



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS
DOCTORADO EN SISTEMÁTICA Y BIODIVERSIDAD

**Delimitación de una especie nueva de Geometridae (Lepidoptera) del
desierto de Atacama y evaluación de los efectos del paisaje sobre sus
patrones y procesos microevolutivos**

Tesis para optar al grado académico de Doctor en Sistemática y Biodiversidad

POR: Marcelo Vargas Ortiz

Profesor Guía: Dr. Luis Parra Jiménez

Profesor Co-Guía: Dr. Daniel Gómez-Uchida

Mayo 2026

Concepción, Chile

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

DEDICATORIA

A Emilia Vargas, mi hija amada y motor de mi continuidad.

AGRADECIMIENTOS

A las fuentes de financiamiento que hicieron posible este trabajo:

1. Beca Doctorado Nacional ANID 2018.
2. Proyecto VRID 220.113.098-INV, Universidad de Concepción.
3. Financiamiento personal.

A mis profesores guía de tesis, Dr. Luis Parra Jiménez y Dr. Daniel Gómez-Uchida, por sus críticas y apoyo durante el desarrollo de este trabajo.

A la Dirección del Programa de Doctorado en Sistemática y Biodiversidad.

A mis queridos compañeros y amigos del programa de Doctorado en Sistemática y Biodiversidad, por todos estos años de apoyo, especialmente a Cynthia Vásquez y Claudia Hurtado.

TABLA DE CONTENIDO

Dedicatoria.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
TABLA DE CONTENIDOS.....	v
INDICE DE FIGURAS.....	vii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	xi
INTRODUCCION.....	1
<u>CAPITULO 1: <i>Physocleora polyphaga</i> sp.nov Vargas-Ortiz & Parra (Lepidoptera: Geometridae), polilla polífaga del Desierto de Atacama: Sistemática e historia natural.....</u>	4
Marco teórico.....	4
Objetivos.....	7
Hipótesis.....	7
Metodología.....	8
Resultados.....	12
Discusión.....	20
Conclusiones.....	21
Bibliografía.....	59
<u>CAPITULO 2: Patrones y procesos microevolutivos de <i>Physocleora polyphaga</i> Vargas-Ortiz & Parra (Lepidoptera: Geometridae) en el Desierto de Atacama del norte de Chile.</u>	
Marco teórico.....	22
Problema de investigación.....	28
Modelo de estudio.....	28
Objetivos.....	31
Hipótesis.....	32
Metodología.....	33

Resultados.....	38
Discusión.....	47
Conclusiones.....	53
Bibliografía.....	62
DISCUSION GENERAL.....	54
ANEXO. Publicación de capítulo 1 y material suplementario.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPITULO 1: *Physocleora polyphaga* sp.nov Vargas-Ortiz & Parra (Lepidoptera: Geometridae), polilla polífaga del Desierto de Atacama: Sistemática e historia natural.

Fig. 1. Estados de desarrollo de <i>Physocleora polyphaga</i> sp. nov.....	13
Fig. 2. Caracteres morfológicos de genitalias.....	14
Fig. 3. Distribución geográfica y red de haplotipos.....	16
Fig. 4. Matriz de distancias genéticas entre haplotipos.....	16
Fig. 5. Árbol filogenético.....	18
Fig. 6. Resultado de análisis bGMYC.....	19

CAPITULO 2: Patrones y procesos microevolutivos de *Physocleora polyphaga* Vargas-Ortiz & Parra (Lepidoptera: Geometridae) en el Desierto de Atacama del norte de Chile.

Fig. 1. Área de estudio.....	33
Fig. 2. Aspectos de historia natural de <i>Physocleora polyphaga</i>	37
Fig. 3. Resultados obtenidos en Adegnet. Valores BIC versus número de clusters genéticos (A) y visualización de DAPC (B).....	39
Fig. 4. Resultados obtenidos en LEA. Valores en entropía versus número de poblaciones (A) y visualización de matriz Q (B).....	39
Fig. 5. Resultados de PopCluster. Gráfico de DLK2 y FSTIS versus número de K poblaciones (A). Probabilidades de asignación individual para cada K cluster, en matriz Q (B).....	40
Fig. 6. Resultados obtenidos en Tess3R. Representación de validación para número de poblaciones ancestrales (A). Matriz de ancestría con proporciones de asignación para cada individuo (B) y representación de distribución geográfica de tres poblaciones (C): Lluta (verde), Azapa (amarillo), precordillera (rojo).....	41
Fig. 7. Resultados de Geneland. A) Densidad de probabilidades de clusters, B) mapa de distribución geográfica de poblaciones, C) Diagrama con valores Fis (dentro de círculo) y Fst entre poblaciones (azul=Lluta, rojo=precordillera, verde=Azapa), D-F) Mapas de distribución de probabilidades posteriores para las tres poblaciones (color rojo indica poblaciones).....	42

Fig. 8. Distancias genéticas entre localidades.....	43
Fig. 9. Valores Fst entre localidades.....	44
Fig. 10. Análisis de aislamiento por distancia geográfica. Eje X representa distancia geográfica lineal (metros), eje Y representa distancia genética (izquierda) y Fst (derecha) entre localidades de muestreo.....	45
Fig. 11. Análisis de aislamiento por ruta del menor costo. Eje X representa distancia geográfica (km) y eje Y representa distancia genética.....	45
Fig. 12. Resultado obtenido en Migrate-N. Tamaños poblacionales (Θ) de cada población (círculos) y tasas migratorias históricas entre ellas (flechas). Azapa (verde), Lluta (azul) y precordillera (rojo).....	46
Fig. 13. Representación de patrón de estructura poblacional propuesto de acuerdo con resultados. Tres poblaciones: Lluta (azul), Azapa (verde) y precordillera (rojo). Discontinuidades indicadas en color amarillo: zona costera (triángulo) y zona precordillerana (línea discontinua). Flujo génico histórico representado por flechas, tamaño acorde a magnitud.....	52

RESUMEN

Las zonas ribereñas del Desierto de Atacama y las áreas adyacentes de la Cordillera de los Andes albergan una diversidad de especies y poblaciones únicas de insectos que han sido pobremente descritas. En estos ecosistemas hiperáridos, la extrema escasez de agua, la distribución espacial parcheada de los recursos y la presencia de barreras geográficas generan condiciones que pueden influir profundamente en la dispersión, el flujo génico y los procesos microevolutivos de las poblaciones. Esta dinámica del paisaje desértico constituye un contexto clave para comprender la sistemática y genética de poblaciones de los insectos que lo habitan.

En esta investigación doctoral se presenta un estudio de la sistemática y genómica poblacional de *Physocleora polyphaga* Vargas-Ortiz & Parra sp. nov., una especie polífaga de la familia Geometridae estrechamente asociada a plantas nativas, distribuida en valles costeros y laderas andinas del extremo norte de Chile.

En el Capítulo 1, se propone una nueva especie del género *Physocleora* Warren, 1897, a través de la descripción de características morfológicas diagnósticas, algunos aspectos ecológicos relevantes y una reconstrucción de la historia evolutiva de la especie dentro del género *Physocleora* Warren, 1897, basada en secuencias del marcador molecular COI (DNA barcode). Para validar la hipótesis de conespecificidad entre los especímenes analizados, se emplearon métodos de delimitación de especies basados en distancias genéticas y análisis filogenéticos.

En el Capítulo 2, se realizó un estudio microevolutivo con el objetivo de explorar la genómica poblacional de esta especie recientemente descrita, así como responder preguntas relacionadas con la distribución geográfica de su diversidad genómica y patrones de selección en dos valles costeros del Desierto de Atacama y una zona de la precordillera. Para ello, se emplearon polimorfismos de nucleótido simple (SNPs), analizados mediante diversos enfoques bioestadísticos. Los análisis genómicos revelaron ausencia de señales de selección que pudieran influenciar la divergencia entre poblaciones. Los resultados evidenciaron un patrón de aislamiento asociado a barreras geográficas entre las tres poblaciones estudiadas, descartando simultáneamente patrones de aislamiento por distancia geográfica y rutas de menor costo. Asimismo, los análisis evidenciaron una leve diferenciación genética entre las poblaciones, lo que sugiere un proceso reciente de divergencia poblacional. En conjunto, la comparación entre marcadores mitocondriales (COI) y nucleares (SNPs) reveló una concordancia parcial entre ambos capítulos, sugiriendo que estos marcadores capturan procesos evolutivos que operan a distintas escalas temporales y espaciales, posiblemente asociados a la inestabilidad de los ecosistemas de valles costeros y a patrones de dispersión diferencial entre sexos. Estos resultados resaltan que el paisaje del Desierto de Atacama y el área adyacente de precordillera—caracterizados por parches de vegetación aislados y barreras geográficas pronunciadas—pueden moldear procesos microevolutivos en insectos nativos, aportando un marco para futuras investigaciones en sistemática, biogeografía y genómica en ecosistemas áridos.

ABSTRACT

The riparian zones of the Atacama Desert and adjacent areas of the Andes foothills harbor a diversity of unique insect species and populations that remain poorly described. In these hyperarid ecosystems, extreme water scarcity, the patchy spatial distribution of resources, and the presence of geographic barriers create conditions that can profoundly influence dispersal, gene flow, and microevolutionary processes in populations. This desert landscape dynamic provides a key context for understanding the systematics and population genetics of the insects inhabiting it.

This doctoral research presents a study on the systematics and population genomics of *Physocleora polyphaga* Vargas-Ortiz & Parra sp. nov., a polyphagous species of the family Geometridae closely associated with native plants, distributed across coastal valleys and Andean slopes in northern Chile.

In Chapter 1, a new species of the genus *Physocleora* Warren, 1897, is proposed through the description of diagnostic morphological characteristics, some relevant ecological aspects, and a reconstruction of the species' evolutionary history within the genus *Physocleora* Warren, 1897, based on COI molecular marker sequences (DNA barcode). To validate the hypothesis of conspecificity among the analyzed specimens, species delimitation methods based on genetic distances and phylogenetic analyses were employed.

In Chapter 2, a microevolutionary study was conducted to explore the population genomics of this recently described species and to answer questions related to the geographic distribution of its genomic diversity and selection patterns in two coastal

valleys of the Atacama Desert and a pre-Andean zone. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) were analyzed using various biostatistical approaches. Genomic analyses revealed an absence of selection signals that could influence divergence among populations. The results showed an isolation pattern associated with geographic barriers among the three studied populations, while simultaneously ruling out isolation patterns based on geographic distance and least-cost routes. Furthermore, the analyses revealed slight genetic differentiation among the populations, suggesting a recent population divergence process. Overall, the comparison between mitochondrial (COI) and nuclear (SNP) markers revealed partial agreement between the two chapters, suggesting that these markers capture evolutionary processes operating at different temporal and spatial scales, possibly associated with the instability of coastal valley ecosystems and differential dispersal patterns between sexes. These results highlight that the Atacama Desert landscape and the adjacent pre-Andean area—characterized by isolated vegetation patches and pronounced geographical barriers—can shape microevolutionary processes in native insects, providing a framework for future research in systematics, biogeography, and genomics in arid ecosystems.

INTRODUCCION

Las zonas áridas y semiáridas representan algunos de los sistemas naturales más extremos del planeta, donde las condiciones de temperatura, disponibilidad hídrica y productividad primaria imponen fuertes restricciones ecológicas sobre los organismos que las habitan. Sin embargo, lejos de constituir ambientes biológicamente pobres, estos ecosistemas albergan una biodiversidad altamente especializada, caracterizada por adaptaciones que permiten la persistencia de múltiples linajes bajo condiciones ambientales extremas. En este contexto, el Desierto de Atacama constituye uno de los sistemas áridos más singulares del mundo debido a su extrema aridez, antigüedad y marcada heterogeneidad espacial.

En el norte de Chile, los valles costeros y ambientes precordilleranos asociados al Desierto de Atacama constituyen ecosistemas donde la disponibilidad de vegetación y humedad permite el establecimiento de comunidades biológicas relativamente diversas. Estos sistemas han sido reconocidos como escenarios relevantes para el estudio de procesos de diversificación, conectividad poblacional y adaptación local, particularmente en organismos con capacidades de dispersión limitadas o estrecha dependencia de plantas hospederas. A pesar de ello, gran parte de la biodiversidad de insectos presente en estos ambientes permanece insuficientemente documentada, especialmente en grupos hiperdiversos como Lepidoptera.

Dentro de Lepidoptera, la familia Geometridae constituye uno de los linajes más diversos, con miles de especies distribuidas mundialmente y una amplia variedad

de asociaciones tróficas con plantas hospederas. Diversos estudios han demostrado que los geométridos representan un grupo particularmente útil para investigar patrones de diversificación, biogeografía y estructura genética poblacional. Sin embargo, en Sudamérica y particularmente en Chile, el conocimiento taxonómico y evolutivo de este grupo continúa siendo limitado, con numerosos taxa aún no descritos y escasa información sobre su historia evolutiva, distribución y relaciones ecológicas.

El género *Physocleora* Warren, 1897 constituye un ejemplo representativo de este déficit de conocimiento. Aunque el género presenta una amplia distribución en América, la información disponible sobre sus especies es escasa y se concentra en descripciones taxonómicas tradicionales. En Chile, los antecedentes sobre *Physocleora* son prácticamente inexistentes, y no se dispone de estudios que integren evidencia morfológica, molecular y ecológica para evaluar su diversidad y relaciones evolutivas. En este contexto, *Physocleora polyphaga* Vargas-Ortiz & Parra sp. nov. corresponde a la primera especie del género descrita para Chile.

En las últimas décadas, la incorporación de herramientas moleculares ha transformado significativamente los estudios taxonómicos y evolutivos en insectos. El uso de secuencias mitocondriales, particularmente la región barcode del gen citocromo oxidasa subunidad I (COI), ha permitido mejorar la delimitación de especies mediante enfoques de DNA barcode, mientras que los marcadores genómicos de tipo SNP (Single Nucleotide Polymorphism) han ampliado la capacidad de detectar patrones finos de estructura genética y flujo génico entre poblaciones. La integración de ambos tipos de marcadores permite evaluar

procesos evolutivos que operan a distintas escalas temporales y espaciales, proporcionando una aproximación más robusta para el estudio de la diversificación y dinámica poblacional en organismos no modelo.

En este contexto, la presente tesis aborda la delimitación taxonómica y la historia microevolutiva de una nueva especie de Geometridae, *Physocleora polyphaga* Vargas-Ortiz & Parra sp. nov., distribuida en valles costeros y sectores precordilleranos del extremo norte de Chile. El objetivo principal de este trabajo es describir formalmente la especie de acuerdo con el Código Internacional de Nomenclatura Zoológica, caracterizar aspectos morfológicos y ecológicos, e investigar patrones de diversidad genética y estructura poblacional en distintas localidades del Desierto de Atacama - Puna. Para ello, se integran herramientas de taxonomía tradicional y análisis filogenéticos basados en secuencias del marcador COI, junto con herramientas genómicas basadas en SNPs, permitiendo evaluar procesos evolutivos a distintas escalas temporales y espaciales.

Este estudio no solo contribuye al conocimiento de la diversidad de Geometridae en Chile —incluyendo la primera especie descrita del género *Physocleora* para el país— sino que también aporta información relevante sobre procesos de diversificación, conectividad genética y estructuración poblacional en ambientes áridos dinámicos. La tesis se organiza en dos capítulos: el primero está dedicado a la delimitación taxonómica de la nueva especie, mientras que el segundo aborda su historia microevolutiva mediante herramientas genómicas. Cabe destacar que el primer capítulo fue publicado en la revista *Neotropical Entomology*.

Capítulo 1: *Physocleora polyphaga* sp.nov Vargas-Ortiz & Parra (Lepidoptera: Geometridae), polilla polífaga del Desierto de Atacama: Sistemática e historia natural.

MARCO TEORICO

Geometridae es una de las tres familias más diversas dentro de Lepidoptera, con cerca de 23.000 especies descritas (van Nieukerken et al., 2011), de las cuales la mitad pertenece a la subfamilia Ennominae (Pitkin, 2002). La riqueza de especies de los Ennominae neotropicales representa un tercio de las especies de la subfamilia (Pitkin, 2002), y se ha sugerido que consiste, en parte, en un proceso de radiación adaptativa cuyo efecto incluye la presencia de tres géneros estrechamente relacionados de Boarmiini: *Iridopsis* Warren, 1894, *Physocleora* Warren 1897, y *Glena* Hulst, 1896 (Brehm et al., 2019).

La distribución geográfica de estos tres géneros es principalmente neotropical, estando presentes a través de varias provincias biogeográficas; sin embargo, *Glena* e *Iridopsis* también están presentes en el Neártico (e.g. Murillo-Ramos et al., 2021; Pitkin, 2002; Rajaei et al., 2022). A pesar de esta amplia distribución, pocas especies han sido descritas del Desierto de Atacama, siendo los géneros *Iridopsis* y *Glena* los únicos representados en esta región (e.g. Vargas, 2007, 2010), pero no *Physocleora*.

Physocleora es un género cuya distribución geográfica se limita a la región neotropical y ha sido registrado en varios países de Centro y Sudamérica, desde el sur de México en el norte hasta el norte de Argentina (Pitkin, 2002; Rajaei et al.

2022; Ratnasingham et al., 2024). Sin embargo, hacia el oeste de los Andes, la distribución más cercana a la provincia de Atacama corresponde a registros en el departamento de Ancash (Perú), representada por una especie no descrita (GWOSV918-11. SNSB, Zoologische Staatssammlung Muenchen. Accessed on 2024-12-04 via boldsystems.org).

Los caracteres diagnósticos morfológicos propuestos para *Physocleora* consisten, como en la mayoría de Geometridae, en atributos de la estructura de la genitalia masculina. Pitkin (2002) describe las siguientes características como atributos para delimitar la mayoría de las especies de *Physocleora*: (1) el lóbulo costal espinoso en la valva, (2) el lóbulo espinoso que se extiende desde el sacculus y (3) la cresta medio-ventral de la valva. Sin embargo, la autora enfatiza que *Physocleora* es un género que ha sido poco estudiado. Respecto a las relaciones filogenéticas, pocos trabajos han propuesto hipótesis sobre su posición dentro de Ennominae, pero se sugiere que podría estar estrechamente relacionada con los géneros *Glena* Hulst 1896, *Glenoides* McDunnough 1920, *Anavitrinella* McDunnough 1922, y *Odysia* Guenée (1858). Sin embargo, su monofilia no ha sido determinada y no se han incluido datos de ADN de la especie tipo, *P. pauper*. Hasta la fecha, solo puede sugerirse que es un género polifilético e intermezclado con *Glenoides* McDunnough, 1920 y *Glena* Hulst, 1896 (e.g. Murillo-Ramos et al., 2021).

