde claro con tonalidades amarillentas en la región abdominal. Se distinguen con facilidad los segmentos abdominales, los que poseen una franja espiracular blanquecina o amarillenta; los tubérculos dorsales (base de las setas) D₁ en la región abdominal, son de mayor altura que D₂ en A₁ y A₂.

Grupo B colectadas en flores y fruto: La coloración general de la cutícula puede ser verde, parda, grisácea o castaña. En las larvas se distinguen dos puntos negros u oscuros en el dorso de los segmentos A₁, A₂ y A₈, que coinciden con la base de la seta D₁, los que son de mayor altura respecto a la base de la seta D₂. Presentan dos líneas de color oscuro o castaño en la región subdorsal a ambos lados del cuerpo y banda espiracular de coloración blanquecina.

La caracterización a priori de las larvas, según su ubicación en la planta, aportó elementos básicos para el diagnóstico presuntivo al nivel de campo. Se observó una diversidad mayor variabilidad en la coloración general de la cutícula no descritas anteriormente eportadas para *C. virescens* en Cuba sobre tabaco (MÉNDEZ, 2003) y sobre hojas de garbanzo (PÉREZ & SURIS, 2012), en las zonas central y oriental de Cuba.

Independiente al órgano de la planta, se evidenció que la altura de la seta de D₁, era superior en la base en D₂ en los segmentos abdominales A₁ y A₂, ambas en forma de chalaza y más elevadas que las del resto de los segmentos abdominales. Este es el único carácter morfológico utilizado por HALLMAN (1978) en Colombia para clasificar a *C. tergemina* y *C. virescens* en tabaco.

El análisis discriminante mostró que 10 caracteres morfológicos, de los 11 descritos en la quetotaxia, resultaron significativos con valores de $p > 0,0001$ y permitieron discriminar los especímenes agrupados en los dos grupos. Solo, la posición que ocupa la seta L₁ en relación con una línea horizontal imaginaria trazada por el centro del espiráculo en el segmento A₄, no fue significativa con un valor de un valor de $p > 0,0001$ (Tabla 1).

Tabla 1.– Significancia de los caracteres morfológicos descritos en la quetotaxia.

Caracteres morfológicos	F	p-valor
Diente interno mandibular	34.83	<0.0001
Complejo hipofaringeal	28.81	<0.0001
Forma de la base de la seta D1 en A8	26.72	<0.0001
Forma de la base de las setas D1 en los segmentos A1 y A2 abdominal	23.75	<0.0001
Altura de la base de la seta D1 respecto a la de D2 en los segmentos A1 y A2	13.29	<0.0001
Microespinas en la base de las setas D1 en A8	21.25	<0.0001
Microespinas en la base de las setas D1 en los segmentos A1 y A2	11.22	<0.0001
Posición de la seta L1 respecto a una línea imaginaria que pasa por el centro del espiráculo en A4	1.83	0.1456
Forma de las setas SD1 en los segmentos abdominales	15.31	<0.0001
Conexión de las setas SD1 y L1 por microespinas	15.99	<0.0001
Franjas subdorsales	27.51	<0.0001

La función discriminante indicó la importancia de la clasificación a priori de las larvas en grupos y por órgano de la planta donde se recolectó, con una tasa del 0 % de error aparente; lo que confirma la

importancia de las variables utilizadas en la separación de los individuos. Este análisis permitió la re-clasificación de las larvas de último instar (L6) en cada grupo, según su ubicación inicial, como resultado de la caracterización a priori (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación de las larvas de último instar (L6) por grupo.

