Informe final* del Proyecto JE002
Filogeografía y genética del paisaje de Cactoblastis cactorum en la región del Caribe*

Responsable:	Dr. Juan Enrique Fornoni Agnelli
Institución:	Instituto de Ecología UNAM
Correo electrónico:	jfornoni@miranda.ecologia.unam.mx

Fecha de inicio:	15 de junio de 2011
Fecha de término:	20 de noviembre de 2014
Principales resultados:	Informe final, Base de datos, Hoja de cálculo, Fotografías
Forma de citar el informe final y otros resultados:**	Fornoni Agnelli, J. E. 2014. Filogeografía y genética del paisaje de *Cactoblastis cactorum* en la región del Caribe. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ecología. **Informe final SNIB-CONABIO**, **proyecto No. JE002**. México D. F. Fornoni Agnelli, J. E. 2014. Filogeografía y genética del paisaje de *Cactoblastis cactorum* en la región del Caribe. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ecología. **Hoja de cálculo SNIB-CONABIO proyecto No. JE002**. México. D. F.

Resumen:

La biología de la palomilla del nopal, *Cactoblastis cactorum*, se ha vuelto un problema de interés nacional dado que las larvas de este insecto pueden afectar negativamente las poblaciones naturales y cultivadas de nopales (en particular del género Opuntia). Este insecto, originario de Sudamérica, ha sido utilizado para el control biológico de especies de nopal en Australia, Sudáfrica y algunas islas del Caribe. Sin embargo, su alta eficiencia como agente de control biológico y su historia de migración durante los últimos 50 años lo han convertido en una especie altamente peligrosa para la conservación de los nopales mexicanos. *C. cactorum* ha colonizado una cantidad importante de islas del Caribe y la Península de la Florida. En los últimos años el gobierno mexicano ha detectado dos eventos de invasión biológica de esta especie en la Península de Yucatán, uno en Isla Mujeres (2006) y otro en Isla Contoy (2007), aunque estos no se han repetido. Asimismo, el avance de la invasión en la península de Florida y el Golfo de México, han reducido la distancia geográfica con la frontera norte del país (Soberón et al. 2001). Ambos eventos resaltan el inminente riesgo que México enfrenta ante el posible ingreso de este insecto al territorio nacional y la necesidad de contar con información biológica sobre la ecología y evolución del insecto para tomar medidas de control y prevención. Por todo lo anterior, en este proyecto se propone utilizar marcadores moleculares para evaluar su capacidad natural de migración en la región del Caribe, y así contar con la información biológica necesaria para identificar los sitios o regiones que pudieran ser fuentes de migraciones futuras hacia México. Esto permitirá tener un mapa de riesgo de invasión basado en la probabilidad de migración natural en todo el Caribe. La información actual no permite distinguir si el origen de las introducciones a México ocurrió por vías comerciales desde Puerto Rico y República Dominicana (como lo sugieren estudios previos) o a través de migración natural por la Isla de Cuba. El proyecto propuesto permitirá determinar cuál de estas dos fuentes es la más probable y sobre cuál deberían encaminarse las medidas de control y prevención. Para cumplir con estas metas se propone: (1) Realizar un estudio de la filogeografía de *C. cactorum* en la región del Caribe, Golfo de México y Florida para identificar las rutas potenciales de invasión derivadas del tráfico comercial, el turismo entre México y el Caribe, además de aquellas relacionadas con las tasas naturales de dispersión; (2) Realizar un estudio de genética de poblaciones y del paisaje para determinar los niveles de variación y diferenciación genética, tasas de flujo génico y migración y las posibles barreras naturales y antropogénicas para la especie.

- * El presente documento no necesariamente contiene los principales resultados del proyecto correspondiente o la descripción de los mismos. Los proyectos apoyados por la CONABIO así como información adicional sobre ellos, pueden consultarse en www.conabio.gob.mx
- ** El usuario tiene la obligación, de conformidad con el artículo 57 de la LFDA, de citar a los autores de obras individuales, así como a los compiladores. De manera que deberán citarse todos los responsables de los proyectos, que proveyeron datos, así como a la CONABIO como depositaria, compiladora y proveedora de la información. En su caso, el usuario deberá obtener del proveedor la información complementaria sobre la autoría específica de los datos.

Informe Final (12 de Junio de 2014)

Filogeografía y genética del paisaje de *Cactoblastis cactorum* en la región del Caribe

Responsable: Dr. Juan E. Fornoni Agnelli

Instituto de Ecología - UNAM

RESUMEN

La presencia de la palomilla del nopal (*Cactoblastis cactorum*) en la región del Caribe y Florida ha puesto en peligro la producción de nopales y la biodiversidad de Opuntia sp. en Norteamérica. En este proyecto se planteó analizar la distribución de la variación genética de *C. cactorum* con marcadores neutrales (mitocondriales y nucleares) para entender las causas de su dispersión en la región invadida y examinar el riesgo potencial de invasión que enfrenta México. En el estudio se muestrearon varias poblaciones del Caribe y Florida y se extrajo ADN para el análisis de la variación genética. Los resultados revelaron que la distribución de haplotipos del gen mitocondrial COI muestra un patrón similar a los registros históricos de las tormentas tropicales y huracanes en el Caribe. La presencia del insecto en Isla Mujeres (México) se explica por la similitud de la secuencia de COI con el haplotipo cubano de Pinar del Rio, sugiriendo que la fuente de la invasión fue de Cuba. Los análisis con marcadores nucleares (10 microsatélites) confirmaron que la dispersión del insecto dentro de Caribe ha ocurrido probablemente de manera secuencial desde la parte oriental del Caribe, en las islas de Nevis y Antigua hacia la parte oriental y la península de Florida a través de la isla de Cuba. Este proceso ocurrió en combinación con eventos de dispersión de República Dominicana a Florida y de Cuba a Florida. La ocurrencia de dos fuentes de dispersión (tráfico comercial y eventos naturales) explicaría la presencia de diferentes haplotipos y el patrón este/oeste observado en la península de Florida. En conjunto los resultados del proyecto indican que los eventos naturales como los huracanes juegan un papel significativo en la dispersión de este insecto invasor y que el riesgo de entrada a México es constante. Se recomienda el monitoreo de las costas de la península de Yucatán y el Golfo de México en las zonas impactadas por tormentas tropicales y huracanes.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES DEL PROYECTO

La palomilla del nopal *Cactoblastis cactorum* (Lepidóptera; Pyralidae) es originaria de Sudamérica (Norte de Argentina, Paraguay, Sur de Brasil y Uruguay) donde utiliza especies nativas de nopales como hospederos. Las larvas causan un daño enorme, ya que se comen el interior de las pencas; una sola colonia de larvas puede consumir de dos a cuatro pencas, provocando el amarillamiento, putrefacción (ya que se presentan infecciones fungosas y bacterianas secundarias) y el decaimiento de las pencas. Las especies de Opuntias pequeñas o las etapas tiernas de los nopales leñosos son especialmente vulnerables a este insecto. Es claramente una especie oligófaga (acepta a muchas especies como hospederas) (Zimmermann *et al*., 2000b; Zimmermann *et al*., 2007). En su área de distribución geográfica nativa, el estrés por frío puede limitar la distribución en el sur y a lo largo de la cordillera de los Andes, mientras que el estrés por humedad parece evitar la distribución hacia el norte de Brasil (Soberón *et al*., 2001).

La palomilla fue introducida en Australia en 1926 para controlar la proliferación de *Opuntia stricta* en Queensland y Nueva Gales del Sur (Zimmermann & Pérez-Sandi, 2006). Se introdujeron aproximadamente 2,750 larvas provenientes de una población natural de Concordia (Provincia de Entre Ríos, Argentina) que fueron reproducidas en jaulas durante dos generaciones. Para 1930 ya se habían liberado por todas las nopaleras un total de 30 a 40 millones de bastones (aproximadamente 2,750 millones de huevecillos). Entre 1935 y 1940 *C. cactorum* había logrado el control completo de las principales infestaciones del nopal plaga. Hasta la fecha no ha habido necesidad de hacer nuevas liberaciones del insecto. Luego del éxito obtenido en el control de *O. stricta*, fueron llevados 112,600

bastones de huevecillos de *C. cactorum* a Sudáfrica y Nueva Caledonia en 1930, provenientes de Australia. Después de pruebas adicionales de especificidad y reproducción masiva en tres estaciones reproductoras en el Karoo y en la entonces Provincia Oriental del Cabo, se realizó una primera liberación a pequeña escala en noviembre de 1933 sobre la especie *O. ficus-indica*. La reproducción masiva continúo durante siete años y, una vez que se establecieron los insectos, también se recolectaron bastones de huevecillos en campo. Hasta 1941, fueron distribuidos en la Provincia Oriental del Cabo casi 580 millones de bastones de huevecillos de *Cactoblastis*, reproducidos en laboratorio o colectados en campo. El daño causado por *Cactoblastis* no fue tan extenso como en Australia y el insecto nunca ha "limpiado completamente ni media hectárea de maleza". Sin embargo, destruye en forma extensiva la mayoría de las plantas jóvenes de hasta 30 cm de altura y hace que las plantas más grandes pierdan de dos a tres cladodios terminales de todas las ramas que superan los 2 m de altura. Esto produce un aclareo extensivo de densas poblaciones de nopal y retarda significativamente la dispersión de la maleza, al reducir su capacidad de fructificación y reclutamiento. Después de unos diez años de la primera liberación, las poblaciones de *Cactoblastis* se han mantenido siempre bajas en las áreas invadidas con nopal. Aunque esto suele ser suficiente para prevenir la dispersión de la maleza (Zimmermann *et al*., 2007).