Recientemente, se han colectado individuos de Geometridae con atributos morfológicos similares en el Desierto de Atacama, específicamente en la parte más septentrional de Chile, en valles costeros y precordillera alrededor de 3400 m.s.n.m. Las características morfológicas de la genitalia de los machos sugieren que

pertenecen a linajes de *Physocleora* Warren 1897. Para determinar si estos especímenes representan linajes intraespecíficos, se llevaron a cabo análisis preliminares de secuencias del marcador COI (DNA barcode). Las distancias genéticas (K2P) observadas fueron entre 0,3 y 1,2%, lo que apoyó la idea de que los especímenes representan la misma especie. Con base en estos antecedentes, este trabajo evaluó la hipótesis de que los especímenes de *Physocleora* colectados desde diferentes áreas geográficas del norte de Chile representan linajes intraespecíficos, utilizando métodos de delimitación de especies basados en filogenia y distancia genética.

OBJETIVOS

General

Delimitar una nueva especie de *Physocleora* Warren 1897 (Lepidoptera: Geometridae) a partir de individuos distribuidos en el Desierto de Atacama y Puna del norte de Chile.

Específicos

1. Determinar la posición filogenética dentro del género.
2. Determinar linajes intraespecíficos.
3. Determinar caracteres morfológicos diagnósticos.
4. Describir características de la historia de vida de relacionados a su interacción con plantas hospederas.

HIPOTESIS

Individuos propuestos de *Physocleora* sp. colectados en valles y precordillera del Desierto de Atacama - Puna representan linajes metapoblacionales independientes dentro del género.

METODOLOGIA

1. Muestreo. Se recolectaron 110 especímenes a lo largo de valles costeros y precordillera, entre 15 y 3400 m.s.n.m. (Fig. 3A, B en resultados), mediante la recolección de larvas sobre plantas hospederas y de adultos mediante trampas de luz. Todos los especímenes fueron destinados al análisis morfológico y 39 a la secuenciación de DNA barcode (región de 658 bp del gen *COI*).

2. Morfología. Las genitalias de todos los especímenes recolectados fueron observadas y montadas. En el caso de las larvas, estas fueron criadas hasta alcanzar la etapa adulta. La extracción de las genitalias consistió en un tratamiento con KOH al 10% por ~30–60 min para eliminar tejido graso, seguido de limpieza con agua destilada. El montaje se realizó con Euparal para obtener muestras permanentes. Las observaciones y mediciones morfológicas se realizaron con la ayuda de un estereomicroscopio Leica® M125 y un microscopio óptico Olympus BX51.

3. Mapa y figuras. La imagen del mapa se obtuvo de Google Earth. Todas las figuras fueron editadas en el software CorelDraw® X7 a partir de fotografías tomadas con una cámara digital. Las coordenadas se obtuvieron desde las etiquetas cuando estaban disponibles, o con un sistema GPS portátil.

4. Depósito de especímenes: Colección entomológica de la Facultad de Ciencias Agronómicas (IDEA), Universidad de Tarapacá, Arica–Chile.

5. Extracción de ADN y secuenciación. El ADN genómico fue extraído de 39 individuos usando el kit QIAamp Fast DNA Tissue (QIAGEN), siguiendo los procedimientos indicados por el fabricante. Un fragmento de 658 bp del gen *COI*

(cytochrome c oxidase subunit I) fue amplificado mediante reacción en cadena de la polimerasa usando los partidores LCO1490 y HCO2198 (Folmer et al., 1994). Las reacciones de PCR y la secuenciación Sanger (ABI 3730xl) se realizaron en Macrogen Inc., Corea del Sur. Las condiciones de la PCR fueron: 5 min a 94 °C, 35 ciclos de 30 s a 94 °C, 30 s a 47 °C, 1 min a 72 °C, y una elongación final de 10 min a 72 °C.

6. Análisis de haplotipos y distribución espacial. La determinación del número de haplotipos se realizó en DnaSP 5.10 (Librado and Rozas, 2009) y la distancia genética (K2P) entre haplotipos se calculó en Arlequin 3.5 (Excoffier and Lischer, 2010). Para visualizar las relaciones entre haplotipos y su distribución geográfica, se construyó una red de haplotipos (median-joining) en PopArt (<https://popart.maths.otago.ac.nz/>). Para determinar patrones espaciales de diversidad genética intraespecífica, se utilizó el programa Geneland (Guillot et al., 2005), evaluando la probabilidad posterior para cada número de clústeres genéticos ($K = 1-4$), tras 100,000,000 iteraciones MCMC, muestreo cada 10,000 iteraciones y un burn-in del 10%. Finalmente, para evaluar la hipótesis observada en los resultados de Geneland, se realizó una AMOVA (analysis of molecular variance) en Arlequin 3.5.

7. Análisis de secuencias e inferencia filogenética. Se utilizaron nueve secuencias haplotípicas de *Physocleora polyphaga* sp. nov. en los análisis para determinar a qué género pertenece la especie. Se incluyeron secuencias de *Stenalcidia* Warren 1897, *Anavitrinella*, *Glena*, *Glenoides* y *Odysia* (Tabla 1) basándose en hipótesis filogenéticas recientes (Murillo-Ramos et al. 2021) que indican una no monofilia de *Physocleora*. Para evaluar la posición filogenética de la

nueva especie dentro del grupo, se incluyeron secuencias de la especie tipo, *P. pauper*. El software MEGA X (Kumar et al., 2018) se utilizó para realizar el alineamiento, determinar el modelo de sustitución de nucleótidos (bajo el criterio BIC) y evaluar la distancia genética entre haplotipos con el modelo K2P. Para evaluar si el conjunto de datos representa procesos evolutivos neutrales, se analizaron desviaciones de la neutralidad usando el test de McDonald–Kreitman (MK) (McDonald and Kreitman, 1991) para datos comparativos en DnaSP 5.10 (Librado and Rozas, 2009). La prueba de Xia (Xia et al., 2003) se usó para evaluar la presencia de señal filogenética mediante un análisis de saturación de sustituciones en el software Dambe 7.2.1 (Xia, 2018). Para determinar las relaciones evolutivas entre haplotipos y evaluar la hipótesis de monofilia, se realizó un análisis filogenético por inferencia bayesiana usando un modelo mixto en BayesPhylogenies (Pagel and Meade, 2004) con un modelo de sustitución GTR + G. Los árboles se obtuvieron tras ejecutar 200,000,000 iteraciones MCMC. Los parámetros de las corridas se observaron en Tracer 1.6 (Rambaut et al., 2014). La visualización del árbol filogenético se realizó en BayesTrees 1.3 (Meade and Pagel, 2011).

8. Delimitación de especies. Se realizaron análisis utilizando un método basado en distancias genéticas pareadas, el *Automatic Barcode Gap Discovery* ABGD (Puillandre et al., 2012), y tres métodos basados en árboles filogenéticos: el single-threshold General Mixed Yule Coalescent st-GMYC (Pons et al., 2006), la implementación bayesiana del General Mixed Yule Coalescent bGMYC (Reid and Carstens, 2012) y una implementación bayesiana del modelo Poisson tree processes (PTP), bPTP (Zhang et al., 2013). El análisis ABGD se realizó mediante el servidor web de ABGD (<http://www.wabi.snv.jussieu.fr/public/abgd/abgdweb.html>)

utilizando el modelo evolutivo K2P. Se evaluó un rango de valores de divergencia intraespecífica de 0.001 a 0.3 (e.g. Hebert et al., 2003; Ratnasingham and Hebert, 2007). Para el análisis st-GMYC, se generó un árbol filogenético ultramétrico por inferencia bayesiana, usando el proceso de Yule como método previo del modelo de especiación bajo un reloj relajado log normal en BEAST 2.5 (Bouckaert et al., 2019), con una tasa de mutaciones de 0.023 sustituciones por millón de años (Brower, 1994; Nazari and Sperling, 2007). El árbol ultramétrico se usó como entrada para el análisis st-GMYC realizado en R 4.0 usando el paquete *splits* (<http://r-forge.r-project.org/projects/splits/>). El modelo bGMYC se implementó en R 3.6 usando el paquete bGMYC, empleando 100 árboles seleccionados aleatoriamente del resultado obtenido en BEAST (mismos priors que para st-GMYC). Se simuló 50,000 generaciones MCMC, muestreando cada 100 árboles y descartando el 10% como burn-in. Finalmente, para implementar el método bPTP, se determinó un árbol ML usando RAxML-NG (Kozlov et al., 2019) en el sitio <https://raxml-ng.vital-it.ch/>, usando un modelo de sustitución GTR + G + I y un valor de corte de bootstrap de 0.5. El mejor árbol resultante de RAxML se usó como entrada para el análisis bPTP en el sitio <https://species.h-its.org/>, usando 100,000 generaciones MCMC, muestreando cada 100 árboles y descartando el 10% como burn-in.

RESULTADOS

1. Análisis morfológico.

Diagnóstico. *Physocleora polyphaga* sp. nov. puede distinguirse morfológicamente de otras especies del género por las estructuras genitales del macho. En comparación con la especie tipo *Physocleora pauper*, que presenta una cresta medio-ventral en la valva (Pitkin, 2002; Fig. 280), *Physocleora polyphaga* presenta un lóbulo costal adicional, más grande, con una ligera contracción medial en el área distal de las valvas. **Descripción.** Los adultos (Figs. 1C y 2) presentan antenas bipectinadas en machos y filiformes simples en hembras, con una expansión alar de 11–13 mm (n = 50). Las alas son grises con ondas claras y oscuras, generalmente más frecuentes en el área distal (Fig. 1C), lo que dificulta su diferenciación entre sexos y frente a otras especies. La genitalia masculina (Fig. 2A) presenta uncus estrechado. Gnathos con forma de U en posición medial. La valva posee dos crestas espinosas: una apical de mayor tamaño y otra pequeña que se extiende desde la zona media de la valva. El edeago presenta una vesica que presenta uno o dos grupos de cornuti. La genitalia femenina (Fig. 2B) presenta un signum densamente dentado, con forma de disco semi-dividido o elíptico, y apófisis anteriores de aproximadamente la mitad del tamaño de las apófisis posteriores. Las larvas (Fig. 1A) presentan coloración gris, críptica en relación con las ramas de la planta hospedera. Ocasionalmente presentan una notable línea longitudinal en el dorso, aunque no es un rasgo muy frecuente. Siempre presenta dos proyecciones dorsales en la parte anterior del segmento A4, particularmente visible en estadios larvales avanzados. No se detectaron diferencias entre larvas de distinto sexo. Las

pupas (Fig. 1B) presentan coloración café heterogénea y un cremáster en forma de horquilla en ambos sexos.

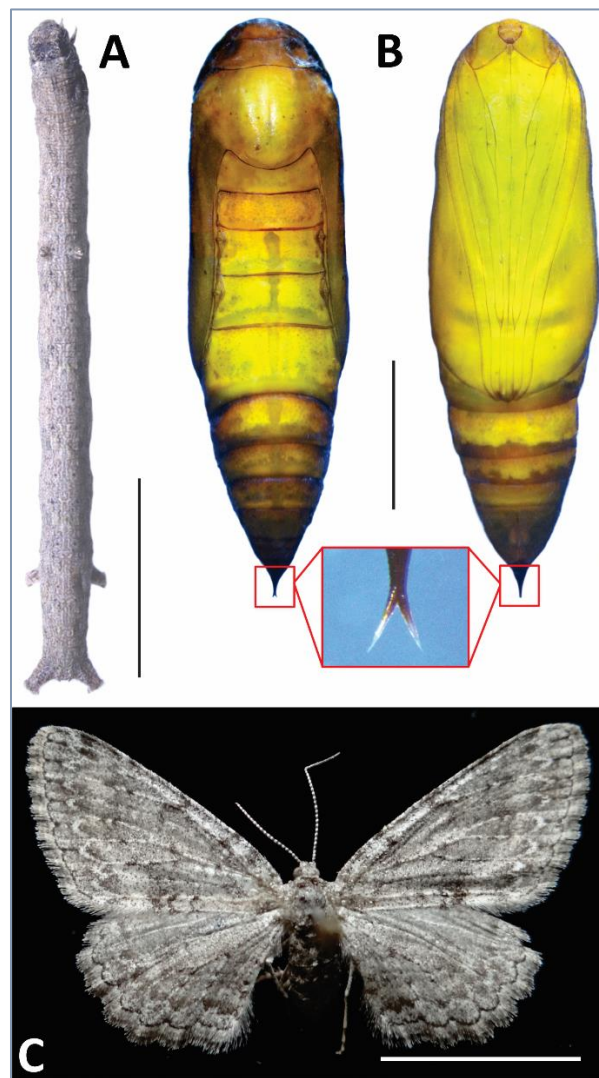


Figura 1. Algunos estados de desarrollo de *Physocleora polyphaga* sp.nov. Larva (A), pupa (B: detalle de cremáster), y adulto macho (C). Escalas 3, 2 y 5 mm, respectivamente.

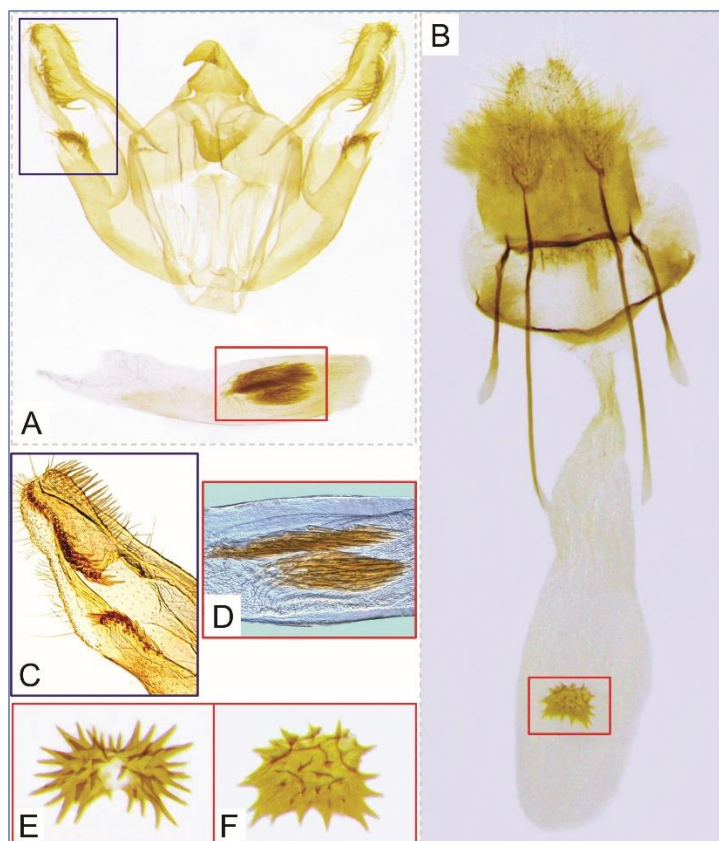


Figura 2. Caracteres morfológicos de genitalia de *Physocleora polyphaga* sp.nov. Genitalia de macho (A), genitalia de hembra (B), detalles de valvas (C) cornuti (D), y signum (E, F).

2. Aspectos de historia natural. Las larvas de esta especie son folívoras de especies pertenecientes a cuatro familias de plantas: Anacardiaceae (*Schinus molle*), Bignoniaceae (*Tecoma fulva*), Fabaceae (*Senna birostris*, *Adesmia spinosissima*, *Geoffroea decorticans*, *Prosopis tamarugo*), Asteraceae (*Mutisia acuminata*, *Baccharis salicifolia*, *Pluchea chingoyo*) y Francoaceae (*Balbisia microphylla*). Las larvas son crípticas en relación con la coloración de las plantas hospederas.

3. Etimología. El nombre específico hace referencia al hábito alimenticio polífago, generalista sobre tejidos de distintas familias de plantas.

4. Distribución. La especie se distribuye en valles costeros, la pampa del Tamarugal y precordillera del extremo norte de Chile (Fig. 3B). Las localidades corresponden a las provincias biogeográficas de Atacama (valles y Tamarugal) y Puna (laderas andinas) (Morrone, 2015).

5. Análisis moleculares. Las secuencias de ADN usadas para la delimitación molecular cumplen los parámetros requeridos para análisis filogenéticos de especies, tales como ausencia de codones stop, ausencia de saturación de sustituciones ($ISS < ISS.C$, $p < 0.05$) y ausencia de desviación respecto de la neutralidad.

6. Diversidad genética y distribución espacial. Se utilizaron 39 secuencias de *Physocleora polyphaga* sp. nov. de 657 pb para análisis intraespecíficos. Su alineamiento mostró 13 sitios variables, representando diez haplotipos (H1–H10), una diversidad haplotípica de 0.694 y diversidad nucleotídica de 0.004. La distancia genética entre haplotipos (K2P) fue de 0.153–0.965% (Fig. 4). El análisis con Geneland indicó un máximo a posteriori de tres clústeres genéticos ($K = 3$), con probabilidades cercanas a 0.4 (Suppl. 1 en anexo). Los clústeres se distribuyeron principalmente en valles costeros (clúster 1), precordillera (clúster 2) y Pampa del Tamarugal (clúster 3) (Fig. 3B, C). El análisis de varianza molecular indicó que el 92.20% de la variación ocurrió entre estos grupos espaciales ($F_{ST} = 0.92$). Este valor refleja una fuerte estructuración genética entre los grupos analizados, lo cual es consistente con la monofilia recíproca observada en la filogenia y la distribución espacial de los haplotipos.