Grupo	A	B	Total	Error (%)
A	179	0	179	0
B	0	67	67	0
Total	179	67	246	0

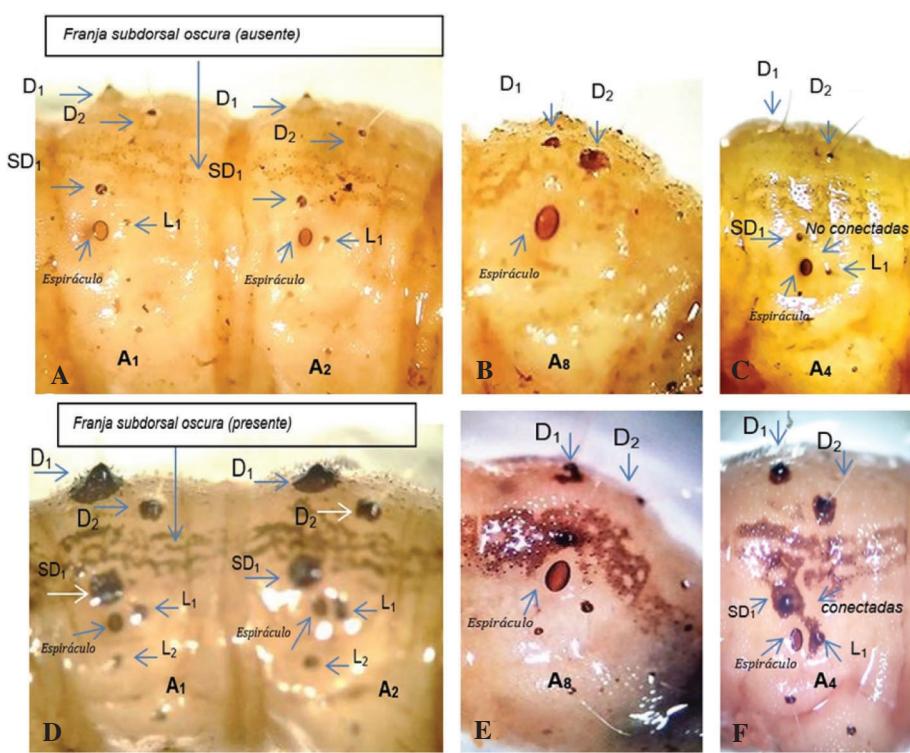


Figura 1.– Representación de las setas y segmentos abdominales de una larva del Grupo A: **A.** segmentos A1 y A2, **B.** segmentos A8; **C.** segmentos A4, Setas, dorsales (D1 y D2), subdorsales (SD1), laterales (L1). Representación de las setas y segmentos abdominales de una larva del Grupo B: **D.** segmentos A1 y A2, **E.** segmentos A8, **F.** segmentos A4: Setas, dorsales (D1 y D2), subdorsales (SD1), laterales (L1 y L2).

Por lo tanto, todos los individuos agrupados en el Grupo A fueron semejantes en el 90 % de los caracteres morfológicos evaluados, al igual que lo fueron los del Grupo B, pero en el 100 % de los 10 caracteres que resultaron significativos en el análisis de discriminante. No obstante, los individuos de estos dos grupos fueron diferentes en cinco de estos caracteres (50 %) lo que destaca la vali-

dez de las variables seleccionadas para discriminar entre larvas sobre tabaco y sugirió la posibilidad de dos posibles especies. Sin embargo, en el resto de los caracteres sus especímenes fueron similares e indicó, que los individuos que se agrupan en A y B están relacionados. Los principales caracteres morfológicos que separan a las larvas de estos en dos grupos fueron:

Grupo A: la base de la seta D_1 en los segmentos A_1 , A_2 y A_8 tiene forma de Chalaza, sin presencia de microespinas, que puede llegar a ser de mayor tamaño respecto a la base de la seta D_2 en estos segmentos, para el 80 % de las larvas (Figura 1A, B); además, la seta SD_1 tiene la base en forma de pinácula y no se conecta con la seta L_1 en los segmentos abdominales (Figura 1 C); no presentan una franja oscura en la parte subdorsal a ambos lados del cuerpo.

Grupo B: la base de la seta D_1 en los segmentos A_1 , A_2 y A_8 es fuertemente cónica en forma de chalaza, que está cubierta totalmente con microespinas y es evidente la diferencia entre la altura de la base de las setas D_1 y D_2 , en estos tres segmentos, que llega a ser más de dos veces el tamaño en D_1 respecto a D_2 (Figura 2A, B); la base de la seta SD_1 es una chalaza esclerosada que se conecta a través de microespinas con la base de la seta L_1 desde A_3 hasta A_7 (Figura 2C); se observa una franja oscura en la región subdorsal a ambos lados del cuerpo.

POGUE (2013) y GILLIGAN & PASSOA (2014) describieron a *C. virescens* con la base de la seta dorsal D_1 fuertemente cónica en forma de chalaza y cubierta por microespinas pequeñas en los segmentos A_1 , A_2 y A_8 , lo cual coincide solo con el Grupo B, el cual también se corresponde con larvas recolectadas en los órganos reproductivos.