La introducción de *Cactoblastis* como control biológico se consideró como una solución de corto plazo, tomando en cuenta el éxito obtenido en otras regiones, donde controló de manera efectiva a los nopales nativos considerados malezas (Raghu y Walton 2007). En 1950 de Australia se llevó la palomilla a la isla de Mauricio para controlar a *O. tuna* y *O. monacantha* y a Hawai para controlar *O. ficus-indica*. En 1957 la palomilla fue llevada de Sudáfrica a la Isla de Nevis en el Caribe donde controló con éxito la

proliferación del nopal nativo *O. triacantha* y *O. dilleni*, lo que promovió que ejemplares de Nevis fueran introducidos en 1962 en las islas vecinas de Montserrat, San Kitts y Antigua y en 1970 en la Isla Gran Caimán. En las mismas fechas fue introducida ilegalmente en las Islas Vírgenes, y muy probablemente también a otras islas vecinas que presentaban el mismo tipo de problemas con especies invasoras de *Opuntia* (Zimmermann *et al*., 2000a; Zimmermann *et al*., 2007) (Figura 1). De Nevis fue llevada a la isla Santa Helena y de allí a la isla Ascensión en 1973. En 1963, *C. cactorum* fue detectado en Puerto Rico, (Isla de Desecheo) y en otras Islas de las Antillas Menores (Figura 1). En 1980 se detectaron individuos en Guantánamo (Cuba) donde redujo drásticamente la población de *O. dillenii* que había invadido más de 31,240 hectáreas de las cuales el 25% estaba invadida y otras 534 hectáreas estaban totalmente cubiertas por esta especie (Zimmermann *et al*., 2007 (Figura 1).

En Estados Unidos se reportó el primer descubrimiento, en octubre de 1989, de *Cactoblastis* en los Cayos de Florida una hembra adulta recogida en una lámpara de vapor de mercurio (Habeck & Bennett, 1990) (Figura 1). En 1989 también se recogieron larvas de *Cactoblastis* en poblaciones de *O. stricta* infestadas y de nuevo en mayo de 1990 (Dickle, 1991). Uno de los factores que crean confusión es el hecho de que la palomilla pudo haber estado presente en los Cayos de la Florida desde 1985, y que estuviera sin detectarse hasta 1989 (Stiling, 2002), teniendo como evidencia una carta escrita a la Industria de Plantas, División de Florida, en 1990, que describe el nivel de daño por *Cactoblastis* en Florida como "muy disperso y severo con nopales reducidos a masas pudriéndose" (Zimmermann *et al*., 2007). En la Figura 1 se muestran las fechas correspondientes a cada una de las introducciones registradas en la región del Caribe. En general, la fecha exacta de colonización del resto de las islas del Caribe es desconocida. Actualmente en la mayoría de

las islas con poblaciones humanas en el Caribe, *C. cactorum* ha sido introducida natural o artificialmente (excepto en las Antillas Holandesas). Se encontraron altas infestaciones de *Cactoblastis* en un vivero de República Dominicana, con *O. pilifera*, *O. leucotricha* y *O. (Nopalea) cochenillifera*, que se dedican a la exportación de plantas a muchos países, sobre todo a Estados Unidos (Zimmermann & Pérez-Sandi, 2006).

México ha reportado la presencia de este insecto en Isla Mujeres en el 2006 y en Isla Contoy en 2007 (Figura 1). Existe la hipótesis de que la palomilla arribó a la isla desde el Caribe a finales del 2005. Una ruta posible sería la trayectoria de los huracanes Stan y Wilma, los cuales pasaron a través de la isla en octubre 2005 (Zimmermann & Pérez-Sandi, 2006). También existe la hipótesis de que la palomilla arribó a la isla desde el Caribe a través del tráfico de plantas realizado por turistas (Zimmermann *et al*., 2007). Aunque en Isla Mujeres la palomilla fue erradicada luego de su detección, se ha propuesto que podría haberse establecido en el continente en la región de Cancún, lo que explicaría su ocurrencia en Isla Contoy (Zimmermann *et al*., 2007). Se realizó en Isla Mujeres y en la Isla Contoy un manejo integrado consistente en la eliminación de hospederos, monitoreo, trampeo con feromona sexual, control químico y técnica del insecto estéril, éstas acciones permitieron disminuir las poblaciones de la plaga hasta su erradicación declarada en el 2009 (SAGARPA, 2009a y 2009b; Mata-Cuellar *et al*., 2011). La vigilancia sigue siendo extensa en la frontera norte al ser considerada una probable ruta de ingreso al país proveniente del estado de Luisiana, Estados Unidos (SINAVEF, 2011). Las condiciones climáticas de México favorecen la invasión de esta palomilla en las zonas de alta riqueza y diversidad de nopal silvestre, así como en las de nopal forrajero y de producción de tuna (Soberón *et al*., 2001).

Durante la historia de invasión promovida por el hombre, *C. cactorum* ha expresado cambios importantes en su historia de vida. Mientras que en las zonas templadas de donde es nativa presenta dos generaciones por año, en las zonas tropicales como en el Caribe puede llegar a tener hasta tres generaciones por año incrementando su potencial invasor (Simonson *et al.*, 2005). En Florida la palomilla ha sido exitosa en la colonización de nuevas áreas geográficas que poseen temperaturas más bajas que el área en donde se detectó por primera vez (McLean *et al*., 2006). Además, a diferencia de lo que se ha observado en su ámbito nativo (Argentina), en Sudáfrica y Australia, la capacidad de dispersión natural de *C. cactorum* podría haber sido favorecida por las condiciones ambientales del Caribe. Por ejemplo, a pesar de contar con la presencia de hospederos y condiciones climáticas en Australia se ha observado que los individuos pueden viajar una distancia entre 16 y 24 kilómetros en dos años y medio (Dodd, 1940), mientras que en Sudáfrica la distancia de dispersión ha sido de 3 a 6 kilómetros en el mismo período (Pettey, 1948). Durante 15 años de monitoreo cuidadoso en Sudáfrica se pudo observar que *Cactoblastis* no logró alcanzar las grandes poblaciones de hospederos situados a tan sólo 40 y 60 km. de distancia (Foxcroft *et al*., 2007; Zimmermann *et al*., 2007). En contraste, en Florida la dispersión de este insecto alcanzó los 50-75 kilómetros por año entre 1989-1999 (Stiling, 2002) y se incrementó a 158 kilómetros por año entre el 2000 y 2003 (Bloem, 2003). Luego de ser introducido en Hawái en 1950, se registró su presencia de manera natural en cuatro islas vecinas ubicadas a una distancia de entre 47 y 110 km en menos de cuatro años (Simonson *et al*., 2005). Un fenómeno similar se observó luego de la introducción a Puerto Rico en las islas cercanas (Zimmermann & Pérez-Sandi, 2006). *Cactoblastis* se reportó primero en la isla de Desecheo (Puerto Rico) y en otras islas

pertenecientes a las Grandes Antillas pero resulta difícil creer que el insecto se haya dispersado de manera natural a una distancia tan larga, en el transcurso de un año, hacia las Pequeñas Antillas. Un ejemplo es el hecho de que la vecina isla Mona, que se encuentra deshabitada, se encuentre libre de *Cactoblas*tis (Zimmermann *et al*., 2007).

A pesar de la aparente capacidad de dispersión de *C. cactorum*, los eventos de invasión a México han sido recientes y en teoría esporádicos. Este hecho sugiere que (1) existen barreras naturales que han reducido la probabilidad de invasión hacia México, (2) la capacidad de dispersión natural es suficientemente baja para que sólo las introducciones promovidas por el hombre sean exitosas, (3) México no ha sufrido eventos recurrentes de invasión porque no tiene una historia de importación de productos de origen vegetal o cactáceas con fines ornamentales provenientes del Caribe que pudieran promover la dispersión de *C. cactorum*. En este sentido, determinar los riesgos de invasión para México implica, entre otras cosas, poner a prueba las hipótesis basadas en diferentes mecanismos y rutas de invasión.

La primer hipótesis propone la posible presencia de *C. cactorum* en México a causa de la ocurrencia de huracanes que funcionarían como vectores entre las islas del Caribe más cercanas a la Península de Yucatán. Sin embargo, datos históricos sobre la trayectoria de los huracanes indican que rara vez estos atraviesan la isla de Cuba para luego tocar tierra en Yucatán. El huracán Stan, ocurrido en 2005, siguió esta trayectoria y se le atribuye la presencia de *C. cactorum* en Isla Mujeres (Quintana Roo) (Zimmermann & Pérez-Sandi, 2006) aunque esto no ha sido confirmado con datos biológicos. Sin embargo, la información obtenida del estudio filogeográfico de Simonsen *et al.* (2008) indica una conexión genética entre los ejemplares colectados en Isla Mujeres con aquellos de República Dominicana, la Florida y la Costa del Golfo de México (USA), sugiriendo que la

migración de individuos a la Península de Yucatán no necesariamente estuvo asociada a eventos naturales. Por lo tanto, la información disponible hasta el momento no permite descartar esta hipótesis ya que el muestreo previo no incluyó la isla más grande del Caribe (Cuba) que es un puente natural en la migración hacia Florida y Yucatán.