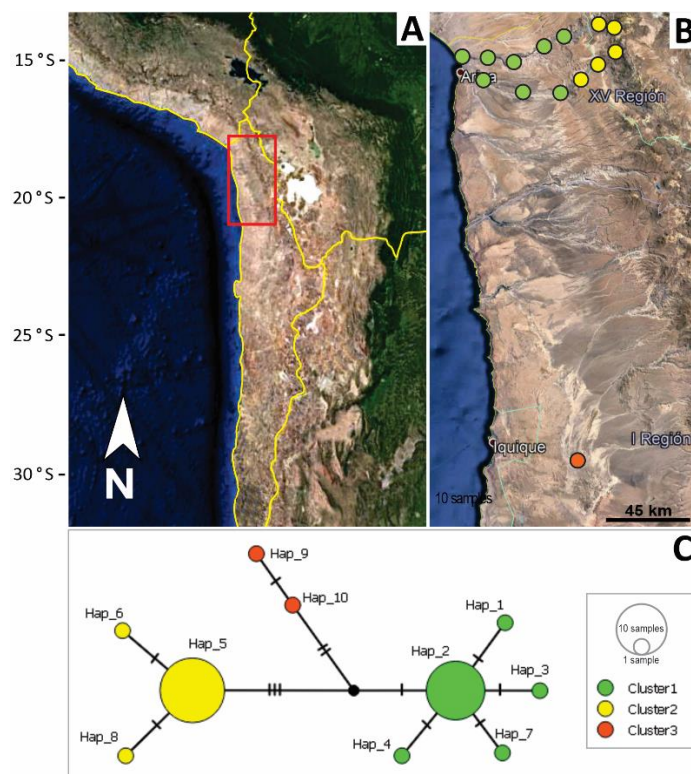


Figura 3. Distribución geográfica de *Physocleora polyphaga* sp.nov. (cuadro rojo en A): localidades de muestreo (B) y red de haplotipos (C). Colores en C indican la localidad de muestreo en B. Valles costeros (verde), precordillera (amarillo) y Pampa del Tamarugal (naranja). Imagen publicada en Vargas-Ortiz & Parra (2025).

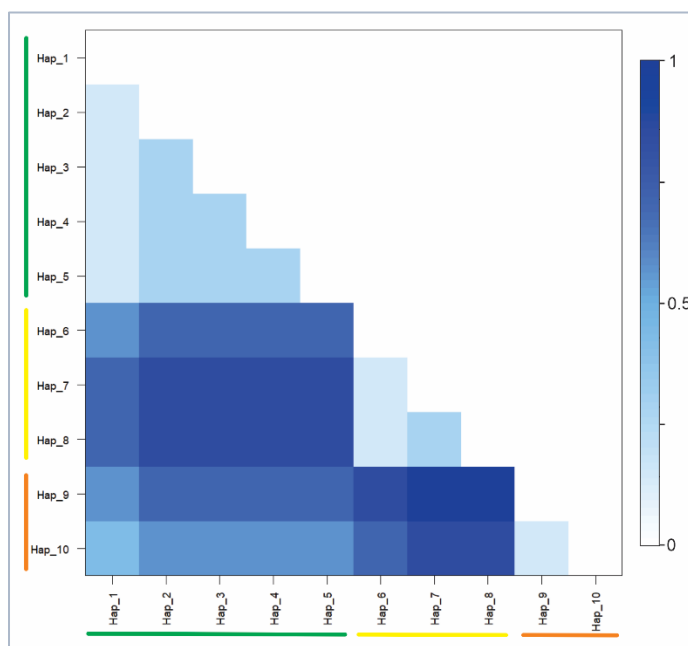


Figura 4. Matriz de distancias genéticas (K2P) entre haplotipos de *Physocleora polyphaga* sp.nov. Barras de colores corresponden a localidades de figura 2: Valles costeros (verde), precordillera (amarillo) y Pampa del Tamarugal (naranja).

7. Análisis filogenético. Un alineamiento de 585 pb incluyó nueve haplotipos de *Physocleora polyphaga* sp. nov. y 51 secuencias de Ennominae. La prueba de neutralidad de McDonald–Kreitman (MK) indicó que la proporción de sustituciones fijas no sinónimas/sinónimas es igual a la proporción de sustituciones no sinónimas/sinónimas polimórficas (G value = 0.288, p-value = 0.591); por lo tanto, el alineamiento puede usarse para determinar relaciones entre linajes de especies. El análisis filogenético (Fig. 5) indicó 1) Polifilia del género *Physocleora*, 2) la especie tipo, *Physocleora pauper*, representa la especie hermana de un clado (asterisco en Fig. 5) compuesto solo por especies congénéricas, incluyendo *Physocleora polyphaga* sp. nov., 3) dentro de ese clado, se observa monofilia bien soportada (100% pp) para *Physocleora polyphaga* sp. nov., cuya especie hermana correspondería a linajes no descritos distribuidos en Perú, y 4) dentro del clado *Physocleora polyphaga* sp. nov., las relaciones entre haplotipos se agrupan de acuerdo con los grupos espaciales sugeridos por el análisis de Geneland, formando grupos recíprocamente monofiléticos bien soportados (valles costeros, precordillera y Pampa del Tamarugal).

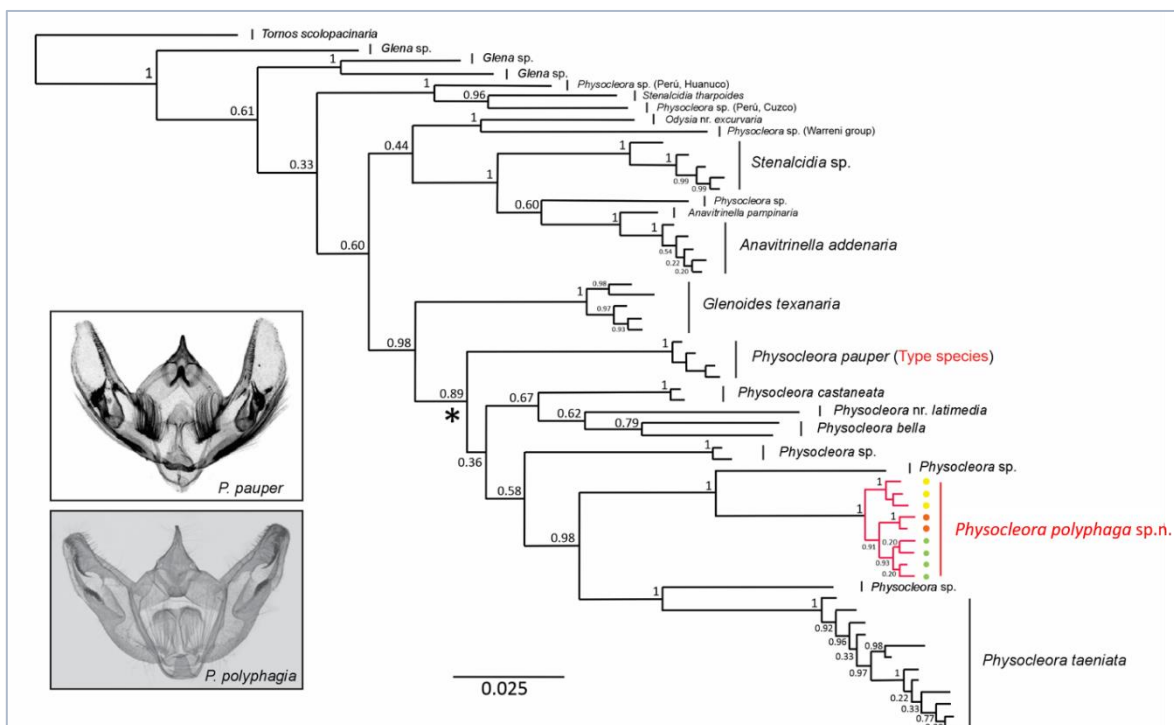


Figura 5. Árbol filogenético obtenido mediante inferencia Bayesiana. Clado de *Physocleora polyphaga* sp.nov. es indicado en rojo. Círculos de color corresponden a distribución geográfica en figura 3. Clado indicado con asterisco fue utilizado para los análisis de delimitación de especies.

8. Delimitación de especies. Basándose en la filogenia resultante, el conjunto de datos para los análisis de delimitación corresponde a las secuencias del grupo monofilético indicado con un asterisco en Fig. 5, que incluye a *Physocleora pauper*, especie tipo del género. Todos los análisis de delimitación (ABGD, st-GMYC, bGMYC y bPTP) validaron la hipótesis de que los especímenes de *Physocleora* recolectados en el área de estudio pertenecen a linajes de la misma especie. Por lo tanto, *Physocleora polyphaga* sp. nov. se valida como una especie. El análisis ABGD mostró una amplia barcode gap entre 0.02 y 0.08 (Suppl. 2 en anexo). El análisis st-GMYC indicó que el número de especies delimitadas (excluyendo singletons) es 5 (número de clústeres ML = 5; intervalo de confianza = 5–7), validando el modelo st-GMYC frente al modelo nulo de coalescencia (likelihood ratio

= 31.64, p-value < 0.05), con un umbral temporal entre eventos de ramificación inter–intraespecíficos de aproximadamente 1000–500 Kya (Suppl. 3 en anexo). El mismo número de especies fue sugerido por el análisis bGMYC utilizando un umbral de probabilidad de conspecificidad de 0.95–1 (Fig. 6). La solución con mayor soporte bayesiano del análisis bPTP indicó que el número de especies delimitadas es 10, con rangos de soporte entre 0.597 y 1, indicando un soporte de 0.689 para *Physocleora polyphaga* sp. nov. (Suppl. 4 en anexo).

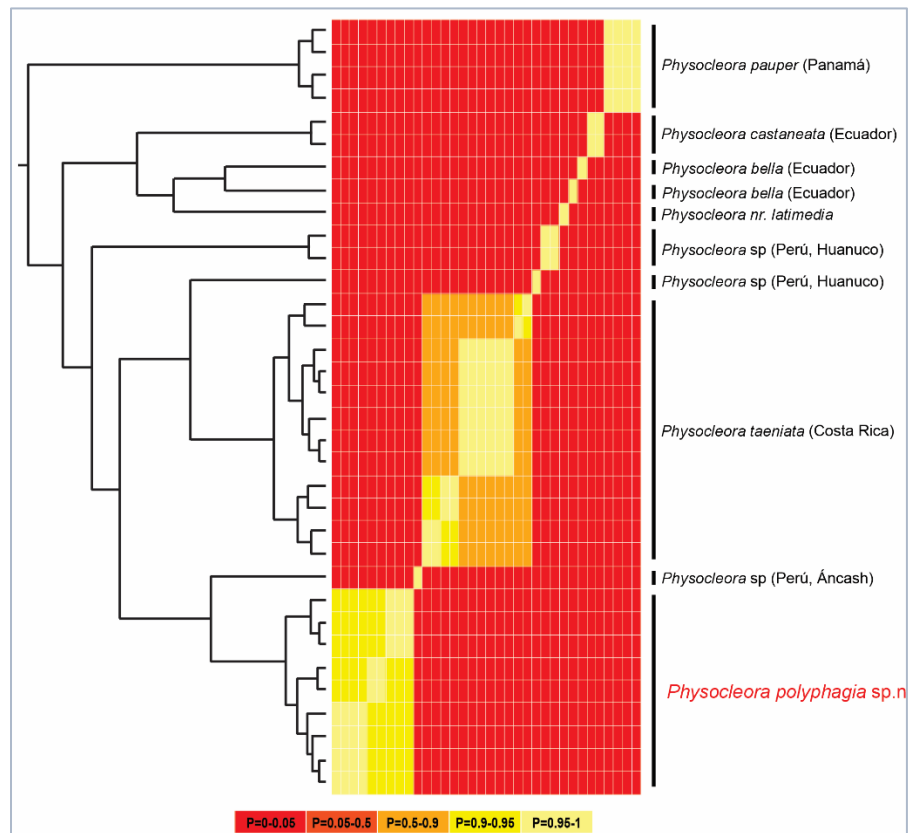


Figura 6. Filogenia y matriz de probabilidades posteriores obtenidos en el análisis bGMYC. *Physocleora polyphaga* sp.nov. es indicada con letras rojas.

DISCUSIÓN

Se describió una nueva especie polífaga de Geometridae, *Physocleora polyphaga* Vargas-Ortiz & Parra sp. nov., distribuida en el Desierto de Atacama y la Puna, delimitada mediante distancias genéticas y métodos filogenéticos. Según estudios previos y datos de secuencias (e.g. boldsystems.org), *Physocleora* representa un género que probablemente incluye varias especies neotropicales no descritas. Tal hecho probablemente también ha llevado a que *Physocleora* sea considerado un taxón no monofilético.

En relación con esto, la hipótesis filogenética propuesta aquí indica no monofilia, coincidiendo con los resultados de Murillo-Ramos et al. (2021), pero se considera necesario evaluar esta hipótesis con una mayor representación de especies correctamente delimitadas.

Las relaciones intraespecíficas de *Physocleora polyphaga* sp. nov. observadas en la hipótesis filogenética y en la red de haplotipos indican monofilia recíproca con respecto a la distribución espacial de los haplotipos, patrón claramente observado en los resultados de Geneland. Patrones similares han sido observados en otras especies de polillas en el Desierto de Atacama (e.g. Vargas-Ortiz et al., 2018, 2020). Esta información sugiere posibles influencias de la historia evolutiva del paisaje sobre la diversidad genética observada. Para el caso específico de este estudio, parece haber poblaciones de baja altitud (valles costeros), altitud media-alta (precordillera) y aislamiento debido a barreras geográficas (Pampa del Tamarugal).

Sin embargo, es necesario un mayor muestreo y el uso de otros tipos de marcadores moleculares para responder estas preguntas.

CONCLUSIONES

1. Los resultados apoyan la delimitación de *Physocleora polyphaga* Vargas-Ortiz & Parra sp.nov. como especie válida, cuyas poblaciones se distribuyen en valles del Desierto de Atacama y la precordillera.
2. El grupo hermano corresponde a una especie aún no descrita distribuida en el noroeste de Perú (provincias Desértica y Puna).
3. Los linajes intraespecíficos presentan monofilia recíproca en relación con la distribución espacial de las poblaciones.
4. Las estructuras genitales de ambos sexos constituyen caracteres morfológicos diagnósticos para la diferenciación de la especie.

Capítulo 2: Patrones y procesos microevolutivos de *Physocleora polyphaga* Vargas-Ortiz & Parra (Lepidoptera: Geometridae) en el Desierto de Atacama del norte de Chile.

MARCO TEÓRICO

Los ecosistemas desérticos se caracterizan por la baja disponibilidad de agua, cuya disponibilidad varía considerablemente en el tiempo y espacio, influyendo en que muchas de sus funciones ecosistémicas estén guiadas por pulsos de recursos (e.g. Free *et al.*, 2013). La heterogeneidad en la estructura de los paisajes desérticos es producto de fuerzas históricas, como procesos de formación y erosión de suelo, las cuales determinan una distribución espacial parchosa de recursos (Whitford, 2002). Esta configuración espacial, donde los parches de vegetación concentran mayor cantidad de humedad y nutrientes que las áreas inter-parche (Whitford, 2002), influye directamente en los patrones de dispersión de organismos, produciendo efectos en las tasas de migración entre poblaciones (Balkenhol *et al.*, 2016), variación que puede ser dada por diferentes características dentro y entre parches, como distancia o dimensión de barreras geográficas y condiciones ambientales, lo cual determina el nivel de aislación de los parches (Ricketts, 2001; Hanski & Gaggiotti, 2004).

El Desierto de Atacama, reconocido como el más árido del planeta, ha experimentado condiciones áridas y semiáridas desde el Jurásico (150 Ma) hasta la actualidad (Hartley *et al.*, 2005). Se extiende entre los 15° y 30°S, abarcando la zona hiperárida del norte de Chile y el sur del Perú, con una notable variación altitudinal

desde la costa hasta los 3500 m.s.n.m (Houston & Hartley, 2003). Su morfología se caracteriza por una marcada rugosidad, producto de procesos erosivos por la acción hídrica en quebradas y desprendimientos de suelos (Marquet et al., 1998; Irwin et al., 2014). Estas estructuras geológicas, presentes desde hace aproximadamente 10 millones de años (Seyfried et al., 1998; Kober et al., 2006), influyen en la distribución actual de la biodiversidad, que se concentra en sectores con acceso a humedad superficial o subterránea (Marquet et al., 1998; Pinto et al., 2006).

La composición biogeográfica en el extremo norte de Chile puede distinguirse en tres franjas generales (e.g. Rundel *et al.*, 1991; Gutiérrez *et al.*, 1998; Marquet *et al.*, 1998; Luebert & Plischoff, 2018) con componentes espaciales e históricos particulares: 1) franja de mediana altitud (2500-3500 m.s.n.m aprox.), con matorral de prepuna, mayor abundancia de vegetación y extensión espacial, 2) franja intermedia (1900-2500 m.s.n.m aprox.), ubicada en la zona precordillerana baja, incluye el piso de vegetación de matorral desértico tropical interior y presenta poca y esporádica cobertura de vegetación que tiende a concentrarse en depresiones donde se acumula la humedad, y 3) franja de baja altitud (<1900 m.s.n.m aprox.), incluye los ecosistemas ribereños (valles transversales) cuya distribución parchosa se caracteriza por presentar vegetación escasa de tipo bosque y matorral desértico ribereño y costero. Esta distinción en el componente espacial es similar de algunas regiones montañosas, donde valles de bajas elevaciones cubren un área reducida y conectan hacia un área más extensa en elevaciones intermedias (Grytnes & McCain, 2007).

Diversos efectos de gradientes altitudinales sobre la abundancia de insectos fitófagos han sido descubiertos a nivel morfológico (e.g. Ikeda *et al.*, 2012), ecológico (e.g. Rasmann *et al.*, 2014) y evolutivo (e.g. Karl *et al.*, 2009; Pramual & Kuvangkadilok, 2012). Tales efectos se dan, principalmente, debido a que diferencias ambientales ocurren dentro de pequeñas distancias de elevación y reflejan cambios en variables como precipitación, temperatura, radiación, presión atmosférica, humedad, disponibilidad de oxígeno y velocidad del viento (e.g. McCain & Grytnes, 2010) que interactúan y crean el medioambiente dentro del cual organismos pueden sobrevivir y reproducirse (Hodkinson, 2005).