Por tanto, quedó una interrogante: ¿las larvas agrupadas en el Grupo A, se clasifican como *C. tergemina* u otra especie?, pues HALLMAN (1978), no hace referencia a la presencia o no de microespinas en esta especie; aunque sí señala que en el octavo segmento abdominal están desprovistas de estas en *C. subflexa*, la cual es especialista de plantas del género *Physalis* (OPPENHEIM *et al.*, 2017). Por las consideraciones anteriores, se procedió a integrar estos resultados con estudios moleculares, al no contar con suficientes criterios morfológicos, para establecer una correcta clasificación de las larvas del Grupo A y confirmar si las larvas del Grupo B pertenecen a *C. virescens*.

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR MEDIANTE EL GEN mtCOI

Los 680 nucleótidos obtenidos de la secuenciación parcial del gen mtCOI de los grupos A y B, mostraron un 99 % de homología entre ambos grupos morfológicos y de estos con accesiones de *C. virescens* registradas en el GenBank, lo que confirmó la identidad taxonómica de *C. virescens* en todas las muestras.

La distancia genética entre los individuos de los Grupo A y B fue de un 1 %, e indicó la existencia de relaciones intraespecífica entre los individuos que agrupan (HAUSMANN *et al.*, 2011); mientras que estos mostraron relaciones interespecíficas con las accesiones de *C. virescens* de Brasil (con una distancia genética del 3,0 % los dos morfotipos), *C. subflexa* (6,0 % Grupo A y 7,0 % Grupo B) y con *S. frugiperda* (11,0 % el Grupo A y 12,0 % el Grupo B) (MITCHELL & GOPURENKO, 2016).

El análisis filogenético por el método de Máxima Verosimilitud coincidió con los resultados obtenidos en el análisis de la distancia genética y generó un dendrograma con tres taxones: uno para cada grupo extra; y otro donde las accesiones de *C. virescens* del Genbank y las de Cuba, formaron un clúster con soporte muy fuerte. (Figura 2). No obstante, se observó divergencia genética entre las accesiones, al interior del clúster de *C. virescens*. Este resultado, indicó que los especímenes de los Grupos A y B de *C. virescens*, están más estrechamente relacionados a las de Chile, Costa Rica y Estados Unidos. Resultados similares fueron obtenidos en Chile (SANTOS-ZAMORANO *et al.*, 2017). Sin embargo, las accesiones de los dos grupos se agruparon de forma independiente con un buen so-