Con respecto a la segunda hipótesis, existe muy poca información sobre la magnitud del flujo génico que ocurre en la región de origen de *C. cactorum* en Sudamérica (Marsico *et al.*, 2010), y en el Caribe, que permita evaluar el papel del hombre en los eventos recientes de invasión. Las observaciones y registros disponibles sobre la velocidad de colonización sugieren que hay menos restricciones al flujo génico en el continente que entre las islas del Caribe y el continente. La falta de información confiable señala la necesidad de un estudio formal del flujo génico y del potencial de expansión de *C. cactorum* en las islas del Caribe. Este tipo de análisis permitirán determinar la probabilidad de invasión a México desde las islas más cercanas. Si la capacidad de migración de *C. cactorum* ha limitado su tasa de expansión en el Caribe, se esperaría encontrar un patrón de aislamiento por distancia. Finalmente, dado que México mantiene un flujo comercial reducido con el Caribe, en particular de productos vegetales que pudieran favorecer el ingreso de *C. cactorum*, es importante determinar si su tasa y capacidad de dispersión es suficientemente alta para alcanzar la península de Yucatán desde las islas cercanas.

La información recopilada sobre la biología e historia de *C. cactorum* en el Caribe y Florida indican que el hombre ha jugado un papel primordial en la dispersión del insecto (Pemberton *et al.*, 1995; Zimmermann *et al*., 2007; Simonsen *et al*., 2008). La ocurrencia del insecto en Florida parece haber sido promovida por el comercio de cactáceas infectadas desde Puerto Rico, República Dominicana y Haití (Pemberton *et al*., 1995). En el 2000, a unos 200 km. de donde se encontraban poblaciones con la palomilla, se reportó la

incautación de un embarque de plantas infestadas con *Cactoblastis* enviadas de Miami a una tienda Wal-Mart cerca de Pensacola, condado Santa Rosa, Florida (Heppner, 2000; Habeck & Bennett, 2002; Zimmermann *et al*., 2007). Sin embargo, un estudio filogeográfico reveló la presencia de un patrón geográfico en la Península de Florida donde las poblaciones al este y oeste de la Península corresponden a diferentes haplotipos (Simonsen *et al*., 2008). Este patrón ha sido interpretado como resultado de eventos independientes de invasión, aunque el mismo patrón geográfico se ha observado para otros sistemas nativos distribuidos en la misma región (Avise, 2000). Esto sugiere que factores ambientales, además del efecto del hombre, pudieron haber condicionado el patrón de invasión en la Península de Florida durante los últimos 30 años.

La evidencia biológica disponible, así como el escaso comercio de cactáceas que existe entre México y el Caribe, sugieren que es más probable que una invasión de *C. cactorum* a nuestro país ocurra por dispersión natural (Zimmermann *et al*., 2000). Por esta razón, en el presente proyecto pretendemos complementar la información obtenida por Simonsen *et al.*, 2008 sobre la estructura filogeográfica de *C. cactorum* en la Florida y el Caribe incrementando el muestreo sobre las islas del Caribe más cercanas a las costas de México. Esto nos permitirá estimar los niveles de diferenciación, diversidad genética y flujo genético en el Caribe, y evaluar el riesgo potencial que enfrenta México.

OBJETIVOS

Los objetivos específicos del proyecto fueron: (1) Describir la estructura filogeográfica y la distribución de la variación genética en la región invadida del Caribe, Florida y México utilizando un marcador mitocondrial (Citocromo Oxidasa I) y marcadores nucleares (microsatélites), (2) Determinar las rutas potenciales de invasión en la región.

MATERIAL Y MÉTODO

Colecta de material biológico

Durante 2011-2012 se muestrearon 9 poblaciones de *C. cactorum* en Florida y el Caribe donde se obtuvieron entre 6 y 30 individuos por poblaciones (Tabla 1). Durante el 2013 se realizó un muestreo en las costas de la Península de Yucatán en todas las poblaciones de *O. dilleni* cubriendo una distancia lineal de 1200 km de costa entre la ciudad de Campeche y Puerto Morelos (Quintana Roo). Las larvas colectadas fueron conservadas en alcohol al 70 % en viales de 1.5 ml para su preservación hasta la extracción de ADN en el laboratorio. El ADN se extrajo de las patas de las larvas para evitar la contaminación con material genético que no correspondiera a la especie de estudio. Se colectó una larva por cladodio de la planta hospedera (*Opuntia* sp.) para evitar que estas fueran hermanas. Se extrajo el ADN de la totalidad de las muestras colectadas (N = 183 individuos) (Tabla 1) utilizando un kit de extracción Qiagen DNEasy® blood & tissue kit (Maryland, USA, cat. 60504) siguiendo las instrucciones del proveedor para la purificación del ADN. Se secuenciaron 836 bp del gen mitocondrial citocromo oxidasa I utilizando el par de primers Jerry-Pat II (Simon *et al*., 1994; Caterino and Sperling 1999; Jerry: 5 'CAACATTTATTTTGATTTTTTGG 3'; PatII:5'TCCATTACATATAATCTGCCATATT AG 3'), y se amplificaron en un termociclador PXE 0.2 (Thermo Electron Corporation, US). Se generaron secuencias en ambos sentidos y se alinearon usando Mega 5 (Tamura *et al*., 2011). El ADN obtenido inicialmente fue enviado a la empresa Genetic Marker Services (UK) para la obtención de una librería de primers de microsatélites nucleares. Posteriormente se obtuvieron 29 primers de los cuales a la fecha 14 han resultado confiables en las pruebas de amplificación.

Análisis de datos

Citocromo oxidasa I. Para la muestra de poblaciones obtenidas en el muestreo se estimaron los siguientes descriptores de la variación genética para el gen citocromo oxidasa I utilizando el programa DNAsp (Rozas *et al*., 2003): número de sitios segregantes (S), número de haplotipos, y diversidad haplotídica (π). Los análisis posteriores se realizaron juntando la información obtenida en el muestreo con aquella obtenida del GenBank para un total de 142 secuencias (110 se obtuvieron en el muestreo y 132 en el GenBank (Florida, Puerto Rico, República Dominicana, México)). Las secuencias obtenidas de las poblaciones de la costa del Golfo y del Atlántico para la Península de Florida se juntaron para representar dos poblaciones en los análisis, una para cada costa. Cada población abarca una distancia de aproximadamente 500 km en cada costa (Simonsen *et al*., 2008; Marsico *et al*., 2010). Utilizando el programa TCS 1.21 (Clement *et al*., 2000) se construyó una red de haplotipos. Para probar si los patrones históricos de los huracanes en la región se relacionan con los patrones geográficos de estructuración genética se realizó un análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA) con el programa ARLEQUIN 3.5 (Excoffier *et al*., 2005). Posteriormente se corrió el mismo análisis por pasos incluyendo la latitud y longitud como covariables para evaluar si el agrupamiento estaba condicionado por la distancia geográfica entre las poblaciones (Dyer, 2009). Los análisis para el gen citocromo oxidasa se realizaron con 12 localidades.

Microsatélites nucleares. Para realizar los análisis se extrajo ADN de 10 poblaciones en el Caribe y Florida. El número de individuos utilizados en cada población varió de 7 a 30

individuos (Tabla 2). Se estimó por población el número promedio de alelos, riqueza alélica, y diversidad genética a partir de las secuencias de 14 microsatélites nucleares. Para poder caracterizar la estructura genética de la especie se estimaron los estadísticos F_{ST} (Wright, 1922). El equilibrio de H-W y la diferenciación entre poblaciones (F_{ST}) se evaluó utilizando el programa GENEPOP. De acuerdo con Weir y Cockerman (1984), la significancia de los estadísticos F por población se obtuvieron mediante la prueba de chi-cuadrada (χ^2) (Li y Horvitz 1953), $\chi=2NF_{ST}(k-1)$ (Workman y Niswander 1970) con (k-1)(s-1) grados de libertad; donde k es el número de alelos y s el número de subpoblaciones a analizar. Se realizó un análisis de agrupamiento para las 10 localidades de *Cactoblastis cactorum* en la región del Atlántico y Estados Unidos, y 2 poblaciones de la región nativa de *C. cactorum*. Las poblaciones de Argentina fueron tomadas de la región de la cual fueron extraídos los individuos llevados a Australia para realizar el control biológico de *Opuntia*. Para el análisis de agrupamiento se utilizó el programa STRUCTURE. Cada corrida del programa consistió en 10^5 cadenas de Markov, seguida de 10^6 iteraciones para 20 réplicas para cada valor de *k* entre 1 y 9.

El flujo génico y el número de migrantes entre las poblaciones se estimó de manera indirecta calculando las F_{ST} entre pares de poblaciones (Slatkin, 1995). Se calcularon los migrantes de primera generación mediante simulaciones computacionales, las cuales identifican las poblaciones que han funcionado como fuente de migrantes durante el proceso de invasión (Pascual *et al.*, 2007). Este análisis permite hacer estimaciones incluso cuando hay poca diferenciación entre las poblaciones (p.e. Valores pequeños de F_{ST}). La probabilidad L_i (probabilidad multilocus de asignar un individuo *i* de las poblaciones invadidas a una de las poblaciones fuente) fue calculada en el programa GENECLASS 2

(Piry *et al.*, 2004; Ciosi *et al.*, 2008) donde los valores se calculan a partir de las frecuencias alélicas de las poblaciones. Entre mayor sea el valor de L_i, mayor es la probabilidad de que los individuos de una población provengan de alguna otra población en particular. Para identificar las poblaciones fuente se evalúa en conjunto los valores de L_i más altos y los valores de F_{ST} más bajos entre pares de poblaciones. A partir de estos valores se proyectó un mapa de rutas de invasión que sintetiza los resultados de estos análisis.