A nivel comunitario, se ha reportado una variedad de patrones incluyendo incrementos y disminuciones de la riqueza de especies a medida que aumenta la altitud, así como mayor riqueza a mediana elevación (Grytnes & McCain, 2007; Körner, 2007) como ha sido observado en mariposas (Pyrz *et al.*, 2009) y polillas de la familia Geometridae (Brehm *et al.*, 2007) en la zona tropical de los Andes. En el desierto de Atacama y zonas adyacentes de altitud se ha observado que la elevación explica parte de la diferencia entre comunidades de mariposas observándose una mayor riqueza a mediana altitud, específicamente en la franja de matorral de Puna (3300-4100 m.s.n.m) que se caracteriza por presentar una mayor productividad y diversidad vegetal (Despland *et al.*, 2012; Despland, 2014).

A nivel evolutivo, además de influir sobre procesos neutrales (e.g. Shi *et al.*, 2011; Polato *et al.*, 2017; Jackson *et al.*, 2018), la variación altitudinal puede conducir a cambios adaptativos (e.g. Karl *et al.*, 2009; Sarup *et al.*, 2009; Schmitz *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2017), por lo que algunas poblaciones poseen variación genética que

les favorece la adaptación local a diferentes elevaciones (Dahlhoff et al., 2019). Esto sugiere que pueden observarse correlaciones positivas entre distancias genéticas y medioambientales, es decir, patrones de aislación por medioambiente (*isolation by environment* o IBE, e.g. Wang & Bradburd, 2014) de manera que las tasas de flujo génico son mayores entre ambientes similares (Sexton et al., 2014).

En relación con el componente histórico del paisaje del Desierto de Atacama, se sugiere que las franjas altitudinales presentan diferencias en su estabilidad ecológica. Se ha reportado que las causas principales de disturbio ecológico en regiones áridas y semiáridas están asociadas al flujo de agua superficial (Shafroth et al., 2002), de manera que disturbios por grandes inundaciones influyen sobre el establecimiento, mortalidad y estructura de parches de vegetación ribereña (Pickett & White, 1985; Renöfält & Nilsson, 2008; You et al., 2015). Particularmente, la zona del extremo norte de Chile (Fig. 1) ha estado sometida a grandes descargas hídricas en los ríos producto del aumento de las precipitaciones orográficas hace 3 millones de años (Kober et al., 2006), y se ha sugerido que las precipitaciones de gran magnitud son extremadamente infrecuentes (Jordan et al., 2019) aunque parecen estar relacionadas a los ciclos de oscilación del sur del fenómeno de El Niño (ENSO) (Houston, 2006; Bartz et al., 2020). Dependiendo de su magnitud, se sugiere que estos eventos ocasionan pérdida de biomasa en los ecosistemas ribereños (e.g. Marquet et al., 1998) y podrían considerarse como eventos de disturbio ecológico (e.g. Pickett & White, 1985; Sousa, 1984). En este sentido, los ecosistemas ribereños (franja de baja altitud) habrían presentado mayor inestabilidad que las zonas precordilleranas, influyendo sobre la composición espacial y temporal de su

biota. Se ha observado que, dependiendo de la severidad y frecuencia, disturbios ecológicos influyen sobre las dinámicas metapoblacionales (e.g. Ilcox & Airns, 2006) y se ha resaltado la utilidad de enfoques de genética del paisaje para comprender respuestas demográficas y evolutivas, como la pérdida de diversidad genética (e.g. efectos cuello de botella) de poblaciones naturales a este tipo de eventos (Banks *et al.*, 2013; Davies *et al.*, 2016).

Los efectos a nivel metapoblacional que pueden generar los componentes espaciales e históricos mencionados, surgen en parte porque poblaciones pertenecientes a particulares ambientes estarían sometidas a diferentes tasas de extinción y recolonización locales (Hoopes & Harrison, 1998). De esta manera, poblaciones de distintos ambientes experimentan condiciones locales particulares que llevan a variaciones en las densidades poblacionales y tasas de migración (Hodkinson, 2005; Leingärtner *et al.*, 2014) causando, por ejemplo, dinámicas de fuente-sumidero (Grytnes & McCain, 2007; Liu *et al.*, 2011). En este sentido, se sugiere que en desierto de Atacama del norte de Chile esta dinámica podría darse debido principalmente a dos de las características anteriormente señaladas: 1) presencia de franjas altitudinales, al existir cortas distancias entre áreas óptimas (fuente), y subóptimas (sumidero), lo que puede facilitar el flujo génico entre ellas, y 2) ocurrencia intermitente de disturbios en los ecosistemas ribereños, sugiere que tal área sea considerada como subóptima (sumidero) debido a que la presencia de disturbios puede influir directamente sobre la calidad del hábitat (Hoopes & Harrison, 1998; Liu *et al.*, 2011). Además, la posible reducción de densidades poblacionales

en parches locales puede generar una mayor disponibilidad de recursos para inmigrantes (Hanski & Gaggiotti, 2004).

Estudios microevolutivos en ambientes desérticos han demostrado diversos patrones de estructuración genética poblacional, como aislamiento por distancia (*isolation by distance*: IBD) y aislamiento por resistencia (*isolation by resistance*: IBR) atribuidos al efecto del paisaje (e.g. Latch *et al.*, 2011; Sánchez-Ramírez *et al.*, 2018). Para el caso del Desierto de Atacama, se ha sugerido que algunas taxa de áreas adyacentes al desierto necesitaron largo tiempo para colonizar y adaptarse a las condiciones hiperáridas (Guerrero *et al.*, 2013), mientras que a menor escala evolutiva, diversos grupos taxonómicos han sido estudiados con enfoques filogeográficos (e.g. Correa *et al.*, 2010; Baranzelli *et al.*, 2014; Ceccarelli *et al.*, 2016; Vargas-Ortiz *et al.*, 2018; Merklinger *et al.*, 2020) y ecológicos (Zayed *et al.*, 2006), y solo uno ha sido realizado mediante un enfoque de genética y genómica del paisaje (Stoll *et al.*, 2020). Generalmente, se ha observado una diversificación alopatrica de linajes mediante análisis de marcadores neutrales que puede ser atribuida a las características del paisaje (e.g. extensas áreas de desierto que actúan como barreras geográficas) como de las especies (e.g. baja capacidad de dispersión). Sin embargo, no se conocen en detalle los procesos (variación neutral v/s adaptativa) que priman sobre la dinámica de sus poblaciones producto de las características del paisaje. En este sentido, el uso de enfoques genómicos permite no solo evaluar la estructura genética neutral, sino también identificar genes potencialmente bajo selección, proporcionando una perspectiva más completa de

cómo el paisaje y la biología de las especies influyen en la evolución y divergencia poblacional.

Problema de investigación

Se desconocen los efectos de la configuración del paisaje del Desierto de Atacama–Puna sobre la historia microevolutiva y la estructuración genética y genómica de organismos con capacidad de dispersión moderada.

Modelo de estudio

La distribución geográfica de las especies de insectos fitófagos suele estar estrechamente ligada a la de sus plantas hospederas. Por ello, a nivel metapoblacional, su dispersión puede estar limitada por la disponibilidad y distribución de parches con vegetación hospedera (Jaenike, 1990; Stadler *et al.*, 2011).

Physocleora polyphaga Vargas-Ortiz & Parra (Lepidoptera: Geometridae) es una especie de polilla fitófaga que se distribuye desde la costa del desierto de Atacama hasta los 3000-3500 m.s.n.m de los Andes (Puna) (Fig. 1). Se considera un insecto polífago debido a su dieta (Bernays & Chapman, 1994), ya que sus estados larvales son folívoros de ocho especies de plantas pertenecientes a ocho familias (Anacardiaceae, Bignoniaceae, Fabaceae, Asteraceae, Francoaceae). Como gran parte de lepidópteros fitófagos de pequeño tamaño, los estados inmaduros, desde el huevo hasta el término del estado de pupa, están asociados a un único individuo de planta hospedera (Fig. 2B, E), siendo los adultos quienes realizan la

dispersión mediante la búsqueda de sustratos idóneos para reproducción y oviposición.

Considerando que la característica morfológica más importante para determinar la capacidad de dispersión en Lepidoptera es el tamaño de las alas (Sekar, 2012), la vagilidad de *Physocleora polyphaga* podría considerarse moderada. Esta característica sería útil para determinar patrones de estructuración genética a pequeña escala y con pronunciadas barreras geográficas como las que presenta el Desierto de Atacama (Fig. 1).

Se ha sugerido que, en insectos fitófagos, el nivel de estructuración poblacional en función de distancias geográficas no siempre se correlaciona negativamente con la capacidad de dispersión, lo que implica que el patrón de aislamiento por distancia (IBD) puede ser débil en especies sedentarias o con alta capacidad de dispersión, pero pronunciado en especies con dispersión moderada (Peterson & Denno, 1998). Por ejemplo, mariposas con gran envergadura alar, como *Vanessa* Fabricius, 1807 (Nymphalidae), presentan una débil o nula estructuración genética a pequeña escala espacial (Wahlberg & Rubinoff, 2011; Villalobos-Leiva *et al.*, 2025), por lo que se podría esperar que especies con menor envergadura alar y baja capacidad de dispersión, como algunos Geometridae (Kuussaari *et al.*, 2014), presenten mayores niveles de diferenciación genética incluso a escalas geográficas reducidas.

Desde el punto de vista adaptativo, representantes de Lepidoptera (Pyrz *et al.*, 2009) y, particularmente de la familia Geometridae (Brehm *et al.*, 2007), han presentado patrones de riqueza asociados a la adaptación en ambientes de

altitudes intermedias en la cordillera de Los Andes. En este contexto, se sugiere que la presencia de distintos ambientes relacionados al gradiente altitudinal del desierto pudo haber influido en la evolución de *Physocleora polyphaga*.

Las características de dispersión de esta especie sugieren que la configuración del paisaje en el desierto de Atacama podría influir en los procesos microevolutivos, tanto neutrales como adaptativos, los cuales pueden detectarse a pequeña escala espacial. Antecedentes preliminares obtenidos en laboratorio apoyan esta idea, ya que se observaron diferencias en la coloración alar entre individuos colectados en valles costeros, pampa del Tamarugal y precordillera (observaciones del autor), lo que podría ser indicador de adaptación local (Hodkinson, 2005). En este sentido, se ha observado que patrones de coloración en insectos pueden ser considerados como resultado de plasticidad fenotípica en respuesta a distintos ambientes (Boyle & Start, 2020), o de procesos selectivos debido a la mantención de ventajas adaptativas (e.g. camuflaje, absorción de calor) (Brakefield & French, 1999; Hodkinson, 2005).

Análisis preliminares del marcador molecular COI indicaron divergencia genética entre individuos colectados en aquellas tres localidades, observándose solo haplotipos localmente específicos, coincidiendo con los resultados indicados en Vargas-Ortiz & Parra (2025), Fig. 1. Esto sugiere que procesos de diferenciación poblacional alopátrica serían parte de la historia evolutiva de la especie, lo que podría haber llevado a diversos patrones de aislamiento.

OBJETIVOS

1. General

Estudiar los efectos del paisaje del Desierto de Atacama y Puna, del extremo norte de Chile, sobre la dispersión y adaptación a nivel genómico de un insecto polífago, *Physocleora polyphaga* (Lepidoptera: Geometridae).

2. Específicos

1. Determinar la estructura genética poblacional de *Physocleora polyphaga* en relación con barreras geográficas del desierto de Atacama - Puna.
2. Evaluar si existen señales de selección asociadas a gradientes altitudinales.
3. Evaluar patrones de flujo génico entre poblaciones de valles transversales y precordillera.
4. Evaluar si la diferenciación genética responde a aislamiento por distancia o a la resistencia del paisaje.

HIPOTESIS

1. Las poblaciones de *Physocleora polyphaga* presentan estructura genética asociada a barreras geográficas del paisaje del desierto de Atacama y Puna.
2. Las poblaciones que habitan distintos regímenes altitudinales han estado expuestas a presiones selectivas diferentes que han influido en su diferenciación genética.
3. El flujo génico entre poblaciones está influenciado por la configuración del paisaje más que por la distancia geográfica.
4. Las poblaciones de precordillera han actuado como fuente de migrantes hacia los valles transversales.

METODOLOGIA

1. Área de estudio y colecta de ejemplares. La colecta de 150 especímenes de *Physocleora polyphaga* se realizó en diferentes localidades representativas del gradiente altitudinal del Desierto de Atacama–Puna, desde costa (10 m.s.n.m) hasta la precordillera andina (3500 m.s.n.m) (Fig. 1). Las colectas se efectuaron entre febrero 2021 y septiembre 2022, utilizando trampas de luz UV portátiles para los adultos, y paragua entomológico para las larvas. Los individuos capturados fueron preservados en etanol absoluto al 95% y almacenados a -20 °C hasta su procesamiento en laboratorio. La ubicación geográfica de cada sitio fue registrada con coordenadas GPS (± 5 m de precisión).

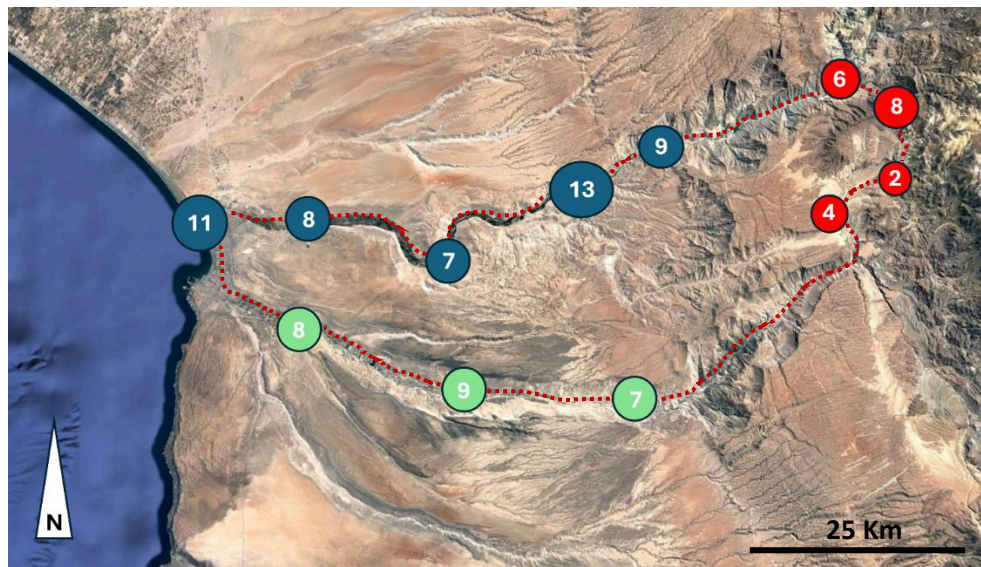


Figura 1: Área de estudio. Extremo norte de Chile. Azapa (verde), Lluta (Azul), precordillera (rojo). Números indican cantidad de individuos colectados. Línea roja discontinua indica ruta utilizada en análisis de aislamiento por ruta de menor costo.

2. Extracción de DNA y obtención de SNPs. Para el análisis genético, se seleccionaron individuos adultos representativos de cada localidad. Se extrajo ADN genómico de un total de 96 individuos, a partir de tejido de patas y tórax, utilizando el kit comercial Qiamp Fast DNA Tissue Kit (Qiagen), siguiendo el protocolo del fabricante. La obtención de SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) se realizó mediante ddRAD, utilizando las enzimas ApeKI y BtgI. Las bibliotecas fueron construidas y secuenciadas en centro de genómica y secuenciación de la Universidad de Minnesota (Estados Unidos) utilizando una plataforma NextSeq P2. Para el análisis de filtrado realizado en Stacks (Catchen *et al.*, 2013), se eliminaron las variantes que no tuvieron información genética suficiente, es decir, aquellas en las que el genotipo fue llamado en menos del 80% de las muestras. También se excluyeron las variantes con una frecuencia alélica menor al 1%. Además, se eliminaron las muestras que presentaban más del 50% de datos faltantes, resultando en la eliminación de 4 muestras del conjunto de datos. Después del filtrado, se verificó que las lecturas restantes tuvieran una calidad promedio superior a Q30, como se reporta en el archivo de salida de la secuenciación. Posteriormente, se eliminaron los SNPs que se desviaron de las proporciones esperadas bajo el modelo de equilibrio de Hardy-Weinberg, utilizando el paquete DartR en RStudio (Mijangos *et al.*, 2022), considerando las tres poblaciones definidas a priori (Azapa, Lluta y precordillera) y un umbral de significancia de $\alpha = 0.05$, obteniéndose un conjunto final de 1004 loci para 92 ejemplares. Para descartar la eliminación de loci bajo selección debido al filtrado por equilibrio de Hardy-Weinberg, se evaluó su presencia en el conjunto de datos no filtrado mediante BayeScan (Foll & Gaggiotti, 2008), no detectándose loci outliers. Se utilizó el dataset filtrado, dado que arrojó

resultados concordantes entre los distintos enfoques de análisis de estructura poblacional (e.g., Tess3R y Geneland).

3. Obtención de dato geográficos y visualización. Todas las coordenadas obtenidas en GPS fueron insertadas en GoogleEarth para la visualización del paisaje del área de muestreo. Todas las distancias geográficas entre localidades, ya sean lineales y de ruta del menor costo, fueron calculadas en el mismo programa.

4. Análisis de estructura poblacional. Los datos SNP obtenidos fueron utilizados para analizar la estructura genética de las poblaciones mediante enfoques multivariados y de asignación individual. En primer lugar, se realizaron análisis multivariados con el paquete Adegenet (Jombart & Ahmed, 2011) en RStudio, aplicando un Análisis de Componentes Principales (PCA) seguido de un Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC) (Jombart *et al.*, 2010), donde el número óptimo de clústeres (K) fue determinado mediante el criterio de información bayesiano (BIC). Adicionalmente, se utilizaron distintos programas complementarios para evaluar la estructura genética poblacional. Con el paquete LEA (Gain & Francois, 2021), se implementó el algoritmo SNMF (Frichot *et al.*, 2014), seleccionando el valor óptimo de K mediante entropía cruzada y generando una matriz Q de proporciones de ancestría. Asimismo, se empleó PopCluster (Wang, 2024), donde se definió un K = 3 con base en el índice $\Delta LK2$, evaluando su correspondencia con las tres grandes localidades de muestreo (Azapa, Lluta, Pre-cordillera).

Con el objetivo de incorporar la dimensión espacial, se utilizaron los programas TESS3R (Caye *et al.*, 2016) y GENELAND (Guillot *et al.*, 2005), ambos en RStudio.