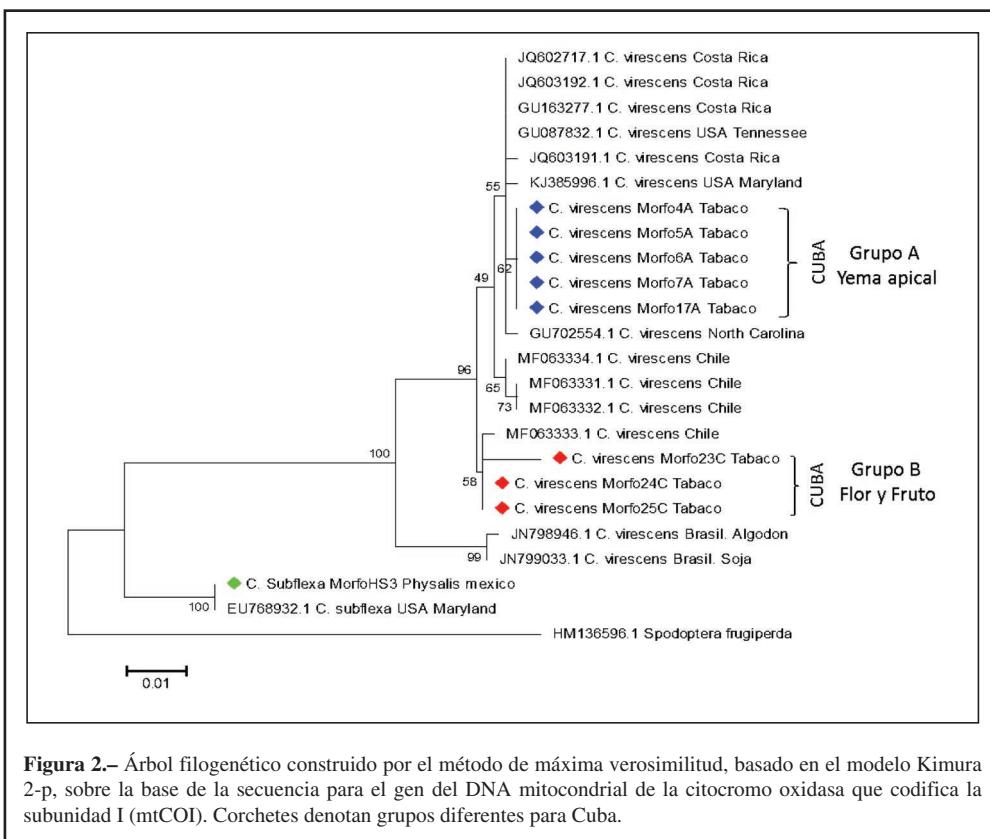


Figura 2.- Árbol filogenético construido por el método de máxima verosimilitud, basado en el modelo Kimura 2-p, sobre la base de la secuencia para el gen del DNA mitocondrial de la citocromo oxidasa que codifica la subunidad I (mtCOI). Corchetes denotan grupos diferentes para Cuba.

porte, resultado que sugirió que los individuos que agrupan pertenecen a dos linajes diferentes dentro *C. virescens*.

El hecho de que los resultados mostraron divergencia genética al interior del clúster de *C. virescens*, reafirma la validez e importancia del gen mtCOI como un marcador molecular útil para distinguir entre especies similares o crípticas (MARTÍNEZ-ROSAS *et al.*, 2016). Por tanto, se propone por primera vez para Cuba la presencia de dos morfoespecies de *C. virescens* sobre el cultivo del tabaco negro, teniendo en cuenta las diferencias entre los caracteres morfológicos y la existencia de divergencia genética entre ellos; por lo que será necesario valorar la actual estrategia de manejo sobre el cultivo de tabaco.

Conclusiones

Se confirma a *C. virescens* como única especie que afecta al cultivo del tabaco negro en Pinar del Río, Cuba, compuesta por dos morfoespecies que presentan una alta variabilidad morfológica y divergencia genética en larvas del último instar y hábitos alimenticios diferenciales asociadas a la yema terminal del tallo y los órganos reproductivos del tabaco negro.

Agradecimientos

Agradecemos al Tecnológico Nacional de México Campus Tlajomulco por las facilidades otorga-

das para la estancia doctoral de Frank L. Rodríguez en el marco de colaboración académica bilateral México-Cuba.