Análisis de las rutas de invasión según el modelo ABC

Para analizar posibles rutas de invasión de *Catoblastis cactorum* en las islas del Caribe y Estados Unidos se utilizó el programa DYI ABC (Cornuet *et al*., 2008; Guillemaud *et al*., 2010) con el cuál se analizaron 3 posibles escenarios (Figura 2). Dada la complejidad de las simulaciones se utilizaron selectivamente 5 poblaciones muestreadas que representan los eventos más importantes de colonización en la región invadida para los cuales se cuenta con fechas precisas de la presencia del insecto en las islas. Las poblaciones que se seleccionaron se definieron en base a la similitud o diferencia de las localidades tomando en cuenta los valores de F_{ST} pareadas y los análisis de STRUCTURE. En el análisis se incluyó una localidad de Argentina. Debido a la diferencia de sólo un año en la fecha de registro de la entrada de *C. cactorum* a la isla de Nevis y Antigua y dado el mayor número de individuos colectados para Antigua y las similitudes mostradas entre estas poblaciones se utilizó a la población de Antigua para los análisis. La introducción de la palomilla a República Dominicana y Puerto Rico no está bien definida en la literatura pero se cuenta con información sobre la entrada a la isla de Desecheo que se encuentra localizada entre ambas islas, por lo que se prefirió usar el material de Republica Dominicana. De las tres

poblaciones de Cuba se eligió la población de Santiago de Cuba ya que solo se tiene reportes de un avistamiento para la isla de Cuba en una región cercana (Guantánamo). Tomando en cuenta que los valores de F_{ST} entre las tres localidades de Cuba son pequeños se decidió utilizar únicamente esta localidad. Para la localidad de Estados Unidos solo se cuenta con una población con un tamaño de muestra adecuado. El modelo permite introducir una población "fantasma" cuando no se cuenta con información genética de alguna localidad que se considera importante en el modelo; en este caso el paso que tuvo la especie por Australia es importante en el modelo propuesto.

A partir de estos criterios se propusieron 3 escenarios potenciales para la ruta de invasión en la región del Caribe y Florida (Figura 2). (1) El primer escenario examinó si el proceso de invasión fue gradual comenzando en Argentina, pasando a una población fantasma (Australia) y de ahí a la isla de Antigua, luego a Cuba y posteriormente a Estados Unidos, (2) El segundo escenario considera una bifurcación durante el proceso de invasión. En este caso luego de salir de Argentina y pasar por la población fantasma (Australia), llegó a la isla de Antigua donde sigue dos posibles caminos, uno a través de Santiago de Cuba y otro directamente hacia Estados Unidos, (3) El tercer escenario, evaluó si ocurrió una mezcla de las poblaciones de Cuba y Antigua, antes de llegar a Estados Unidos.

RESULTADOS

Citocromo oxidasa I

Los resultados confirmaron el número de haplotipos que se detectaron para la región en estudios previos. De acuerdo con la notación de Simonsen et al. (2008) se encontraron los haplotipos 2, 3 y 5, y el haplotipos CBN detectado más recientemente por Marsico *et al*. (2010). También se detectó una diferencia similar en el número de pares de bases que

distinguen a los haplotipos. La diversidad nucleotídica promedio fue de 0.00177 (rango: 0-0.00277). La diversidad nucleotídica más elevada se observó en la localidad de Santiago de Cuba, mientras que la más baja correspondió a la isla de Nevis, Isla Mujeres (México) y a la localidad de Palisadores en Jamaica. Los haplotipos 2 y 5 fueron los más distantes genéticamente con una diferencia de tres pares de bases.

En la isla de Nevis donde *C. cactorum* fue inicialmente introducido en el Caribe en 1957 solo se detectó un haplotipo, mientras que en las poblaciones invadidas más recientemente se concentró la mayor diversidad de haplotipos. En particular, en la Península de Florida se encontró la mayor diversidad de haplotipos seguida por la isla de Cuba. En las localidades de Trinidad y Santiago de Cuba se observaron todos los haplotipos de la región excepto el haplotipo CBN únicamente detectado en la costa atlántica de Florida por Marsico *et al*. (2010).

Los resultados del análisis espacial de varianza molecular indicaron la existencia de una estructura filogeográfica significativa que coincide con los patrones históricos de las trayectorias de los huracanes en la región (Figura 3). Los análisis detectaron cuatro grupos genéticamente diferentes dentro de la región de estudio. Uno de los grupos corresponde a las poblaciones ubicadas en la costa del Golfo, Isla Mujeres (México), Las Tablas (Rep. Dominicana) y dos de las poblaciones de Cuba (Pinar del Rio y Santiago de Cuba). Este grupo se caracterizó por una dominancia del haplotipo 5. Los otros tres grupos se caracterizan por la presencia de los haplotipos 2 y 3. El grupo formado por las poblaciones de Antigua, la costa Atlántica de Florida y la localidad de Trinidad en Cuba presentaron una frecuencia similar de los haplotipos 2 y 3. El grupo formado por las poblaciones de Palisadores (Jamaica) y Nevis presentaron una clara dominancia del haplotipo 3, mientras que el cuarto grupo formado por las poblaciones de La Romana (Rep. Dominicana) y

Guanica (Puerto Rico) presentaron una clara dominancia del haplotipo 2. El 62.8 % de la variación genética se debió al agrupamiento antes descrito, seguido por la variación dentro de las poblaciones (34.7 %), y la variación entre poblaciones dentro de los grupos (2.53 %). Análisis posteriores indicaron que el agrupamiento detectado no se explica por la distancia geográfica entre las poblaciones ($\Phi_{ST|COVARIATES}$ = 0.632) rechazando la hipótesis de aislamiento por distancia con el marcador mitocondrial. Los muestreos en la costa de la Península de Yucatán no detectaron la presencia de *C. cactorum* en el continente.

Microsatélites nucleares

De los 14 microsatélites examinados 10 resultaron en equilibrio de Hardy-Weinberg, por lo que los análisis subsecuentes sólo incluyeron 10 loci. El número promedio de alelos por primer fue de 2.82, encontrándose los valores más bajos en una de las poblaciones de Florida (Lee) (1.64) y el valor más alto en La Romana (Rep. Dominicana) (3.50). La mayor riqueza alélica se detectó en la isla de Nevis (1.50), y la menor en Palisadores (Jamaica) (1.25). La diversidad genética más elevada se registró en la isla de Nevis (0.52), y la más baja nuevamente en Palisadores (Jamaica) (0.25). El patrón anterior sugiere que las islas de Antigua y Nevis donde el insecto arribó por primera vez en el Caribe tienen la mayor diversidad genética, mientras que la isla de Jamaica y las poblaciones colonizadas más recientemente presentan niveles más bajos de diversidad genética (Tabla 2). Los análisis de diferenciación genética entre pares de poblaciones revelaron que la menor diferenciación se detectó entre las poblaciones de Nevis y Antigua (F_{ST} = 0.042) y la mayor entre las poblaciones de Jamaica y Florida (Highlands) (F_{ST} = 0.40) (Tabla 3). Los valores de F_{ST} indican que la población de Florida presentó menor diferenciación genética con la

población de República Dominicana, seguida por la población de Nevis y Antigua respectivamente. La población de Cuba de la región occidental de la isla (Pinar del Río) resultó ser la de mayor diferenciación para toda la isla con respecto a las poblaciones de República Dominicana, Antigua y Nevis (Tabla 3). La isla de Jamaica fue la más aislada genéticamente del resto de las islas de la región, mientras que la población de República Dominicana fue la que presentó menor diferenciación promedio con el resto de las islas de la región. El análisis de STRUCTURE propone que existen dos grupos principales (Figura 4); las poblaciones de Argentina están claramente diferenciadas de las poblaciones de la región invadida en el Caribe y Florida. Entre las poblaciones del Caribe y Florida se observa que las poblaciones de Rep. Dominica, Florida, Antigua y Nevis presentan menor probabilidad de pertenencia al grupo del Caribe que los individuos del resto de las islas del Caribe sugiriendo una posible diferenciación dentro del Caribe (Figura 4).

Rutas de invasión

Los resultados de los análisis de diferenciación poblacional y migración potencial son congruentes con el modelo de invasión que resultó ser validado por los datos. De los tres escenarios que fueron evaluados el que presenta una mayor consistencia (probabilidad posterior = 0.48, Error tipo I = 0.49, Error tipo II = 0.26) entre los datos simulados y los reales es el modelo tres (Figura 2, Tabla 4). Este modelo corresponde al escenario en el cuál la invasión a América del Norte ocurrió a través de Puerto Rico e independientemente a través de la isla de Cuba.

El método de Paetkau *et al*. (2004) asigna que un individuo migrante de primera generación ($P<0.05$) de Nevis probablemente provino de Antigua. República Dominicana presentó un migrante de Puerto Rico. Las poblaciones de Santiago de Cuba y Trinidad

(Cuba) tienen cada una un individuo asignado de República Dominicana. De los dos individuos colectados en Lee (Florida), uno fue asignado a Pinar del Río y el otro a Las Highlands (Florida) (Figura 5). Cuando analizamos el valor más bajo de F_{ST} y más alto de probabilidad L_i para establecer la probable población fuente se encontró que la procedencia de Nevis, Puerto Rico, Jamaica y Santiago de Cuba es de Antigua, y que la de Trinidad y Las Highlands provienen de República Dominicana; mientras que Lee parece tener grandes similitudes con Trinidad (Cuba) (Tabla 5, Figura 5).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos indican que los marcadores utilizados en este estudio para la especie invasora *Cactoblastis cactorum* muestran variación genética suficiente para analizar su estructura genética poblacional e inferir posibles causas de la estructuración luego del proceso de invasión en la región del Caribe y Florida. Ante futuros eventos de invasión, el Instituto de Ecología de la UNAM cuenta con marcadores biológicos específicos para identificar las poblaciones fuentes de migrantes al territorio mexicano. Los análisis con ambos marcadores (mitocondrial y nucleares) sugieren que los patrones espaciales de tormentas tropicales y huracanes han jugado un papel importante en la dispersión del insecto en la región. La ruta de invasión más probable al continente a través de Florida corresponde con la hipótesis de que el tráfico comercial y los eventos naturales (huracanes) se han combinado moldeando la dispersión en la región invadida provocando al menos dos eventos independientes de invasión a la península de Florida y la presencia de haplotipos característicos del Golfo de México y otros de la costa atlántica de la península de Florida (Johnson and Stiling, 1998). Independientemente del tráfico comercial entre República Dominicana y Puerto Rico con Florida, la isla de Cuba resultó ser un corredor

importante durante la dispersión hacia Florida y México. De acuerdo a nuestros resultados la presencia de *C. cactorum* en la península de Yucatán (Isla Mujeres) es más probable que haya ocurrido por eventos naturales de dispersión que por el tráfico comercial o el turismo con las islas del Caribe. La similitud en la secuencia del gen mitocondrial entre la población de Pinar del Rio (Cuba) con la de Isla Mujeres (México) apoya la hipótesis de que la migración ocurrió desde Cuba por eventos naturales y/o tráfico turístico más que por tráfico comercial/turístico con Puerto Rico como se había propuesto anteriormente (Simonsen *et al*., 2008; Marsico *et al*., 2010).