En TESS3R, se determinó el número óptimo de grupos también mediante entropía cruzada, obteniendo mapas de ancestría espacialmente explícitos. Por su parte, con GENELAND se utilizó un enfoque bayesiano integrando coordenadas geográficas y genotipos, estimando K a partir de la densidad de probabilidad posterior a lo largo de la cadena MCMC (Markov Chain Monte Carlo), con 200 millones de iteraciones, 10% burn-in, y generando mapas de distribución geográfica de la diversidad genética. Además, se evaluaron patrones de aislamiento por distancia (IBD) y aislamiento por ruta de menor costo (LCP, Least-cost path). Para este último, se consideraron como barreras geográficas las extensas áreas elevadas de desierto que separan los valles de muestreo (Fig. 1), y se calcularon rutas de menor costo entre localidades considerando la presencia de vegetación como variable de resistencia del paisaje, asumiendo que en un entorno desértico esta constituye las principales rutas potenciales de dispersión para insectos fitófagos. Las asociaciones entre distancias genéticas (Nei, 1972), valores F_{st} (Weir & Cockerman, 1984), distancias geográficas y distancias de menor costo fueron evaluadas mediante análisis de correlación y coeficientes de determinación (R^2), implementados en RStudio.

5. Tasas migratorias entre poblaciones y tamaños poblacionales.

Una vez se determinó la estructura poblacional y se identificaron las poblaciones genéticamente diferenciadas, se estimaron las tasas migratorias entre poblaciones (m) y los tamaños poblacionales efectivos (θ) utilizando el programa Migrate-N (Beerli, 2016). Este programa implementa un enfoque bayesiano basado en coalescencia para inferir los parámetros poblacionales. Los archivos de entrada

fueron generados a partir del conjunto filtrado de SNPs, agrupando los individuos según las poblaciones identificadas previamente. Se empleó el modelo de migración asimétrica, y se utilizó una cadena de Markov Monte Carlo (MCMC) con una longitud total de 10 millones de generaciones, descartando 10% como burn-in. Se emplearon cuatro cadenas paralelas para mejorar la eficiencia de muestreo. Todo el análisis fue realizado en la plataforma CIPRES Science Gateway (Miller *et al.*, 2010). Como resultado, se obtuvieron estimaciones posteriores de los tamaños efectivos de cada población y de las tasas de migración entre cada par poblacional, reportadas como la media de la distribución posterior con sus respectivos intervalos de credibilidad del 95%.

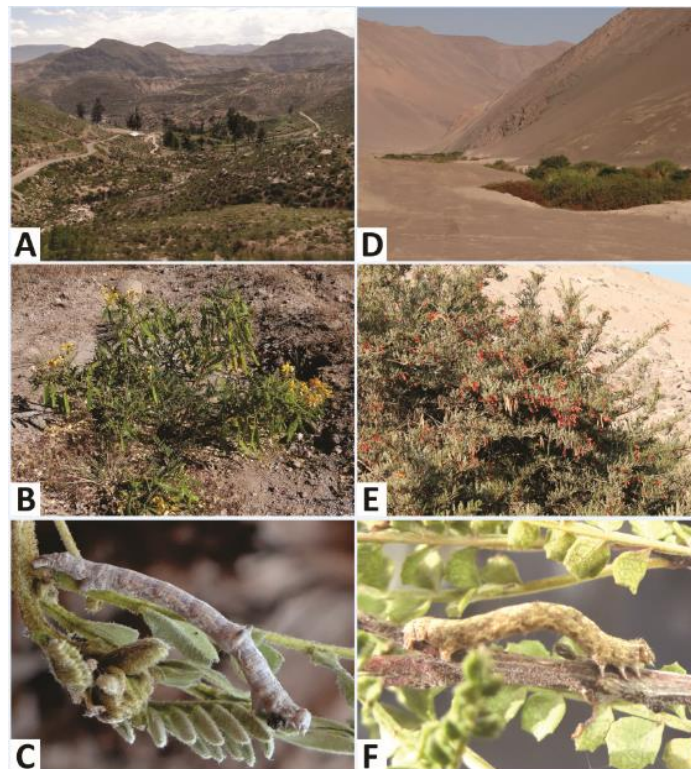


Figura 2. Aspectos de historia natural de *Physocleora polyphaga*. (A) Paisaje de precordillera, (B) Planta hospedera, *Senna birostris*, en precordillera, (C) Larva sobre *Senna birostris*; (D) Paisaje valle costero, (E) Planta hospedera, *Tecoma fulva*, en valle costero, (F) Larva sobre *Tecoma fulva*. Imagen obtenida de Vargas-Ortiz & Parra (2025).

RESULTADOS

1. Determinación de poblaciones *a posteriori* y sus distribuciones geográficas.

Los análisis DAPC (Adegenet) y SNMF (LEA) indicaron 3 clusters genéticos, sin información geográfica *a priori*, observados por los valores del criterio de información Bayesiana (Fig. 3) y entropía cruzada (Fig. 4), respectivamente.

Los análisis que utilizan información geográfica (PopCluster, Tess3R y Geneland) indicaron una clara estructuración de la diversidad genética validando tres poblaciones (Figs. 5-7), una presente en el valle de Lluta, una en el valle de Azapa, y otra en la precordillera.

Es importante mencionar que los valores de F_{st} , indicados por Geneland entre las tres poblaciones son bajos a moderados (entre 0.03554 y 0.08673) (Fig. 7C), indicando que el patrón de diferenciación observado puede ser reciente, o que una moderada tasa de flujo génico ha habido entre ellas. Además, la estructuración observada coincide con que las zonas entre las tres localidades podrían ser consideradas como barreras al flujo génico entre poblaciones, ya que la presencia de vegetación y plantas hospederas disminuye drásticamente, llegando a ser nula en ciertas zonas, contrario a lo que se observa dentro de los valles y en el cordón

altitudinal precordillerano, donde la vegetación presenta una distribución más continua y abundante.

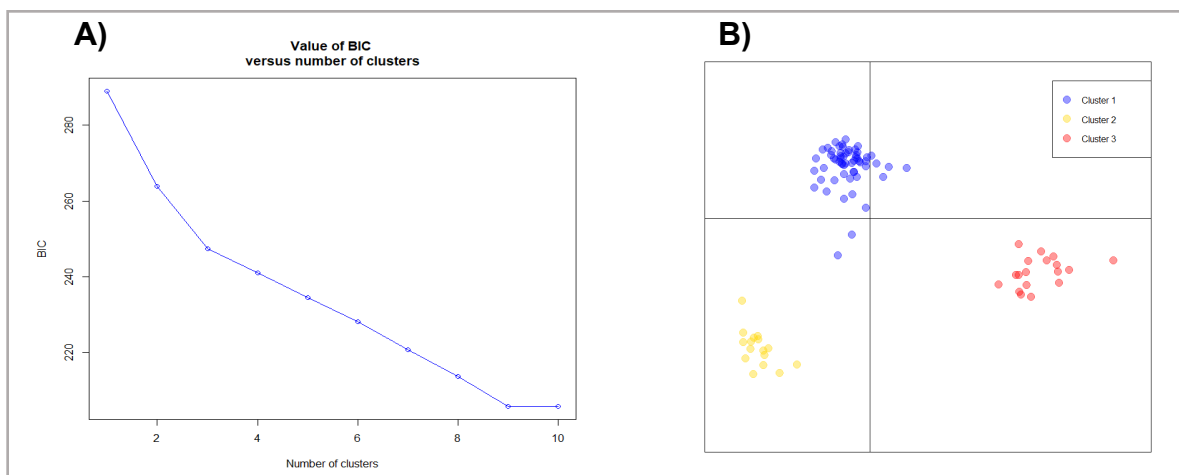


Figura 3. Resultados obtenidos en ADEGENET. Valores BIC versus número de clusters genéticos (A) y visualización de DAPC (B)

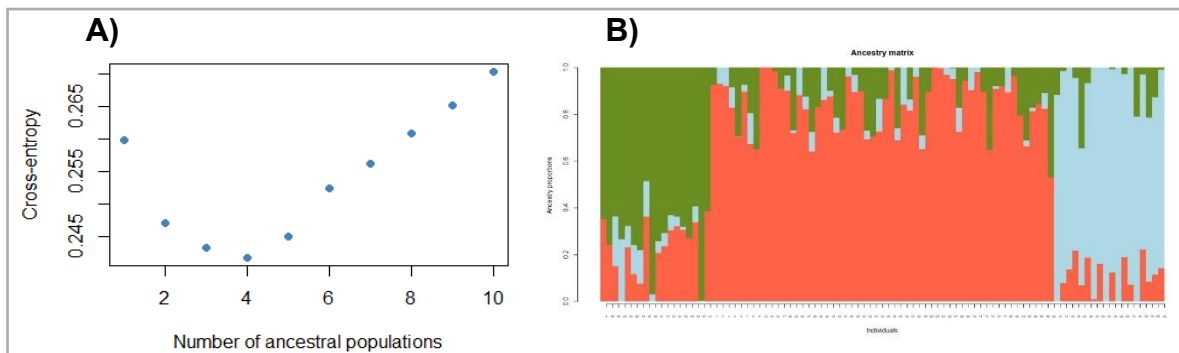


Figura 4. Resultados obtenidos en LEA. Valores en entropía versus número de poblaciones (A) y visualización de matriz Q (B).

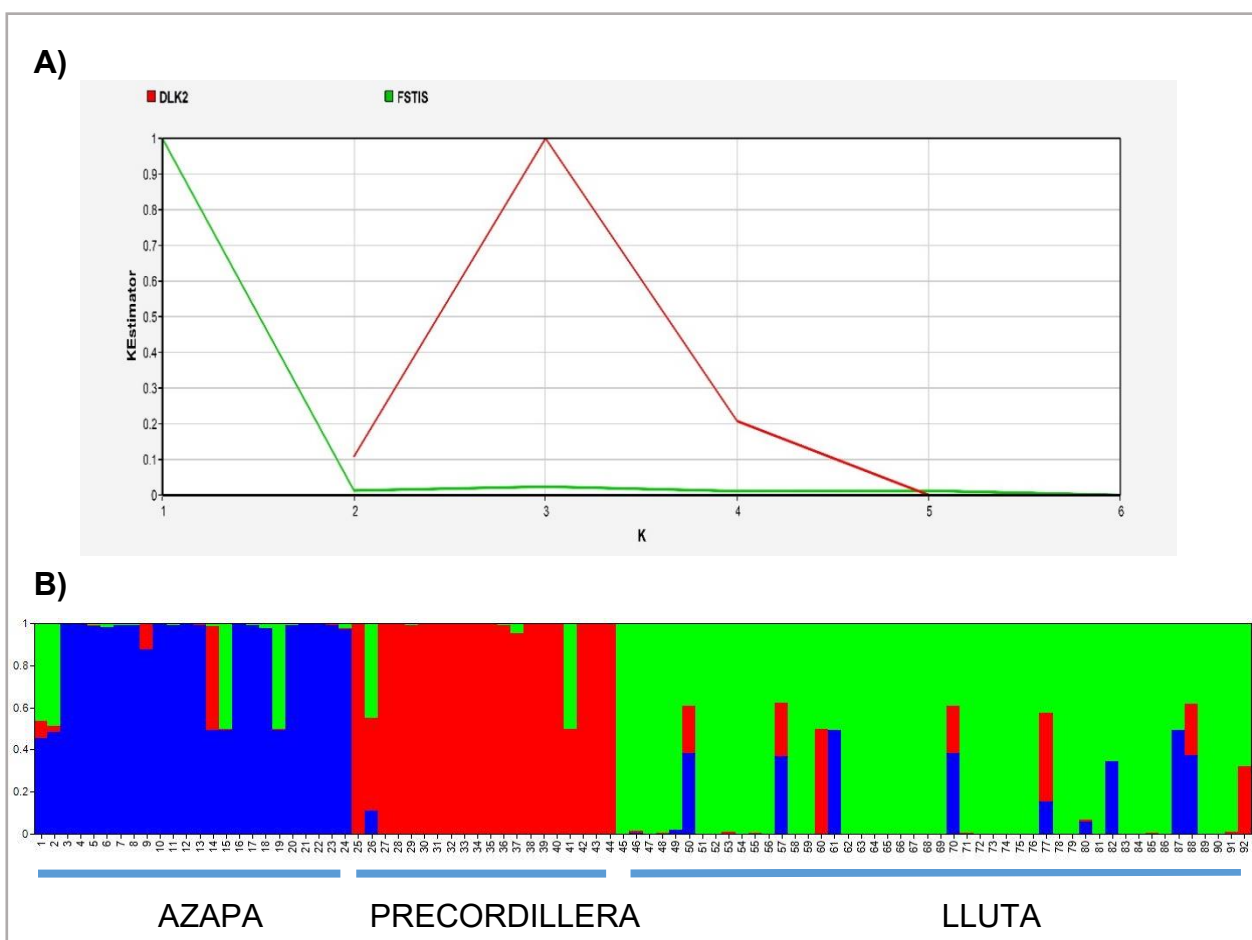


Figura 5. Resultados de PopCluster. Gráfico de DLK2 y FSTIS versus número de K poblaciones (A). Probabilidades de asignación individual para cada K cluster, en matriz Q (B).

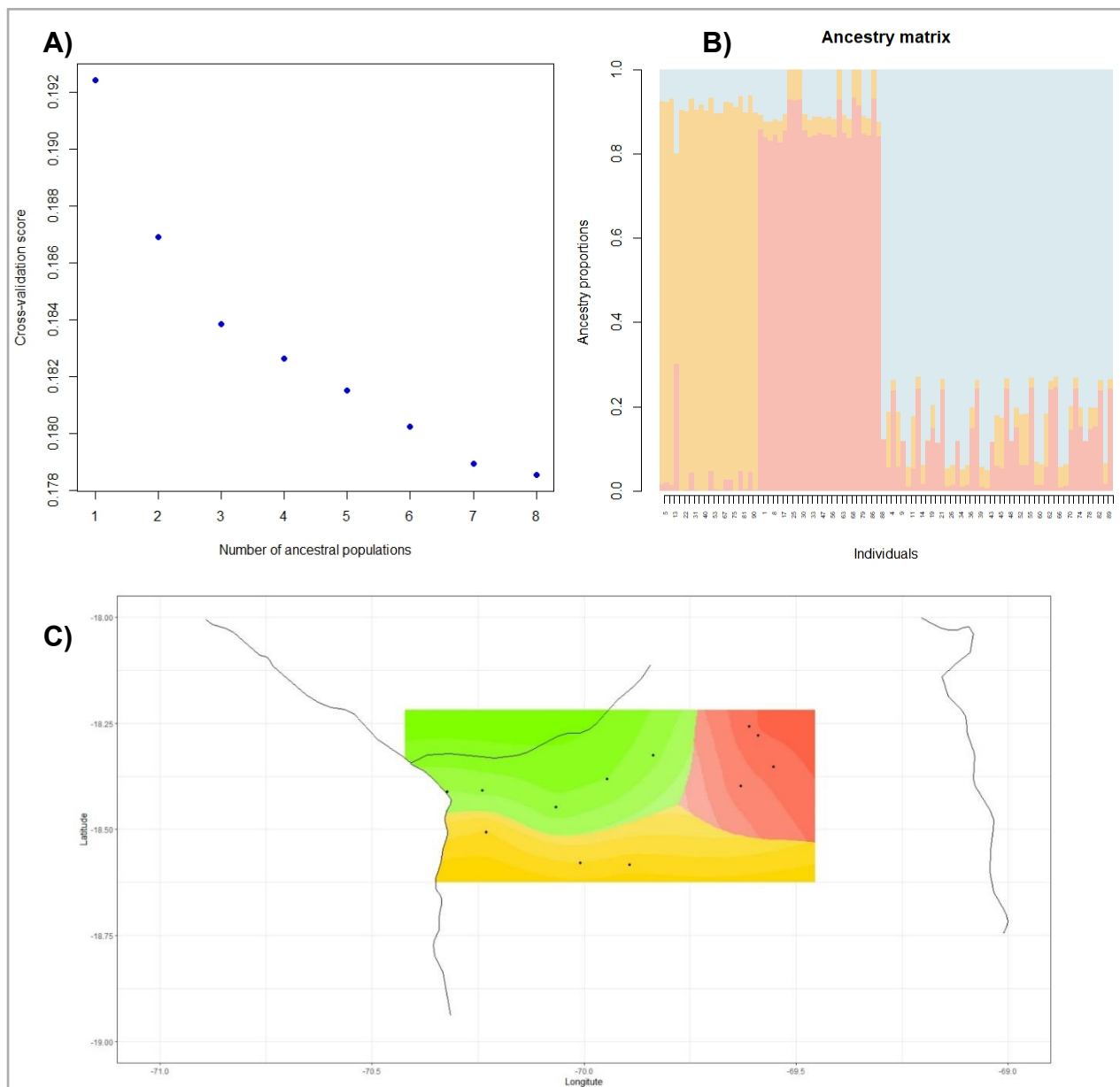


Figura 6. Resultados obtenidos en Tess3R. Representación de validación para número de poblaciones ancestrales (A). Matriz de ancestría con proporciones de asignación para cada individuo (B) y representación de distribución geográfica de tres poblaciones (C): Lluta (verde), Azapa (amarillo), precordillera (rojo).