BIBLIOGRAFÍA

- CORTÉS, E. J., TUTA, L. T. & GARCÍA, D., 2019.- Análisis de la evolución de la industria tabacalera en Ciego de Ávila, Cuba.- *Universidad & Ciencia*, **8**(1): 164-174.
- CHO, S., MITCHELL, A., MITTER, C., REGIER, J., MATTHEWS, M. & ROBERTSON, R., 2008.- Molecular phylogenetics of Heliothine moths (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae) with comments on the evolution of host range and pest status.- *Systematic Entomology*, **33**: 581-594.
- DINCÁ, V., DAPPORTO, L. & VILA, R., 2011.- A combined genetic-morphometric analysis unravels the complex biogeographical history of *Polyommatus icarus* and *Polyommatus celina* Common Blue butterflies.- *Molecular Ecology*, **20**(18): 3921-3935.
- DOYLE, J. J. & DOYLE, J. L., 1990.- Isolation of plant DNA from fresh tissue.- *Focus*, **12**:13-15.
- 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 Biology and Biotechnology*, **3**(5): 294-299.
- GILLIGAN, T. M. & PASSOA, S. C., 2014.- Key to frequently named lepidopteran larvae intercepted, or potentially encountered, at us ports.- *Lepintercept*: 35. http://idtools.org/id/leps/lepintercept/LepIntercept_LarvalKey.pdf.
- HALLMAN, G., 1978.- Clave taxonómica para las especies de *Heliothis* (Lepidoptera: Noctuidae) en Colombia.- *Revista Colombiana de Entomología*, **4**(3-4): 61-69.
- HAUSMANN, A., HASZPRUNAR, G. & HEBERT, P. D. N., 2011.- DNA Barcoding the Geometrid Fauna of Bavaria (Lepidoptera): Successes, surprises, and questions.- *Plos One*, **6**(2): 1-9.
- MARTÍNEZ-ROSAS, R., ARAUJO-RUIZ, K., CAMBRÓN-CRISANTOS, J. M. & VEGA-ORTÍZ, H. E., 2016.- Caracterización morfológica y molecular de larvas de *Grapholita packardi* (Zeller, 1875) y *Grapholita prunivora* (Walsh, 1868) (Lepidoptera: Tortricidae) de importancia económica.- *Entomología Mexicana*, **3**: 961-968.
- MÉNDEZ, A., 2003.- Aspectos biológicos sobre *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) en la Empresa Municipal Agropecuaria "Antonio Guiteras" de la zona norte de la provincia de Las Tunas.- *Revista de Fitosanidad*, **7**(3): 21-25.
- MITCHELL, A. & GOPURENKO, D., 2016.- DNA barcoding the Heliothinae (Lepidoptera: Noctuidae) of Australia and utility of DNA barcodes for pest identification in *Helicoverpa* and relatives.- *Plos One*, **11**(8): 1-18.
- OPPENHEIM, S. J., GOULD, F. & HOPPER, K. R., 2017.- The genetic architecture of ecological adaptation: intraspecific variation in host plant use by the lepidopteran crop pest *Chloridea virescens*.- *Heredity*, **120**: 234-250.
- PÉREZ, J. C. & SURIS, M., 2012.- Ciclo de vida y reproducción de *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) sobre garbanzo.- *Revista de Protección Vegetal*, **27**(2): 85-89.
- POGUE, M. G., 2013.- Revised status of *Chloridea* Duncan [and Westwood, 1841], for the *Heliothis virescens* species group (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae) based on morphology and three genes.- *Systematic Entomology*, **38**: 523-542.
- RIVAS, A. & MARTÍNEZ, M. A., 2015.- *Heliothis tergeminus* (Felder y Rogenhofer), nueva especie plaga en el cultivo del tabaco en Cuba.- *Revista Protección Vegetal*, **30**: 77-80.
- RODRÍGUEZ, F. L., MARTÍNEZ, M. A. & GÓMEZ, J. F., 2018.- Parámetros biológicos y tabla de vida de dos poblaciones de *Chloridea virescens* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) asociadas al tabaco negro.- *Revista Protección Vegetal*, **33**(2): 1-7.
- SANTOS-ZAMORANO, B., HUANCA-MAMANI, W. & VARGAS, H. A., 2017.- Genetic divergence of the pest moth *Chloridea virescens* (Noctuidae: Heliothinae) feeding on a newly documented host plant in the Atacama Desert of Northern Chile.- *Journal of the Lepidopterists' Society*, **71**(4): 274-278.
- TAMURA, K., STECHER, G., PETERSON, D., FILIPSKI, A. & KUMAR, S., 2013.- MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0.- *Molecular Biology and Evolution*, **30**(12): 2725-2729.
- THOMPSON, J. D., HIGGINS, D. G. & GIBSON, T. J., 1994.- CLUSTAL W. Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice.- *Nucleic Acids Research*, **22**: 4673-4680.

F. L. R. E., Y. S. B., J. P. E.
Universidad de Pinar del Río
Calle Martí, 270
C. P. 20100 Pinar del Río
CUBA / CUBA
E-mail: frankl@upr.edu.cu
<https://orcid.org/0000-0003-0859-2613>

E-mail: yoerlandy@upr.edu.cu
<https://orcid.org/0000-0003-3793-7828>

E-mail: jpacheco@upr.edu.cu
<https://orcid.org/0000-0002-7063-2850>

M. A. M. R.
Dirección de Sanidad Vegetal
Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), apartado 10
San José de las Lajas, Mayabeque
CUBA / CUBA
E-mail: maria@censa.edu.cu
<https://orcid.org/0000-0002-5713-067X>

*J. F. G. L., I. G. L. M.
Tecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico de Tlajomulco
Km 10 Carretera a San Miguel Cuyutlán
C.P. 45640, Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco
MÉXICO / MEXICO
*E-mail: jfgleyva@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-3378-1144>

E-mail: lopezmuraira@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-4857-8701>

*Autor para la correspondencia / Corresponding author

(Recibido para publicación / Received for publication 16-III-2021)

(Revisado y aceptado / Revised and accepted 8-IV-2021)

(Publicado / Published 30-XII-2021)