En el pasado, se ha registrado el efecto de los huracanes en la biodiversidad, la dinámica de poblaciones y el funcionamiento de los ecosistemas (Chazdon, 2003), aunque sus consecuencias sobre la variación genética de las especies permanecen poco entendidas. Evidencia reciente ha comenzado a documentar el efecto de los huracanes en la estructura genética de las especies recopilando información sobre la variación genética antes y después de un huracán (Fleming and Murray, 2009; Apodaca *et al*., 2013). Estos estudios indicaron que en algunos casos los huracanes han reducido fuertemente la variación genética mientras que en otros promovieron la dispersión y un incremento en la diversidad genética. Aunque teóricamente las poblaciones en las islas presentan menor diversidad genética que aquellas del continente y estarían expuestas con mayor intensidad a los efectos de la deriva genética, el papel de los huracanes y su relación con los procesos evolutivos no se ha explorado en detalle. Nuestros resultados revelaron que los huracanes probablemente delinearon la estructura genética de la palomilla del nopal durante los últimos 60 años cuando comenzó la invasión en el Caribe. Si los huracanes afectan a las especies nativas también, estas expresarían patrones similares en la distribución de la variación genética a

las especies invasoras. Actualmente, nuestro estudio es el primero en documentar el rol de los huracanes en la dispersión de una especie invasora.

La evidencia obtenida para la palomilla del nopal refleja los riesgos de introducción de especies para el control biológico. En particular para el control de aquellas especies nativas que se vuelven invasoras por alteraciones humanas, como el caso de algunas especies de *Opuntia* en el Caribe. Si los huracanes tienen el potencial de promover la dispersión de algunas especies en la región intentos futuros de control biológico deberían considerar este agente natural de dispersión para evitar posibles efectos negativos. Por esta razón es imprescindible la coordinación regional de los planes de introducción de especies para el control biológico en el Caribe (Zimmermann and Pérez-Sandi 2006).

La distribución de la riqueza alélica indica que las poblaciones invadidas al inicio de la llegada del insecto al Caribe presentan mayor diversidad genética que aquellas colonizadas más recientemente. No todas las poblaciones se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg sugiriendo que algún(os) procesos evolutivo están operando sobre la distribución de la variación genética. La desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg observada en varias poblaciones sugiere que la deriva génica y/o la selección pudieron haber jugado un papel importante. Sin embargo, las islas donde la invasión se inició mantienen mayor diversidad genética a pesar de los posibles efectos de los huracanes a través de la deriva génica.

El análisis de aislamiento por distancia indica que la distancia geográfica no alcanza a explicar al menos una parte de la distribución de la variación genética en la región. Este resultado es consistente con los análisis previos y sugiere que otros factores ejercen mayor influencia en la migración mediada por distancia geográfica entre las islas. De acuerdo con nuestros análisis el efecto de los huracanes también apoya la ausencia de

un patrón de aislamiento por distancia. El análisis de la diferenciación entre pares de poblaciones indicó que las poblaciones de Antigua y Nevis donde la invasión se inició mantienen mayor similitud genética con el resto de las poblaciones independientemente de su distancia geográfica confirmando que el insecto fue introducido en estas islas inicialmente. Las poblaciones colonizadas más recientemente como Highlands (Florida) y Palisadores (Jamaica) presentaron mayor diferenciación promedio con el resto de las poblaciones en la región sugiriendo mayor aislamiento en los sitios colonizados más recientemente. De acuerdo con el patrón filogeográfico detectado no se observó que la diferenciación genética con microsatélites reflejara la presencia de dos grupos de poblaciones siguiendo las trayectorias de los huracanes como se observó con el marcador mitocondrial (COI), aunque el análisis de migrantes de primera generación apoya el patrón de migración este-oeste a través de Cuba. Por otra parte, los niveles de diferenciación de la población de Florida (Highlands) con las poblaciones de Puerto Rico (Guanica) y Rep. Dominicana (La Romana) sugieren que el tráfico comercial que fue considerado como el causante de la entrada del insecto al continente pudo haber tenido un efecto menor que el que se había considerado en el pasado. Por el contrario, el patrón de diferenciación sugiere que la población del continente se encuentra tan aislada del resto de las poblaciones como otras que en teoría no experimentaron los riesgos del tráfico comercial de cactáceas. Estos resultados apoyan nuestros resultados sobre la importancia de los huracanes y otros factores ambientales en los patrones de migración.

Conclusión

Si el tráfico comercial de cactáceas entre el Caribe y Estados Unidos no ha sido la única vía de dispersión de *C. cactorum*, las medidas de control y prevención de invasiones futuras en

la región deberían adecuarse ante el efecto de otros agentes (Zimmermann & Pérez-Sandi, 2006). El paralelismo observado entre los patrones históricos de los vientos, tormentas tropicales y huracanes con la distribución de la variación genética en el insecto sugieren que el riesgo de invasión tanto a Florida como a Yucatán es permanente. En particular, el tamaño y diversidad genética de las poblaciones de Cuba la convierten en un reservorio importante de variación y una fuente de migrantes potenciales hacia México y Estados Unidos. El monitoreo de las costas Mexicanas del Caribe y del Golfo, en los sitios con presencia de hospederos como las poblaciones de *O. dilleni* es una medida necesaria para garantizar la detección oportuna del insecto en el futuro. En particular, se recomienda el monitoreo de aquellas poblaciones que fueran impactadas por tormentas tropicales y huracanes durante un período suficiente para garantizar que el insecto no estableció poblaciones permanentes. Por otro lado, la escala espacial a la que los huracanes inciden en la región indica que los planes de control y prevención de futuros eventos de invasión deberían realizarse a esta escala más que a nivel de país. Dado que los insectos son ectotermos, y altamente sensibles a los cambios en la temperatura y los patrones de precipitación, es razonable suponer que el cambio climático en la región del Caribe afectará los patrones de dispersión. En particular, si la variación espacial y temporal en la incidencia de huracanes se incrementará en la región, la dispersión del insecto se verá favorecida incrementando los riesgos de invasión a México y Estados Unidos.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el proyecto JE002 CONABIO a JF. La ayuda de Maikel Cañizares y Jaqueline Pérez-Camacho en la colecta de larvas en Cuba fue invaluable para

lograr los objetivos del proyecto. Margarita Lozada y Yayo, ayudaron en la colecta en la provincia de Santiago de Cuba. Sofía Ochoa colaboró en la colecta en Jamaica.

Bibliografia

Apodaca JJ, Trexler JC, Jue NK, Schrader M, Travis J (2013) Large-scale natural disturbance alters genetic population structure of the Sailfin Molly, *Poecilia latipinna*. Am Nat 181**:**254–263.

Avise JC (2000) Phylogeography. The history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge.

Bloem K. (2003) Overview of the cactus moth problem. Cactus moth (*Cactoblastis cactorum*) planning meeting, 9-10 December 2003, Miami, FL. USDA-APHIS-PPQ. (http://www.invasivespeciesinfo.gov/docs/news/cactoblastis.pdf).

Caterino MS, Sperling FAH (1999) *Papilio* phylogeny based on mitochondrial cytochrome oxidase I and II genes. Molecular Phylogenetics and Evolution 11: 122–137.

Chazdon RL (2003) Tropical forest recovery: legacies of human intervention and natural disturbances. Perspect Plant Ecol Evol Syst 6:51-71.

Ciosi M, Miller NJ, Kim KS, Giordano R, Estoup A, Guillemaud T (2008) Invasion of Europe by the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera*: multiple transatlantic introductions with various reductions of genetic diversity. Mol Ecol 17: 3614-3627.

Clement M, Posada D, Crandall KA (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. Mol Ecol 9:1657–1659.

Cornuet J-M, Santos F, Beaumont MA, Robert CP, Marin J-M, Balding DJ, Guillemaud T, Estoup A (2008) Inferring population history with DIYABC: a user-friendly approach to approximate Bayesian computiation. Bioinformatics 24: 2713-2719.

Dickle TS (1991) *Cactoblastis cactorum* in Florida (Lepidoptera: Pyralidae: Phycitinae). Trop. Lep. 2: 117-118.

Dodd, AP (1940) The biological campaign against prickly pear. Commonwealth Prickly Pear Board. Brisbane, Australia.

Dyer RJ (2009) Genetic Studio: a suite of programs for spatial analysis of genetic-marker data. Mol Ecol Resources 9:110–113.

Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online 1:47-50.

Fleming TH, Murray KL (2009) Population and Genetic Consequences of Hurricanes for Three Species of West Indian Phyllostomid Bats. Biotropica 41: 250-256.

Foxcroft LC, Hoffmann JH, Viljoen JJ, Kotze JJ (2007) Factors influencing the distribution of *Cactoblastis cactorum*, a biological control agent of *Opuntia stricta* in Kruger National Park, South Africa. S. Afr. J. Bot. 73: 113-117.

Guillemaud T, Beaumont MA, Ciosi M, Cornuet J-M, Estoup A (2010) Inferring introduction routes of invasive species using approximate Bayesian computation on microsatellite data. Heredity 104: 88-99.

Habeck DH, Bennet FD (1990) *Cactoblastis cactorum* Berg (Lepidoptera: Pyralidae), a Phycitine New to Florida. Entomol. Circular 333:1-4.

Habeck DH, Bennett FD (2002) *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae). Featured Creatures: University of Florida Institute of Food and Agriculture Science.

Heppner JB (2000) Tropical cactus borer, *Cactoblastis cactorum*, intercepted in west Florida (Lepidoptera: Pyralidae: Phycitinae). Lepidoptera News 3: 20-22.

Johnson DM, Stiling PD (1998) Distribution and Dispersal of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae), an Exotic Opuntia-Feeding Moth. Florida Entomologist 81: 12-22.

Lugo AE, Rogers CS, Nixon SW (2000) Hurricanes, Coral Reefs and Rainforests: Resistance, Ruin and Recovery in the Caribbean. AMBIO: A Journal of the Human Environment 29: 106-114.

Marsico TD, Wallace LE, Ervin GN, Brooks CP, McClure JE, Welch ME (2010) Geographic patterns of genetic diversity from the native range of *Cactoblastis cactorum* (Berg) support the documented history of invasion and multiple introductions for invasive populations. Biol Invasions 13: 857-868.

Mata-Cuellar F., López-Vázquez V. H. & Galindo M. G. 2011. Análisis espacial en la vigilancia epidemiológica de *Cactoblastis cactorum* (Berg) en México. Consultado 13 de octubre de 2011, en www.selper-mexico.org.mx/XT%20PDF/EPIDEMIOLOGIA/EPIDEM-02.pdf

McLean SC, Bloem KA, Bloem S, Hight SD, Carpenter JE (2006) Effect of temperatures and length of exposure time on percent egg hatch of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae). Florida Entomol. 89: 340-347.

Paetkau D, Slade R, Burden M, Estoup A (2004) Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation-based exploration of accuracy and power. Mol Ecol 13: 55-65.

Pascual M, Chapuis MP, Mestres F, Balanya J, Huey RB, Gilchcrist W, Serra K, Estoup A (2007) Introduction history of *Drosophila subobscura* in the New World: a microsatellite-based survey using ABC methods. Mol Ecol 16: 3069-3083.

Pemberton RW (1995) *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) in the United States. An immigrant biological control agent or an introduction of the nursery industry? Am Entomol 41:230-232.

Pettey FW (1948) The biological control of prickly pear in South Africa. Sci. Bull., Dept. of Agric. of the Union of South Africa 271: 1-163.

Piry S, Alapetite A, Cornuet J-M, Paetkau D, Baudouin L, Estoup A (2004) GENECLASS2: A software for genetic assignment and first-generation migrant detection. J. Heredity 95: 536-539.

Raghu S, Walton C (2007) Understanding the ghost of Cactoblastis past: Historical clarification on a poster child of classical biological control. Bioscience 57: 699-705.

Rozas J, Sánchez-DelBarrio JC, Messeguer X, Rozas R (2003) DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. Bioinformatics 19:2496-2497.

SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2009a. Acuerdo mediante el cual se declara erradicado el brote de palomilla

del nopal (*Cactoblastis cactorum* Berg) en Isla Mujeres, Municipio de Isla Mujeres, Estado de Quintana Roo. Diario Oficial de la Federación. Consultada 5 de mayo de 2012, en http://senasica.gob.mx/default.asp?doc=11368

SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2009b. Acuerdo mediante el cual se declara erradicado el brote de palomilla del nopal (*Cactoblastis cactorum* Berg) en Isla Contoy, Municipio de Isla Mujeres, Estado de Quintana Roo. Diario Oficial de la Federación. Consultada 5 de mayo de 2012, en http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5114029&fecha=12/10/2009

Simon C, Frati F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P (1994) Evolution, Weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. Annals of the Entomological Society of America 87: 651-701.

Simonsen TJ, Brown RL, Sperling FAH (2008) Tracing an invasion: phylogeography of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) in the United States based on mitochondrial DNA. Ann Entomol Soc Am 101:899-905.

Simonson SE, Stohlgren TJ, Tyler L, Gregg WP, Muir R, Garrett LJ (2005) Preliminary assessment of the potential impacts and risk of the invasive cactus moth, *Cactoblastis cactorum* Berg, in the US and Mexico. Final Report to the International Atomic Energy Agency.

SINAVEF. 2011. Palomilla del nopal *Cactoblastis cactorum*. Boletín Fitosanitario 005, Septiembre Consultada 9 de mayo de 2012, en http://portal.sinavef.gob.mx/documentos/BoletinPalomilla/REPA_PALOMILLA_005.pdf

Slatkin M (1994). Gene flow and population structure. En: *Ecological Genetics* (ed Real LA). Pp. 3-18. Princeton University Press.

Soberón J, Goluvob J, Sarukán J (2001) The importance of Opuntia in Mexico and routes of invasion and impact of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae). *Florida Entomologist* 84: 486-492.

Stiling P (2002) Potential non-target effects of a biological control agent, prickly pear moth, *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Lepidoptera: Pyralidae), in North America, and possible management actions. Biol. Invavions 4: 273-281.

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher, Nei M, Kumar S (2011) MEGA5: Molecular evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. Mol Biol Evol 28:2731–2739.

Weir BS, Cockerman CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution 38: 1358-1370.

Wright S (1922) Coefficients of inbreeding and relationship. Am Nat 56: 336-338.

Workman DL, Niswander JD (1970) Population studies on southwestern Indian tribes II. Local differentiation in the Papago. Am. J. Hum. Genet. 22:24-49.

Zimmermann HG, Pérez M, Goluvob J, Soberón J, Sarukán J (2000) *Cactoblastis cactorum*, una nueva plaga de muy alto riesgo para las Opuntias de México. Biodiversitas 6:1-14.

Zimmermann H G, Pérez-Sandi M (2006) The consequences of introducing the cactus moth *Cactoblastis cactorum* to the Caribbean and beyond.

Zimmermann HG, Bloem S, Klein H. (2007) *Cactoblastis cactorum*. The Biology, history, threat, surveillance and control of the cactus moth. FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture.

Tabla 1. Lista de poblaciones invadidas por *Cactoblastis cactorum* muestreadas en el Caribe y Florida (Estados Unidos).

Poblaciones invadidas	**País**	**# Individuos**
1.- Antigua	Antigua	15
2.- Nevis	Nevis	6
3.- Higlands	Estados Unidos	15
4.- Palisadores	Jamaica	14
5.- Pinar del Rio	Cuba	30
6.- Santiago de Cuba	Cuba	29
7.- Trinidad	Cuba	30
8.- Guanica	Puerto Rico	24
9.- La Romana	Rep. Dominicana	20

Tabla 2. Promedio de alelos, riqueza alélica, diversidad genética para 14 microsatelites en 10 localidades de *Catoblastis cactorum* en el Caribe y Florida.

	Antigua	**Nevis**	**Puerto Rico**	**La Romana**	**Palisadores**	**Santiago**	**Trinidad**	**Pinar**	**Highland**	**Lee**	**Total**
N	16	7	25	19	14	29	30	30	15	2	
Número de alelos	3.286	2.929	2.5	3.5	2.214	3.071	3.357	2.857	2.929	1.643	6.143
Riqueza alélica	1.439	1.505	1.327	1.475	1.251	1.415	1.412	1.391	1.428	1.333	1.488
Diversidad genética	0.445	0.524	0.329	0.481	0.254	0.417	0.413	0.392	0.432	0.393	

Tabla 3. Diferenciación genética entre pares de poblaciones (F_{ST}) de la palomilla del nopal *Cactoblastis cactorum* en la región del Caribe y Florida.

	Ayui	**Yuqueri**	**Antigua**	**Nevis**	**Puerto Rico**	**La Romana**	**Palisadores**	**Santiago**	**Trinidad**	**Pinar**	**Highland**
Ayui											
Yuqueri	0.139										
Antigua	0.167	0.169									
Nevis	0.148	0.147	0.043								
PuertoRico	0.267	0.298	0.248	0.208							
La Romana	0.139	0.160	0.050	0.072	0.158						
Palisadores	0.415	0.390	0.251	0.287	0.469	0.274					
Santiago	0.249	0.249	0.087	0.062	0.250	0.100	0.214				
Trinidad	0.193	0.212	0.123	0.090	0.247	0.091	0.318	0.100			
Pinar	0.304	0.304	0.224	0.125	0.376	0.233	0.299	0.140	0.181		
Highland	0.188	0.225	0.181	0.157	0.288	0.126	0.406	0.202	0.191	0.262	
Lee	0.160	0.190	0.111	0.110	0.369	0.049	0.417	0.115	0.103	0.197	0.113

Tabla 4. Valores mínimos y máximos de los parámetros que se utilizaron en la construcción del modelo ABC para el análisis de las posibles rutas de invasión de la palomilla del nopal, *Cactoblastic cactorum* a la península de Florida.