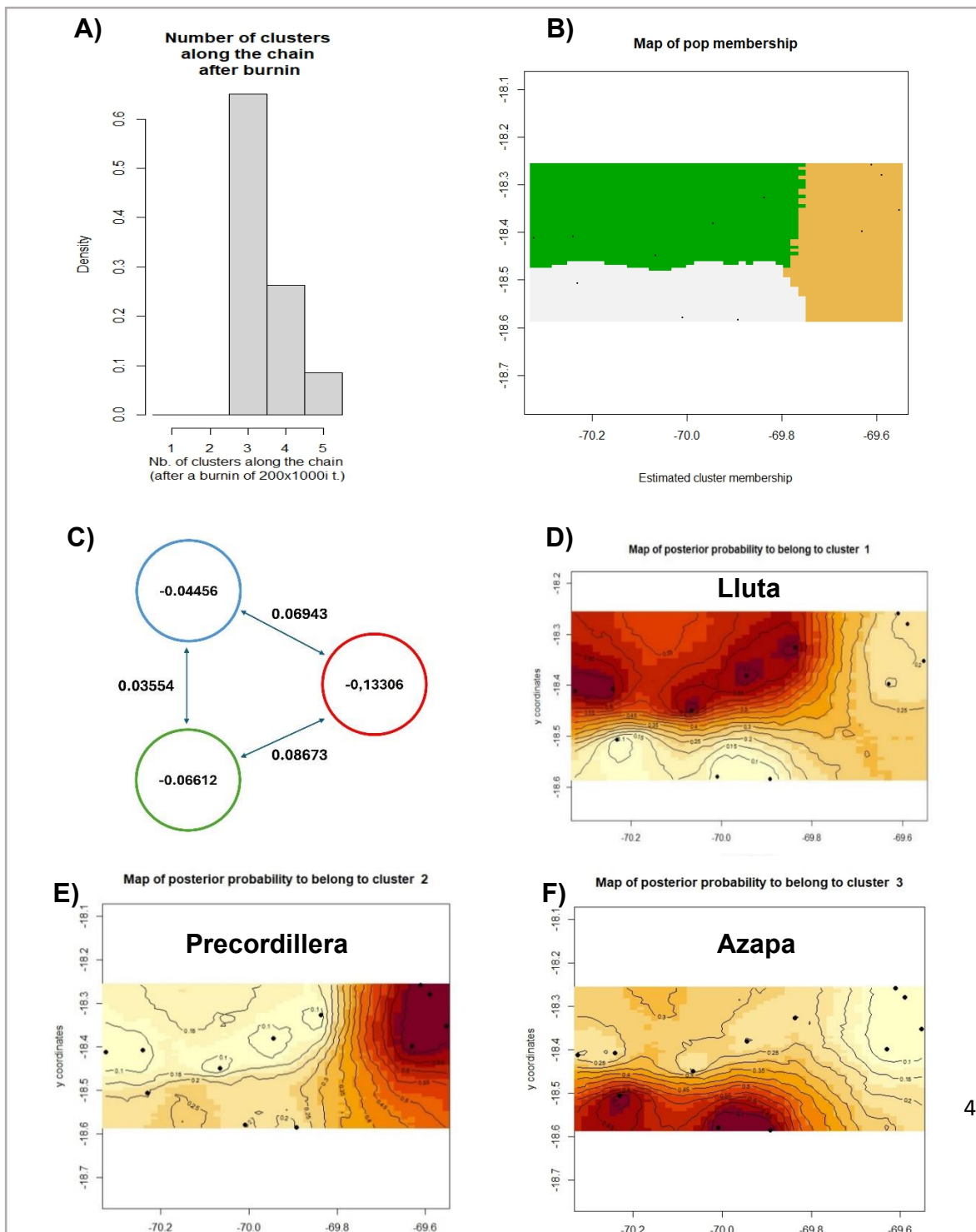


Figura 7. Resultados de Geneland. A) Densidad de probabilidades de clusters, B) mapa de distribución geográfica de poblaciones, C) Diagrama con valores F_{is} (dentro de círculo) y F_{st} entre poblaciones (azul=Lluta, rojo=precordillera, verde=Azapa), D-F) Mapas de distribución de probabilidades posteriores para las tres poblaciones (color rojo indica poblaciones).

2. Distancias genéticas y F_{st} pareados entre localidades de muestreo:

Las distancias genéticas (Nei, 1972) y F_{st} (Weir & Cockerman, 1984) entre localidades de muestreo son mostradas en las figuras 8 y 9, respectivamente. Se puede observar que ambos índices son bajos, incluso algunos valores F_{st} negativos, lo que lleva a concluir que ha existido una alta dispersión de individuos entre localidades. Al agruparlos por las tres grandes localidades tampoco se observan índices que permitan sugerir presencia de estructuración, aunque sea leve, contrastando con los resultados obtenidos mediante métodos de asignación individual.

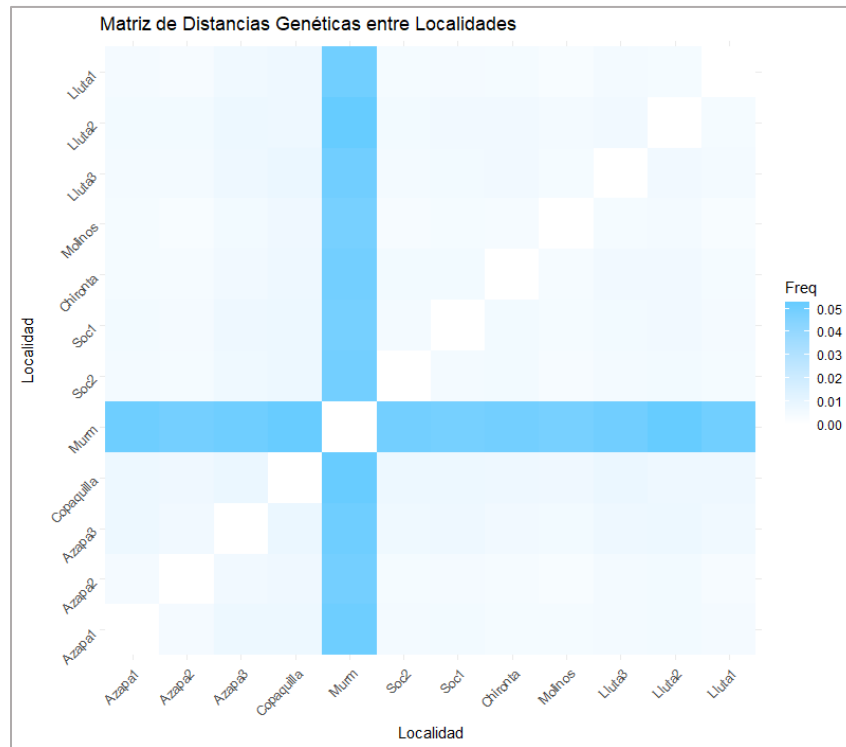


Figura 8. Distancias genéticas (Nei, 1972) entre localidades.

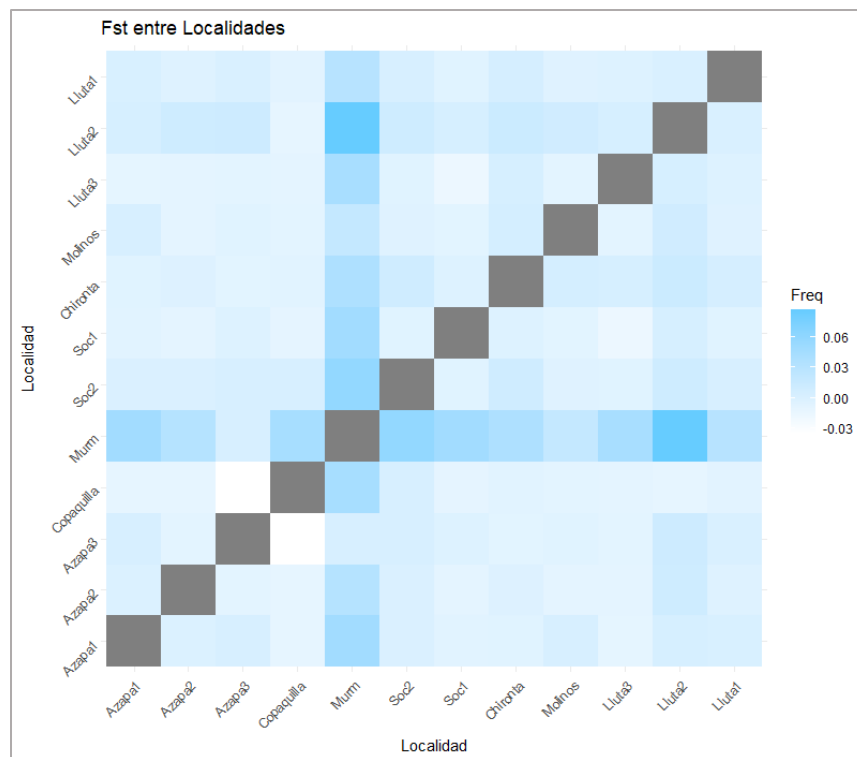


Figura 9. Fst (Weir & Cockerham, 1984) entre localidades.

3. Análisis de aislamiento por distancia y aislamiento por la ruta del menor costo:

Acorde a los resultados anteriores, no se observa correlación entre las distancias genéticas y las distancias geográficas lineales (Fig. 10), ni entre las distancias genéticas y las distancias de menor costo (Fig. 11). Esto podría indicar altos niveles de flujo génico dentro de las tres grandes localidades, superior al flujo génico entre localidades. Según esto, podríamos deducir que la reducción drástica de vegetación (plantas hospederas) puede limitar de manera moderada la dispersión entre las tres grandes localidades.

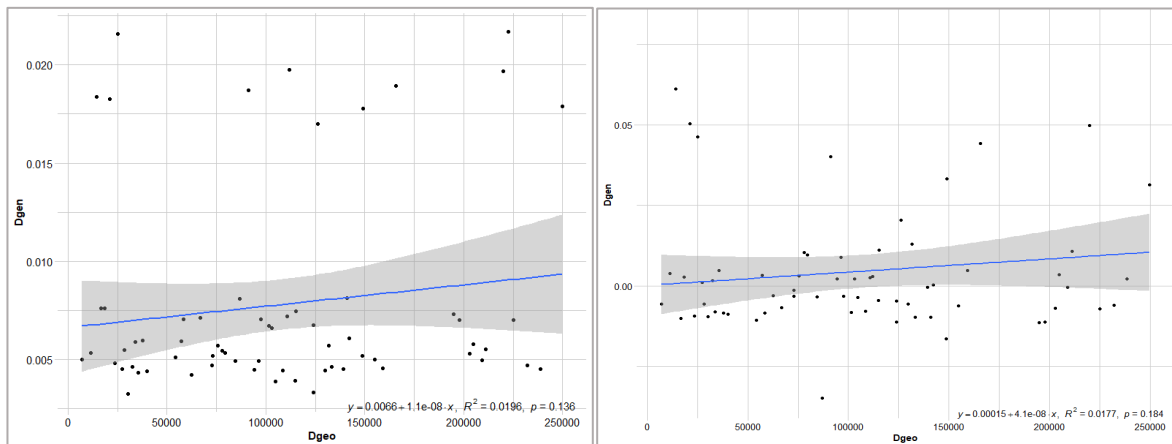


Figura 10. Análisis de aislamiento por distancia geográfica. Eje X representa distancia geográfica lineal (metros), eje Y representa distancia genética (izquierda) y Fst (derecha) entre localidades de muestreo.

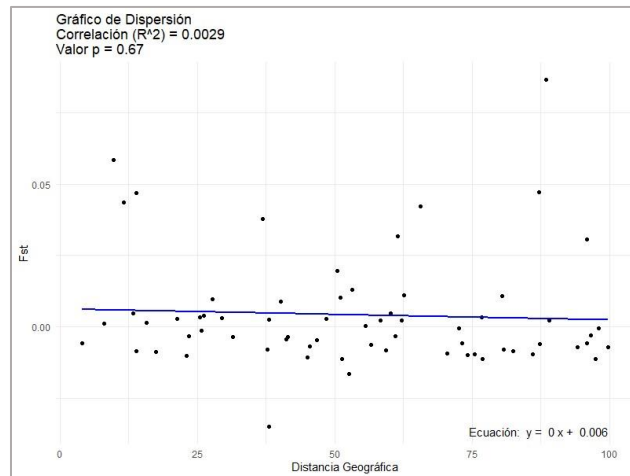


Figura 11. Análisis de aislamiento por ruta del menor costo. Eje X representa distancia geográfica (km) y eje Y representa distancia genética.

4. Cálculo de tasas migratorias entre poblaciones y tamaños poblacionales.

Se estimaron los valores de Theta (Θ) y las tasas de migración histórica (M) entre las tres poblaciones analizadas: Azapa, Lluta y precordillera. Los valores medios de Theta fueron 0.04243 para Azapa, 0.04829 para Lluta y 0.04045 para precordillera, lo que sugiere tamaños efectivos de población relativamente similares entre las tres localidades. En cuanto a las tasas medias de migración histórica, se observa una diferencia clara en la dirección desde valles hacia precordillera, siendo mayores que el resto (Fig. 12).

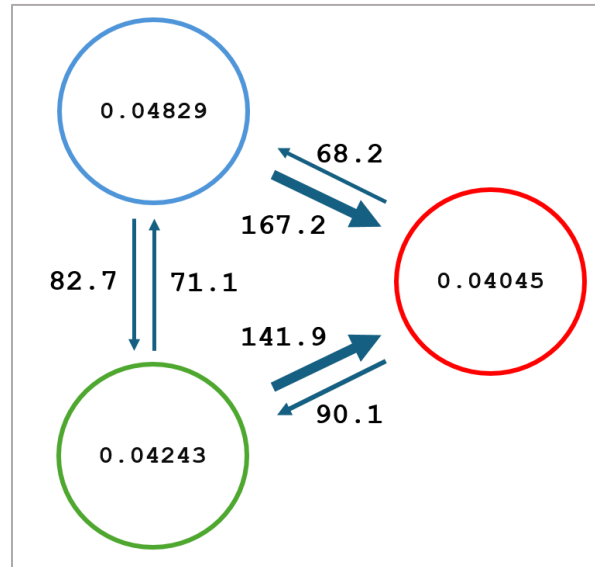


Figura 12. Resultado obtenido en Migrate-N. Tamaños poblacionales (Θ) de cada población (círculos) y tasas migratorias históricas entre ellas (flechas). Azapa (verde), Lluta (azul) y precordillera (rojo).

DISCUSIÓN

1. Estructura genética poblacional y patrones espaciales.

Los análisis de estructura poblacional que incorporan información espacial evidencian la presencia de tres agrupamientos genéticos bien definidos, correspondientes a las localidades de Azapa, Lluta y la precordillera, concordando parcialmente con los resultados obtenidos con el marcador COI en los análisis de delimitación, en los cuales los valles costeros fueron considerados como una única población. Este tipo de enfoques ha demostrado ser particularmente sensible para detectar patrones de diferenciación asociados a barreras geográficas y/o ecológicas al flujo génico (e.g., Chen et al., 2007; François & Durand, 2010; Guillot et al., 2005).

En el presente caso, la marcada disminución o ausencia de vegetación hospedera en zonas intermedias entre poblaciones podría actuar como una barrera a la dispersión, favoreciendo la acumulación de diferencias genéticas a pesar del bajo grado de diferenciación observado. En este contexto, la estructuración genética detectada parecería estar más asociada a la presencia de barreras geográfico-ecológicas que a la distancia geográfica *per se*.

Los valores de F_{st} entre poblaciones fueron bajos a moderados, lo que sugiere una diferenciación débil. Este patrón puede deberse a procesos de diferenciación reciente, en el cual aún persiste señal de flujo génico entre poblaciones, y/o a una continua pero limitada dispersión (e.g. Slatkin, 1987; Hutchison & Templeton, 1999). Asimismo, los bajos valores de F_{st} y distancias genéticas entre localidades de muestreo—incluso negativos en algunos casos— sugieren una conectividad genética elevada, lo cual podría ser resultado de una moderada-alta capacidad dispersiva de la especie o de un pasado reciente con poblaciones más conectadas.

Los valores de F_{is} obtenidos para las tres poblaciones fueron levemente negativos, lo que indica un ligero exceso de heterocigotos en relación con lo esperado bajo equilibrio de Hardy-Weinberg. Esto sugiere bajos niveles de endogamia y podría reflejar un cierto grado de mezcla genética reciente o aleatoriedad inherente a poblaciones con baja estructuración genética.

2. Baja diferenciación genética y ausencia de aislamiento por distancia y por ruta de menor costo.

Los valores bajos de F_{st} entre localidades cercanas indican un alto grado de conectividad genética, lo cual podría explicarse por la capacidad dispersiva de la especie y la continuidad del hábitat donde se distribuye cada población. La especie parece desplazarse eficientemente dentro de valles o zonas precordilleranas, donde la vegetación hospedera está presente de forma más continua. Estos resultados concuerdan parcialmente con los obtenidos mediante el marcador COI, ya que este último evidenció niveles de diferenciación genética considerablemente más altos entre poblaciones, lo que podría estar asociado, en parte, a diferencias en la capacidad de dispersión entre machos y hembras (e.g. Toews & Brelsford, 2012).

La ausencia de patrones de aislamiento por distancia (IBD) y aislamiento por ruta del menor costo (LCP) refuerza esta idea. No se observó una correlación significativa entre distancias geográficas —ni lineales ni de menor costo— y las distancias genéticas. Este hallazgo es consistente con trabajos que han demostrado que, en especies móviles o con adaptaciones específicas a hábitats parcheados, la conectividad genética puede mantenerse aun cuando existen distancias geográficas considerables (e.g. Cushman, 2006; McRae, 2006; Wang & Bradburd, 2014).

En consecuencia, se plantea que la dispersión de esta especie no está fuertemente limitada por la distancia geográfica en sí, sino por la disponibilidad de hábitat adecuado. Las zonas áridas que separan las poblaciones, con una reducción considerable de plantas hospederas, actúan como barreras limitando el flujo génico.

3. Tamaño efectivo y migración: ¿existe una población fuente?

Los resultados sugieren una estructura poblacional con tamaños efectivos similares entre Azapa, Lluta y la precordillera, de acuerdo con los valores estimados de Theta (Θ). Dado que Θ está directamente relacionado con el tamaño efectivo poblacional (N_e) (Beerli, 2016), estos resultados sugieren que las tres poblaciones tendrían tamaños efectivos similares, lo que podría reflejar historias demográficas comparables en tiempos recientes. En términos generales, valores similares de Θ han sido interpretados como indicativos de tamaños efectivos poblacionales semejantes y ausencia de diferencias demográficas marcadas entre poblaciones, particularmente en enfoques coalescentes de migración y conectividad poblacional (Beerli, 2016), así como en estudios orientados a inferir cambios históricos en tamaños efectivos poblacionales (Nikolic & Chevalet, 2014).

En cuanto a las tasas de migración histórica (M), se observaron flujos génicos bidireccionales entre todas las poblaciones, aunque destacaron valores particularmente elevados desde Lluta y Azapa hacia la precordillera. Este patrón podría sugerir que las poblaciones de los valles han actuado históricamente como posibles poblaciones fuente, aportando de forma significativa al acervo genético de las poblaciones de altura. No obstante, la presencia de flujos en dirección contraria (por ejemplo, desde precordillera hacia valles costeros) revela una dinámica más compleja y bidireccional, probablemente influida por factores ambientales y ecológicos heterogéneos en el espacio y el tiempo.