Parámetros	**Mínimo**	**Máximo**	**Distribución**
N1, N2, N3, N4, N5, Ng	10	3000	Uniforme
Db1, db2, db3,db4,db5,dbg	1	10	Log-Uniforme
N1b, N2b, N3b, N4b, N5b, Ngb	2	200	Uniforme
T1	100	500	Uniforme
T2	52	52	Uniforme
T3	32	37	Uniforme
T4	22	27	Uniforme
T5	40	50	Uniforme
Tg	86	86	Uniforme
r	0.1	0.9	

Tabla 5. Resultados del análisis de migrantes de primera generación para la palomilla del nopal, *Cactoblastis cactorum*, en la región del Caribe y Florida. El triángulo inferior de la tabla corresponde con la dirección esperada de dispersión de acuerdo con los registros de presencia de la palomilla en las islas y el continente.

	Ayuí	**Yuquerí**	**Antigua**	**Nevis**	**Puerto Rico**	**La Romana**	**Palisadores**	**Santiago**	**Trinidad**	**Pinar**	**Highland**	**Lee**
Ayui		13.062	13.685	15.697	16.285	12.681	22.778	16.833	14.389	16.646	15.005	17.864
Yuquerí	15.689		15.894	16.626	19.922	15.725	24.007	18.391	16.681	18.878	17.54	21.714
Antigua	12.337	12.766		9.786	14.286	9.173	15.012	9.913	10.34	10.547	11.622	15.846
Nevis	14.146	13.808	11.042		14.685	11.339	16.314	11.397	12.094	12.093	13.18	17.531
Puerto Rico	11.387	13.629	10.006	11.286		7.691	15.899	9.739	9.804	12.57	9.214	14.994
La Romana	13.472	14.436	10.865	12.723	13.658		18.102	11.518	11.432	13.538	12.33	17.022
Palisadores	18.023	17.238	10.092	12.395	17.135	11.475		8.957	10.042	10.071	11.584	14.862
Santiago	14.247	13.998	8.46	9.944	13.052	8.569	12.75		8.124	9.201	10.175	14.713
Trinidad	12.31	12.373	9.228	11.3	12.868	8.434	14.944	8.248		9.377	9.805	12.179
Pinar	15.93	14.682	10.052	10.758	16.377	10.142	12.77	8.851	8.735		11.843	12.458
Highland	13.49	13.245	10.115	11.918	12.927	9.323	15.392	10.274	9.952	10.915		11.82
Lee	13.218	14.263	10.262	12.912	16.174	10.051	15.032	9.895	9.314	9.766	9.441	

Figura 1. Sitios y fechas de detección de la palomilla del nopal, *Cactoblastis cactorum* en el Caribe, México y Florida.

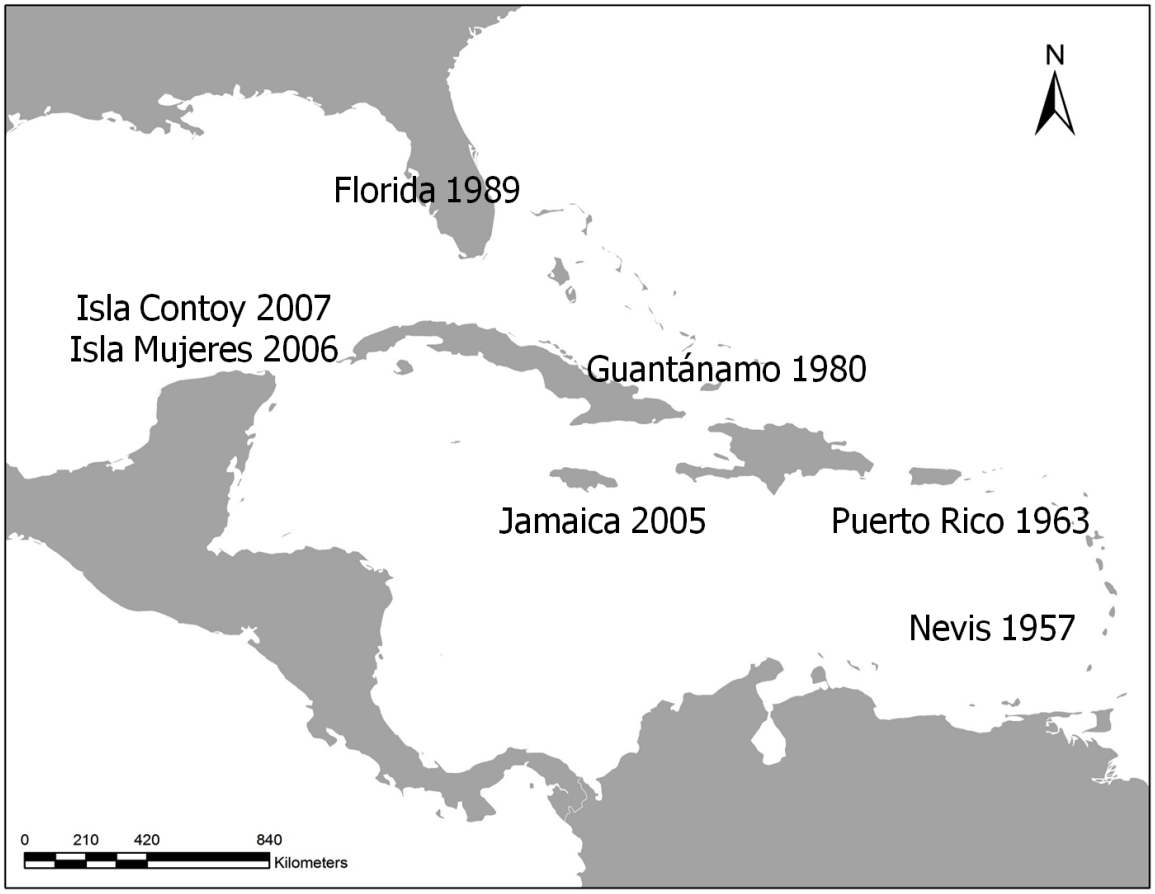

Figura 2. Rutas de invasión hipotéticas examinadas con el modelo ABC. Cada escenario corresponde con diferentes hipótesis sobre la trayectoria de la invasión hacia la península de Florida. El escenario 1 considera que la palomilla llego a Estados Unidos a través de la isla de Cuba. El escenario 2 considera que la palomilla llegó a Estados Unidos desde Rep. Dominicana como se ha propuesto de acuerdo con la evidencia existente sobre el tráfico comercial entre ambas naciones. El escenario 3 propone que la invasión al continente ocurrió por la dispersión desde Rep. Dominicana y por Cuba simultáneamente.

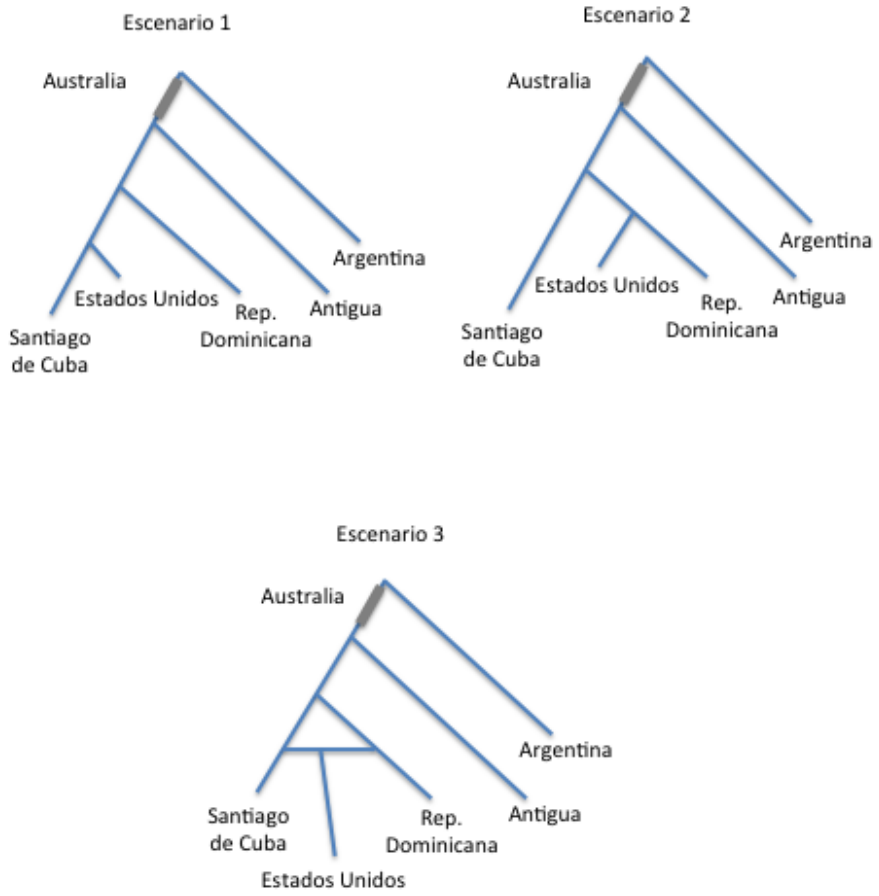

Figura 3. Resultados del análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA). Los gráficos de pastel indican las frecuencias de los haplotipos en cada una de las poblaciones colectadas. Los colores indican los diferentes haplotipos detectados. Las líneas punteadas indican los grupos de poblaciones detectados en el análisis. El mapa ubicado a la izquierda indica el patrón espacial histórico de incidencia de huracanes en la región de acuerdo con datos del período 1871-1986 según Lugo et al. 2000. Los tonos de gris representan la probabilidad de incidencia de huracanes en diferentes zonas de la región revelando que estos se concentran principalmente en dos regiones que acompañan los patrones de vientos y tormentas tropicales: Golfo de México y Caribe al noreste de la península de Yucatán, y norte del Caribe y al este de la península de Florida.

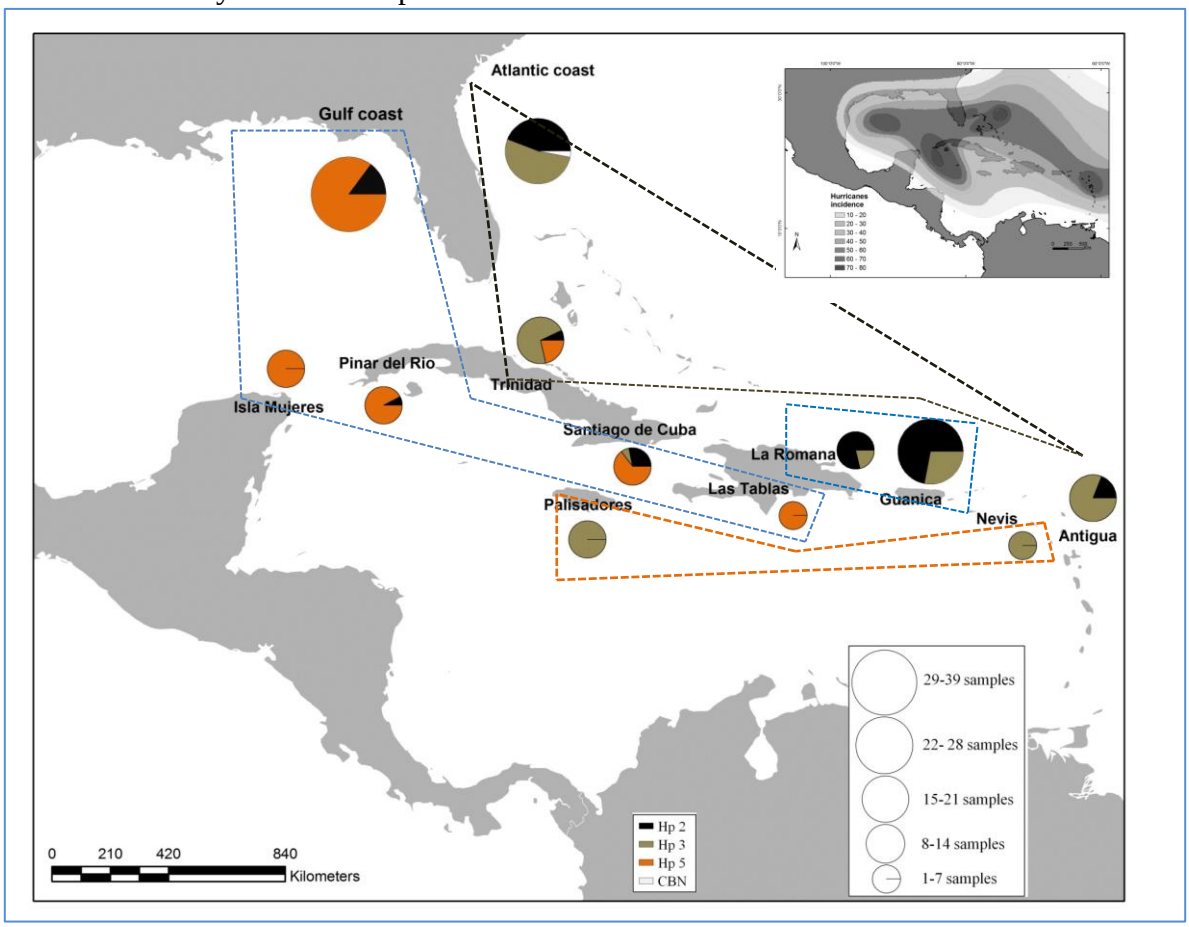

Figura 4. Resultados del análisis realizado con el programa STRUCTURE para identificar poblaciones genéticamente similares dentro de la muestra de poblaciones utilizada en este estudio. El color rojo y verde corresponde a los dos grupos de genotipos identificados.

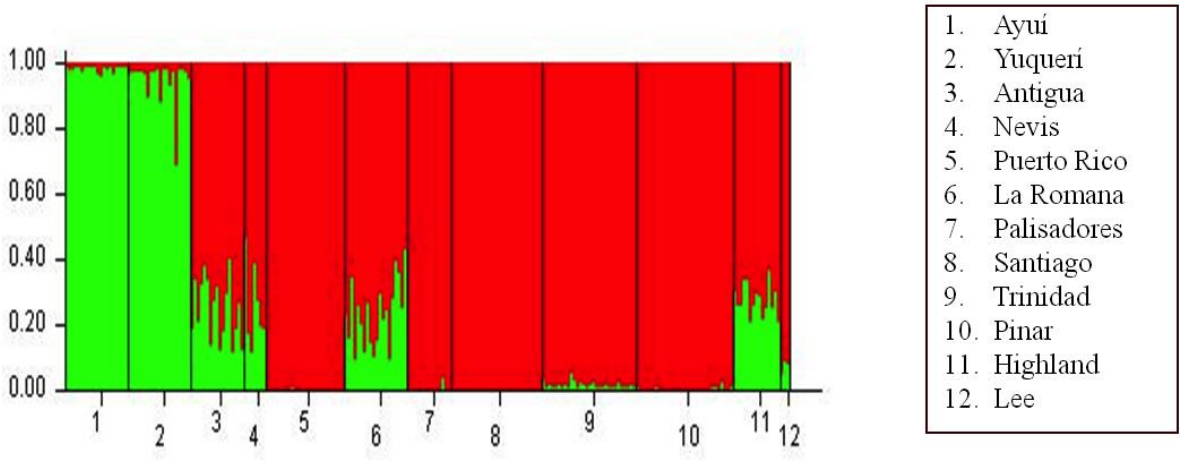
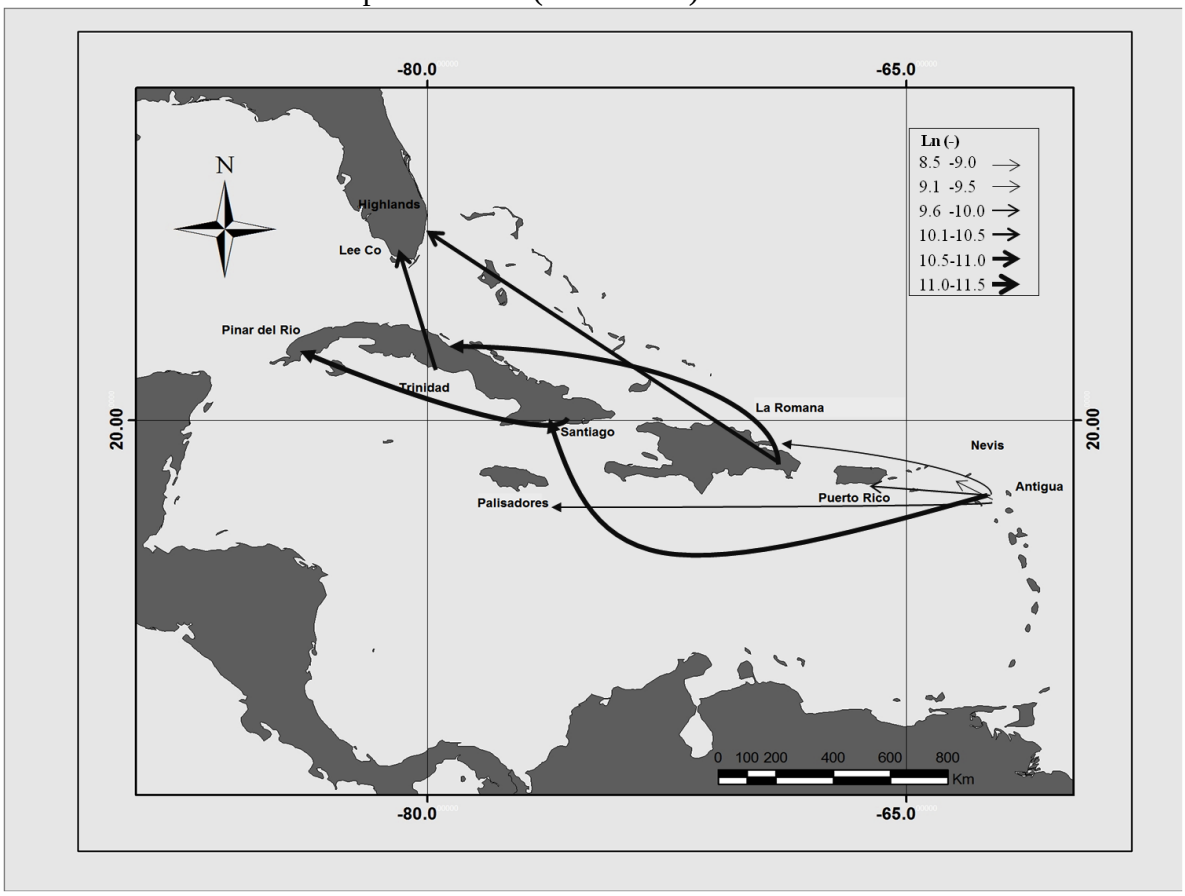
Figura 5. Dirección e intensidad de migración entre las diferentes islas del caribe y Florida de acuerdo con la probabilidad multilocus de asignar un individuo i de las poblaciones invadidas a una de las poblaciones fuentes expresada como [-10Log(L_i)]. El grosor de las flechas indica el valor de la probabilidad (ver Tabla 5).