En conjunto, estos resultados son consistentes con escenarios donde poblaciones distribuidas a lo largo de gradientes ambientales mantienen conectividad mediante flujo génico, sin que una población actúe de manera dominante como fuente única

(e.g., Slatkin, 1987; Lowe & Allendorf, 2010). En este contexto, ninguna población parece haber estado completamente aislada ni haber dominado demográficamente.

4. Implicancias en conservación

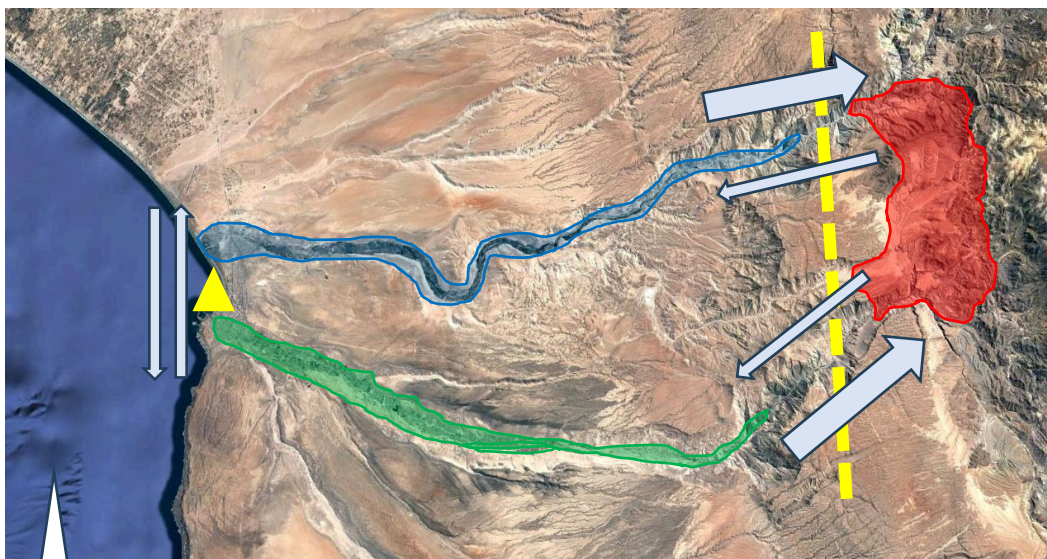
Los hallazgos obtenidos tienen importantes implicancias para la conservación y manejo de esta especie. La existencia de una estructuración incipiente, aun con bajos valores de F_{st} , sugiere que las tres poblaciones albergan componentes genéticos únicos que podrían diferenciarse más fuertemente en el futuro si el nivel de aislamiento persiste. Sin embargo, es importante considerar también los resultados obtenidos con el marcador COI, los cuales indican una concordancia parcial entre los patrones observados con ambos tipos de marcadores, ya que sólo los SNPs permitieron diferenciar los dos valles costeros (Azapa y Lluta) y, al igual que el marcador COI, diferenciaron la población de la precordillera. En conjunto, los resultados obtenidos con ambos tipos de marcadores sugieren la existencia de cuatro poblaciones alopátricas distribuidas en precordillera, Azapa, Lluta y Pampa del Tamarugal. Esta información podría ser relevante para futuros programas de conservación, considerando estas poblaciones como potenciales unidades evolutivamente significativas (ESUs). Considerando este escenario, la dependencia de vegetación hospedera para su dispersión resalta la relevancia de mantener corredores ecológicos que conecten los valles y la precordillera. La pérdida de estos corredores -ya sea por desertificación, agricultura o urbanización- podría intensificar la fragmentación y comprometer la variabilidad genética a largo plazo de las poblaciones. Finalmente, la población de Pampa del Tamarugal presenta una condición de aislamiento geográfico más extrema respecto del resto de las

localidades estudiadas, lo que podría aumentar su vulnerabilidad frente a perturbaciones ambientales o pérdida de hábitat.

5. Limitaciones y perspectivas futuras

Si bien los resultados aportan información valiosa sobre la estructura genética poblacional, la baja diferenciación genética observada con SNPs, en contraste con los niveles de diferenciación considerablemente más altos detectados con el marcador COI, sugiere que estudios futuros deberían incorporar un mayor número de marcadores y una cobertura espacial más amplia, con el fin de esclarecer esta diferencia, posiblemente asociada, en parte, a una capacidad de dispersión diferencial entre machos y hembras, y detectar otros patrones de estructuración genética que podrían no haber sido captados en el presente estudio.

Asimismo, en caso de observarse una estructuración genética espacial más fuerte, sería recomendable incorporar variables ecológicas (como especies de plantas hospederas y clima) al modelado espacial. Esto podría mejorar la precisión en la identificación de barreras al flujo génico y brindar un panorama más completo de los factores que limitan la dispersión en esta especie.



25 Km

Figura 13. Representación de patrón de estructura poblacional propuesto de acuerdo con resultados. Tres poblaciones: Lluta (azul), Azapa (verde) y precordillera (rojo). Discontinuidades indicadas en color amarillo: zona costera (triángulo) y zona precordillerana (línea discontinua). Flujo génico histórico representado por flechas, tamaño acorde a magnitud.

CONCLUSIONES

1. La estructura genética de *P. polyphaga* presenta una diferenciación asociada a barreras geográficas del paisaje del desierto de Atacama (evidencia a favor de H1).
2. No se detectaron loci bajo selección, lo que sugiere que la diferenciación observada está principalmente asociada a procesos neutrales (no hay evidencia a favor de H2).
3. No se detectó aislamiento por distancia ni por rutas de menor costo, lo que sugiere que la diferenciación genética no está explicada por la distancia geográfica en el área de estudio (evidencia a favor de H3).

4. El patrón histórico de migración sugiere un mayor flujo génico desde poblaciones de los valles hacia la población precordillerana (no hay evidencia a favor de H4).
5. La configuración del paisaje del desierto de Atacama ha dejado huellas detectables en la historia microevolutiva de la especie.

DISCUSION GENERAL

La integración de los resultados obtenidos en ambos capítulos permite comprender de manera más amplia los procesos evolutivos que han dado forma a la diversidad genética de *Physocleora polyphaga* Vargas-Ortiz & Parra sp. nov. en el Desierto de Atacama y ambientes altoandinos asociados. En conjunto, los hallazgos evidencian una historia evolutiva influida simultáneamente por factores históricos de diversificación, características ecológicas propias de la especie y la configuración heterogénea del paisaje desértico.

En primer lugar, la delimitación de *P. polyphaga* sp. nov. a partir de distancias genéticas y análisis filogenéticos confirma la existencia de una especie cuya

distribución comprende distintos pisos altitudinales. La monofilia recíproca de las poblaciones muestreadas sugiere que la estructura espacial de los haplotipos refleja una señal de diversificación asociada al paisaje. Este patrón coincide con estudios previos en otras polillas del Desierto de Atacama, donde la compleja historia geográfica y climática del territorio ha promovido la diferenciación genética entre poblaciones. Sin embargo, la confirmación de que *Physocleora* Warren 1897 no constituye un género monofilético subraya la necesidad de mejorar la delimitación taxonómica del grupo mediante una mayor representación de especies y un muestreo más amplio.

En el contexto de esta delimitación, el segundo capítulo aporta información sobre la estructura genética poblacional de la especie. Los análisis que incorporan información espacial evidencian la presencia de tres agrupamientos genéticos bien definidos (Azapa, Lluta y precordillera), lo que indica que la estructuración genética de la especie está asociada a la configuración del paisaje. Esta correspondencia entre estructura genética y geografía coincide parcialmente con el patrón espacial de haplotipos observado en el capítulo 1, ya que ambos marcadores diferenciaron la precordillera de los valles costeros, pero sólo los SNPs permitieron detectar una diferenciación leve entre Azapa y Lluta, reforzando la idea de que el paisaje— particularmente la presencia y continuidad de la vegetación hospedera— desempeña un papel más determinante en la diferenciación genética que la distancia geográfica per se.

La comparación directa entre marcadores mitocondriales (COI) y nucleares (SNPs), restringida al área de muestreo común (precordillera, Azapa y Lluta), permite

precisar esta interpretación. El marcador COI evidencia una fuerte diferenciación entre la precordillera y los valles, con monofilia recíproca, lo que sugiere un evento histórico de aislamiento relativamente antiguo, aunque no distingue entre Azapa y Lluta. En contraste, los SNPs revelan una estructura más fina, diferenciando tres poblaciones, aunque con niveles de diferenciación bajos a moderados. Este patrón indica que la principal discontinuidad al flujo génico estaría asociada al gradiente altitudinal entre la precordillera y los valles, probablemente mediada por la ausencia o escasa cobertura vegetal entre localidades (e.g. Luebert & Plischoff, 2006), mientras que la menor diferenciación genética entre Azapa y Lluta podría deberse a una restricción más reciente al flujo génico entre estos sistemas o, alternativamente, a la persistencia de un flujo génico moderado favorecida por una mayor continuidad de vegetación costera entre localidades.

La leve diferenciación observada entre Azapa y Lluta podría explicarse por una dinámica de disturbios en ecosistemas ribereños, donde eventos como inundaciones generan pérdida de biomasa vegetal y reducciones locales en el tamaño poblacional, favoreciendo procesos de deriva génica (e.g. Banks et al., 2013; Davies et al., 2016). Sin embargo, estos efectos serían contrarrestados por procesos recurrentes de recolonización que restablecen la conectividad genética, manteniendo bajos niveles de diferenciación. Este tipo de dinámica ha sido documentado en sistemas naturales y en Lepidoptera, donde ciclos de extinción y recolonización moldean la estructura genética poblacional (e.g. Saccheri et al., 1998; Vandewoestijne & Baguette, 2002).

Otra interpretación complementaria de los patrones parcialmente diferentes observados entre los marcadores es que la discordancia mitonuclear podría explicarse no solo por diferencias en las escalas temporales de diferenciación poblacional, sino también por procesos biológicos, como la dispersión diferencial entre sexos (e.g. Toews & Brelsford, 2012; Bennet et al., 2013). En este escenario, una mayor dispersión de machos favorecería la homogeneización nuclear entre poblaciones, mientras que la menor movilidad de hembras mantendría la estructura en el ADN mitocondrial, patrón observado en este estudio, donde el marcador COI reflejó mayores niveles de diferenciación genética entre poblaciones que los SNPs. Este mecanismo ha sido ampliamente documentado como generador de discordancia entre marcadores y es consistente con patrones observados en Lepidoptera (Sielezniew et al., 2011; Roe et al., 2023). Estudios recientes basados en simulaciones han reforzado este marco conceptual, evidenciando el efecto de la dispersión diferencial entre sexos en la generación de patrones de discordancia mito-nuclear (Giannelli et al., 2025).

La ausencia de aislamiento por distancia ni por ruta de menor costo sugiere que la especie mantiene un flujo génico relativamente alto en el área de estudio o, al menos, dentro de las tres grandes localidades. Estos resultados, junto con los valores levemente negativos de F_{is} , indican poblaciones genéticamente conectadas, con niveles bajos de endogamia y posible mezcla reciente.

Desde una perspectiva evolutiva y de conservación, el conjunto de resultados sugiere la existencia de procesos de diferenciación poblacional que operan a distintas escalas espaciales y temporales, posiblemente impulsado por la

fragmentación del hábitat y la heterogeneidad ambiental del desierto. Aunque el flujo génico reciente detectado mediante SNPs parece relativamente alto, los patrones espaciales detectados advierten que cambios en la distribución de la vegetación hospedera—por efecto de desertificación, expansión agrícola o urbanización—podrían intensificar la divergencia poblacional.

En conjunto, la estructura genética observada refleja la interacción entre procesos históricos de aislamiento y dinámicas recientes de conectividad poblacional en un sistema metapoblacional inserto en un paisaje altamente dinámico. La concordancia parcial entre COI y SNPs indica que estos marcadores capturan procesos evolutivos que operan a distintas escalas espaciales y temporales, proporcionando una visión complementaria de la historia evolutiva de la especie.

Finalmente, ambos capítulos coinciden en la necesidad de ampliar el muestreo espacial y el uso de marcadores moleculares adicionales, lo que permitiría evaluar con mayor resolución los factores—históricos y actuales—que estructuran la diversidad genética de la especie. En consecuencia, esta tesis no solo describe una nueva especie, sino que también aporta una base conceptual relevante para comprender la evolución y conservación de insectos en ambientes áridos dinámicos.

BIBLIOGRAFIA

Capítulo 1.

Bouckaert R, Vaughan TG, Barido-Sottani J, Duchêne S, Fourment M, Gavryushkina A, Heled J, Jones G, Kühnert D, De Maio N, Matschiner M, Mendes FK, Müller NF, Ogilvie HA, Du Plessis L, Poppinga A, Rambaut A, Rasmussen D, Siveroni I, Drummond AJ (2019) BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. PLoS Computational Biology, 15(4), 1–28. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006650>

Brehm G, Murillo-ramos L, Sihvonen P, Hausmann A, Schmidt BC, Öunap E, Moser A, Mörtter R, Bolt D, Bodner F, Lindt A (2019) New World geometrid moths (Lepidoptera : Geometridae): Molecular phylogeny , biogeography , taxonomic updates and description of 11 new tribes. 77(3), 457–486. <https://doi.org/10.26049/ASP77-3-2019-5>

Brower AVZ (1994) Rapid morphological radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 91(14), 6491–6495. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.14.6491>

Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to

- perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564–567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- 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. *International Journal of Biological Macromolecules*, 294–299. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.135>
- Guillot G, Estoup A, Mortier F, Cosson JF (2005) A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics*, 170(3), 1261–1280. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.033803>
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B* 270:313–321
- Kozlov AM, Darriba D, Stamatakis A (2019) RAXML-NG : a fast , scalable and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference. 35(May), 4453–4455. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz305>
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K (2018) MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Librado P, Rozas J (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451–1452. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187>
- McDonald JH, Kreitman M (1991) Adaptive protein evolution at the Adh locus in *Drosophila*. *Nature*, 351, 652–654.
- Meade A, Pagel M. BayesTrees, Version 1.3. 2011. Available online: <http://www.evolution.reading.ac.uk/BayesTrees.html/>
- Morrone JJ (2015) Biogeographical regionalisation of the Andean Region. *Zootaxa* 3936(2):207–236. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3936.2.3>
- Murillo-Ramos L, Chazot N, Sihvonen P, Öunap E, Jiang N, Han H, Clarke JT, Davis RB, Tammaru T, Wahlberg N (2021) Molecular phylogeny, classification, biogeography and diversification patterns of a diverse group of moths (Geometridae: Boarmiini). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 162(March). <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2021.107198>
- Nazari V, Sperling FAH (2007) Mitochondrial DNA divergence and phylogeography in western Palaearctic Parnassiinae (Lepidoptera: Papilionidae): How many

- species are there? *Insect Systematics and Evolution*, 38(2), 121–138.
<https://doi.org/10.1163/187631207788783996>
- Pagel M, Meade A (2004) A phylogenetic mixture model for detecting pattern-heterogeneity in gene sequence or character-state data. *Systematic Biology*, 53(4), 571–581. <https://doi.org/10.1080/10635150490468675>
- Pitkin LM (2002) Neotropical ennomine moths: A review of the genera (Lepidoptera: Geometridae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 135(2–3), 121–401.
<https://doi.org/10.1046/j.1096-3642.2002.00012.x>
- Pons J, Barraclough TG, Gomez-Zurita J, Cardoso A, Duran DP, Hazell S, Kamoun S, Sumlin WD, Vogler AP (2006) Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology*, 55(4), 595–609.
<https://doi.org/10.1080/10635150600852011>
- Puillandre N, Lambert A, Brouillet S, Achaz G (2012) ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*, 21(8), 1864–1877. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05239.x>
- Rajaei H, Hausmann A, Scoble M, Wanke D, Plotkin D, Brehm G, Murillo-Ramos L, Sihvonen P (2022) An online taxonomic facility of Geometridae (Lepidoptera), with an overview of global species richness and systematics. *Integr Syst* 5(2):145–1923. <https://doi.org/10.18476/2022.577933>
- Rambaut A, Suchard MA, Xie D, Drummond AJ (2014) Tracer v1.6. Available from <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>
- Ratnasingham S, Hebert PDN (2007) BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Mol Ecol Resour* 7:355–364.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01678.x>
- Ratnasingham S, Wei C, Chan D, Agda J, Agda J, Ballesteros-Mejia L, Ait Boutou H, El Bastami ZM, Ma E, Manjunath R, Rea D, Ho C, Telfer A, McKeowan J, Rahulan M, Steinke C, Dorsheimer J, Milton M, Hebert PDN (2024) BOLD v4: a centralized bioinformatics platform for DNA-based biodiversity data. In *DNA barcoding: methods and protocols*. Chapter 26. Springer US, New York, pp 403–441
- Reid NM, Carstens BC (2012) Phylogenetic estimation error can decrease the accuracy of species delimitation: A Bayesian implementation of the general mixed Yule-coalescent model. *BMC Evolutionary Biology*, 12(1), 1–11.
<https://doi.org/10.1186/1471-2148-12-196>
- Robinson G (1976) The preparation of slides of Lepidoptera genitalia with special reference to the Microlepidoptera. *Entomologists Gaz* 27:127–132

- van Nieukerken EJ, Kaila L, Kitching IJ, Kristensen NP, Lees DC et al (2011) Order Lepidoptera Linnaeus, 1758. In: Zhang ZQ (ed) Animal biodiversity: an outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. Zootaxa 3148:212–221
- Vargas HA (2007) Dos nuevas especies de Iridopsis Warren (Lepidoptera, Geometridae) del norte de Chile. Revista Brasileira de Entomologia, 51(2), 138–141. <https://doi.org/10.1590/s0085-56262007000200003>
- Vargas HA (2010) Uma nova espécie de Glena Hulst (Lepidoptera, Geometridae) do norte do Chile. Revista Brasileira de Entomologia, 54(1), 42–44. <https://doi.org/10.1590/S0085-56262010000100005>
- Vargas-Ortiz M, Aliaga-Pichihua G, Lazo-Rivera A, Cerdeña J, Farfán J, Huanca-Mamani W, Vargas HA (2020) Cryptic diversity in the monotypic neotropical micromoth genus angelabella (Lepidoptera: Gracillariidae) in the Peru-Chile desert. Insects, 11(10), 1–13. <https://doi.org/10.3390/insects11100677>
- Vargas-Ortiz M, Bobadilla D, Huanca-Mamani W, Vargas HA (2018) Genetic divergence of isolated populations of the native micromoth Bucculatrix mirnae (Lepidoptera: Bucculatricidae) in the arid environments of Northern Chile. Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapping, Sequencing, and Analysis, 29(8), 1139–1147. <https://doi.org/10.1080/24701394.2017.1419215>
- Warren W (1897) New genera and species of Thyrididae, Epiplemididae, and Geometridae, from South and Central America and the West Indies, in the Tring Museum. Novitates Zoologicae 4: 408–507.
- Xia, X (2018) DAMBE7: New and improved tools for data analysis in molecular biology and evolution. Molecular Biology and Evolution, 35(6), 1550–1552. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy073>
- Xia X, Xie Z, Salemi M, Chen L, Wang Y (2003) An index of substitution saturation and its application. Molecular Phylogenetics and Evolution, 26(1), 1–7. [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(02\)00326-3](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(02)00326-3)
- Zhang J, Kapli P, Pavlidis P, Stamatakis A (2013) A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. Bioinformatics, 29(22), 2869–2876. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt499>

Capítulo 2.

Avice JC. 2000. Phylogeography: The History and Formation of Species. Harvard University Press.

- Balkenhol N S, Cushman S A, Storfer A, Waits L P. 2016. Landscape Genetics: Concepts, Methods, Applications. John Wiley & Sons, Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex, PO19 8SQ, UK
- Banks S C, Cary G J, Smith A L, Davies I D, Driscoll D A, Gill A M, Lindenmayer D B, Peakall R. 2013. How Does Ecological Disturbance Influence Genetic Diversity? *Trends in Ecology and Evolution* 28(11): 670–79.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2013.08.005>
- Baranzelli C, Johnson L A, Cosacov A. 2014. Historical and ecological divergence among populations of *Monttea chilensis* (Plantaginaceae), an endemic endangered shrub bordering the Atacama Desert, Chile. *Evolutionary Ecology* 28: 751–74. <https://doi.org/10.1007/s10682-014-9694-y>
- Bartz M, Walk J, Binnie S A, Brill D, Stauch G, Lehmkuhl F, Hoffmeister D, Brückner H. 2020. Late Pleistocene Alluvial Fan Evolution along the Coastal Atacama Desert (N Chile). *Global and Planetary Change* 190: 103091.
<https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2019.103091>
- Beerli P. 2016. Migrate Documentation Version 4.0. Florida State University, 1–58.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msp296>
- Bennett T, Pack S, Smith W & Betts MG. 2013. Sex-biased dispersal in a rare butterfly and the implications for its conservation. *Journal of insect conservation*. doi: 10.1007/s10841-013-9577-5
- Bernays E A, Chapman R F. 1994. Host-Plant Selection by Phytophagous Insects. Contemporary Topics in Entomology 2. Chapman & Hall, An International Thomson Publishing Company
- Boyle J, Start D. 2020. Plasticity and Habitat Choice Match Colour to Function in an Ambush Bug. *Functional Ecology* no. November 2019: 1–8.
<https://doi.org/10.1111/1365-2435.13528>
- Brakefield P M, French V. 1999. Butterfly Wings: The Evolution of Development of Colour Patterns. *Bioessays* 21: 391–401
- Brehm G, Colwell R K, Kluge J, Barva Transect Costa Rica, La Selva. 2007. The Role of Environment and Mid-Domain Effect on Moth Species Richness along a Tropical Elevational Gradient. *Global Ecology and Biogeography* 16: 205–19.
<https://doi.org/10.1111/j.1466-822x.2006.00281.x>
- Brehm G, Su D, Fiedler K. 2003. Unique Elevational Diversity Patterns of Geometrid Moths in an Andean Montane Rainforest. *Ecography* 26: 456–66

- Catchen J, Hohenlohe P, Bassham S, Amores A, Cresko W. 2013. Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Molecular Ecology*
- Caye K, Deist T, Martins H, Michel O, Francois O. 2016. TESS3: fast inference of spatial population structure and genome scans for selection. *Molecular Ecology Resources* 16(2): 540–48. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12471>
- Ceccarelli S, Pizarro-Araya J, Ojanguren-Affilastro A. 2016. Phylogeography and Population Structure of Two *Brachistosternus* Species (Scorpiones: Bothriuridae) from the Chilean Coastal Desert – the Perils of Coastal Living. *Biological Journal of the Linnean Society*
- Correa C, Pastenes L, Sallaberry M, Veloso A. 2010. Phylogeography of *Rhinella Spinulosa* (Anura: Bufonidae) in Northern Chile. *Amphibia-Reptilia* 31: 85–96
- Dahlhoff E P, Dahlhoff V C, Grainger C A, Zavala N A, Otepola-Bello D, Sargent B A, Roberts K T, Heidl S J, Smiley J T, Rank N E. 2019. Getting Chased up the Mountain: High Elevation May Limit Performance and Fitness Characters in a Montane Insect. *Functional Ecology* 33(5): 809–18. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13286>
- Davies ID, Cary GJ, Landguth EL, Lindenmayer DB & Banks SC. 2016. Effects of disturbance on genetic diversity in animal populations: a meta-analysis. *Molecular Ecology*. doi: 10.1111/mec.13759
- Davies I D, Cary G J, Landguth E L, Lindenmayer D B, Banks S C. 2016. Implications of Recurrent Disturbance for Genetic Diversity. *Ecology and Evolution* 6(4): 1181–96. <https://doi.org/10.1002/ece3.1948>
- Despland E. 2014. Butterflies of the High-Altitude Atacama Desert: Habitat Use and Conservation. *Frontiers in Genetics* 5: 1–8. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00334>
- Despland E, Humire R, Martín S. 2012. Species Richness and Phenology of Butterflies along an Altitude Gradient in the Desert of Northern Chile. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research* 44(4): 423–31. <https://doi.org/10.1657/1938-4246-44.4.423>
- Foll M, Gaggiotti O. 2008. A Genome-Scan Method to Identify Selected Loci Appropriate for Both Dominant and Codominant Markers: A Bayesian Perspective. *Genetics* 180(2): 977–93. <https://doi.org/10.1534/genetics.108.092221>
- François O, Durand E. 2010. Spatially explicit Bayesian clustering models in population genetics. *Molecular Ecology Resources* 10(5): 773–784

- Free C L, Baxter G S, Dickman C R, Leung L K P. 2013. Resource Pulses in Desert River Habitats: Productivity-Biodiversity Hotspots, or Mirages? *PLoS ONE* 8(10): 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072690>
- Frichot E, Mathieu F, Trouillon T, Bouchard G, François O. 2014. Fast and efficient estimation of individual ancestry coefficients. *Genetics* 196: 973–983
- Gain C, François O. 2021. LEA 3: Factor models in population genetics and ecological genomics with R. *Molecular Ecology Resources* 21(8): 2738–48
- Giannelli F, Ferrer Obiol J & Trucchi E. 2025. Sex-biased dispersal drives mitochondrial nuclear discordance in simulated populations. *Journal of Heredity*. <https://doi.org/10.1093/jhered/esag018>
- Grytnes J A, McCain C M. 2007. Elevational Trends in Biodiversity. *Encyclopedia of Biodiversity: Second Edition*, 149–54. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384719-5.00227-6>
- Guerrero P C, Rosas M, Arroyo M T K, Wiens J J. 2013. Evolutionary Lag Times and Recent Origin of the Biota of an Ancient Desert (Atacama-Sechura). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110(28): 11469–74. <https://doi.org/10.1073/pnas.1308721110>
- Guillot G, Mortier F, Estoup A. 2005. GENELAND: a computer package for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes* 5(3): 712–715
- Guillot G, Estoup A, Mortier F, Cosson J F. 2005. A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics* 170(3): 1261–1280
- Gutiérrez J R, López-Cortés F, Marquet P A. 1998. Vegetation in an Altitudinal Gradient along the Rio Loa in the Atacama Desert of Northern Chile. *Journal of Arid Environments* 40(4): 383–99. <https://doi.org/10.1006/jare.1998.0462>
- Hanski I, Gaggiotti O E. 2004. *Ecology, Genetics and Evolution of Metapopulations*. Elsevier Academic Press
- Hartley A, Chong G, Houston J, Mather A. 2005. 150 Million Years of Climatic Stability - from Atacama Desert, Chile. *Journal of the Geological Society, London* 162: 421–24
- Hendry A P, Kinnison M T. 2001. An Introduction to Microevolution: Rate, Pattern, Process. *Genetica* 103(3): 239–48. <https://doi.org/10.1023/A>
- Hodkinson I D. 2005. Terrestrial Insects along Elevation Gradients: Species and Community Responses to Altitude. *Biological Reviews of the Cambridge*

- Philosophical Society 80(3): 489–513.
<https://doi.org/10.1017/S1464793105006767>
- Hoopes M F, Harrison S. 1998. Metapopulation, Source-Sink and Disturbance Dynamics. In: Conservation Science and Action. Blackwell Science Ltd. ISBN 978-0-865-42762-4
- Houston J. 2006. Variability of Precipitation in the Atacama Desert: Its Causes and Hydrological Impact. *International Journal of Climatology* 26(15): 2181–98. <https://doi.org/10.1002/joc.1359>
- Hutchison D, Templeton A. 1999. Correlation of pairwise genetic and geographic distance measures. *Evolution* 53: 1898–1914. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1999.tb04571.x>
- Ikeda H, Tsuchiya Y, Nagata N, Ito M T, Sota T. 2012. Altitudinal Life-Cycle and Body-Size Variation in Ground Beetles of the Genus *Carabus* (Subgenus *Ohomopterus*) in Relation to the Temperature Conditions and Prey Earthworms. *Pedobiologia* 55(2): 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2011.10.008>
- Irwin R P, Tooth S, Craddock R A, Howard A D, Baptista De Latour A. 2014. Origin and Development of Theater-Headed Valleys in the Atacama Desert, Northern Chile: Morphological Analogs to Martian Valley Networks. *Icarus* 243: 296–310. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2014.08.012>
- Jackson J M, Pimsler M L, Oyen K J, Koch-Uhuad J B, Herndon J D, Strange J P, Dillon M E, Lozier J D. 2018. Distance, Elevation and Environment as Drivers of Diversity and Divergence in Bumble Bees across Latitude and Altitude. *Molecular Ecology* 27(14): 2926–42. <https://doi.org/10.1111/mec.14735>
- Jaenike J. 1990. Host Specialization In Phytophagous Insects. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21: 243–71. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.21.1.243>
- Jombart T, Devillard S, Balloux F. 2010. Discriminant Analysis of Principal Components: A New Method for the Analysis of Genetically Structured Populations. *BMC Genetics* 11(1): 94. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94>
- Jombart T, Ahmed I. 2011. adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr521>
- Jordan T E, Herrera L C, Godfrey L V, Colucci S J, Gamboa P C, Urrutia M J, González L G, Paul J F. 2019. Isotopic Characteristics and Paleoclimate Implications of the Extreme Precipitation Event of March 2015 in Northern Chile. *Andean Geology* 46(1): 1–31. <https://doi.org/10.5027/andgeov46n1-3087>

- Karl I, Schmitt T, Fischer K. 2009. Genetic Differentiation between Alpine and Lowland Populations of a Butterfly Is Related to PGI Enzyme Genotype. *Ecography* 32: 488–96. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2008.05660.x>
- Kober F, Schlunegger F, Zeilinger G, Schneider H. 2006. Surface Uplift and Climate Change: The Geomorphic Evolution of the Western Escarpment of the Andes of Northern Chile between the Miocene and Present. *Special Paper of the Geological Society of America* 398(05): 75–86. [https://doi.org/10.1130/2006.2398\(05\)](https://doi.org/10.1130/2006.2398(05))
- Körner C. 2007. The Use of Altitude in Ecological Research. *Trends in Ecology & Evolution* 22(11): 569–74. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.09.006>
- Kuussaari M, Saarinen M, Korpela E L, Pöyry J, Hyvönen T. 2014. Higher Mobility of Butterflies than Moths Connected to Habitat Suitability and Body Size in a Release Experiment. *Ecology and Evolution* 4(19): 3800–3811. <https://doi.org/10.1002/ece3.1187>
- Latch E K, Boarman W I, Walde A, Fleischer R C. 2011. Fine-Scale Analysis Reveals Cryptic Landscape Genetic Structure in Desert Tortoises. *PLoS ONE* 6(11): 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027794>
- Leingärtner A, Krauss J, Steffan-Dewenter I. 2014. Species Richness and Trait Composition of Butterfly Assemblages Change along an Altitudinal Gradient. *Oecologia* 175(2): 613–23. <https://doi.org/10.1007/s00442-014-2917-7>
- Liu J, Hull V, Morzillo A T, Wiens J A. 2011. *Source, Sinks and Sustainability*. Cambridge University Press, Cambridge Studies in Landscape Ecology
- Lowe WH & Allendorf FW. 2010. What can genetics tell us about population connectivity? *Molecular Ecology*.
- Luebert F, Pliscoff Varas P A. 2018. *Sinopsis bioclimática y vegetal de Chile*. 2 ed. Santiago: 384 p
- Marquet PA, Bozinovic F, Bradshaw G, Cornelius C, Gonzalez H, Gutierrez JR, Hajek ER, et al. 1998. Los ecosistemas del desierto de Atacama y área andina adyacente en el norte de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 71: 593–617.
- McCain CM, Grytnes JA. 2010. Elevational gradients in species richness. *Encyclopedia of Life Sciences*: 1–10. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0022548>
- Merklinger FF, Zheng Y, Luebert F, Harpke D, Böhnert T, Stoll A, Koch MA, Blattner FR, Wiehe T, Quandt D. 2020. Population genomics of *Tillandsia landbeckii*

- reveals unbalanced genetic diversity and founder effects in the Atacama Desert. *Global and Planetary Change* 184: 103076. <https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2019.103076>
- Mijangos JL, Berry OF, Pacioni C, Georges A. 2022. dartR v2: An accessible genetic analysis platform for conservation, ecology and agriculture. *Methods in Ecology and Evolution*. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13918>
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T. 2010. Creating the CIPRES science gateway for inference of large phylogenetic trees. In: *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 14 Nov. 2010, New Orleans, LA, pp 1–8.
- Nei M. 1972. Genetic distance between populations. *The American Naturalist* 106(949): 283–292. <https://doi.org/10.1086/282771>
- Peterson MA, Denno RF. 1998. The influence of dispersal and diet breadth on patterns of genetic isolation by distance in phytophagous insects. *American Naturalist* 152(3): 428–46. <https://doi.org/10.1086/286180>
- Pickett STA, White PS. 1985. *The ecology of natural disturbance and patch dynamics*. London: Academic Press Inc.
- Pinto R, Barría I, Marquet PA. 2006. Geographical distribution of *Tillandsia lomas* in the Atacama Desert, Northern Chile. *Journal of Arid Environments* 65(4): 543–52. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2005.08.015>
- Polato NR, Gray MM, Gill BA, Becker CG, Casner KL, Flecker AS, Kondratieff BC, et al. 2017. Genetic diversity and gene flow decline with elevation in montane mayflies. *Heredity* 119: 107–16. <https://doi.org/10.1038/hdy.2017.23>
- Pramual P, Kuvangkadilok C. 2012. Integrated cytogenetic, ecological, and DNA barcode study reveals cryptic diversity in *Simulium* (*Gomphostilbia*) *angulistylum* (Diptera: Simuliidae). *Genome* 55(6): 447–58. <https://doi.org/10.1139/g2012-031>
- Pyrcz TW, Wojtusiak J, Garlacz R. 2009. Diversity and distribution patterns of Pronophilina butterflies (Lepidoptera: Nymphalidae: Satyrinae) along an altitudinal transect in north-western Ecuador. *Neotropical Entomology* 38(6): 716–26.
- Rasmann S, Alvarez N, Pellissier L. 2014. The altitudinal niche-breadth hypothesis in insect-plant interactions. *Annual Plant Reviews* 47: 339–60. <https://doi.org/10.1002/9781118829783.ch10>

- Renöfält BM, Nilsson C. 2008. Landscape scale effects of disturbance on riparian vegetation. *Freshwater Biology* 53: 2244–55. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2008.02057.x>
- Ricketts TH. 2001. The matrix matters: effective isolation in fragmented landscapes. *The American Naturalist* 158(1): 87–99. <https://doi.org/10.1086/320863>
- Roe AD, MacDonald ZG, Snape KL & Sperling FAH. 2023. Genome-wide markers show continental structuring and mitonuclear discordance in the forest tent caterpillar (*Malacosoma disstria* Hübner) (Lepidoptera: Lasiocampidae). doi:10.4039/tce.2023.13
- Rundel PW, Dillon MO, Palma B, Mooney HA, Gulmon SL, Ehleringer JR. 1991. The phytogeography and ecology of the coastal Atacama and Peruvian deserts. *Aliso* 13(1): 1–49.
- Saccheri I, Kuussaari M, Kankare M, Vikman P, Fortelius W & Hanski I. 1998. Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. *Nature*. doi: 10.1038/27144
- Sánchez-Ramírez S, Rico Y, Berry KH, Edwards T, Karl AE, Henen BT, Murphy RW. 2018. Landscape limits gene flow and drives population structure in Agassiz's desert tortoise (*Gopherus agassizii*). *Scientific Reports* 8: 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29395-6>
- Sarup P, Frydenberg J, Loeschcke V. 2009. Local adaptation of stress related traits in *Drosophila buzzatii* and *Drosophila simulans* in spite of high gene flow. *Journal of Evolutionary Biology* 22(5): 1111–22. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2009.01725.x>
- Schmitz P, Cibois A, Landry B. 2008. Cryptic differentiation in the endemic micromoth *Galagete darwini* (Lepidoptera, Autostichidae) on Galápagos volcanoes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363(1508): 3453–58. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0117>
- Sekar S. 2012. A meta-analysis of the traits affecting dispersal ability in butterflies: can wingspan be used as a proxy? *Journal of Animal Ecology* 81(1): 174–84. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2011.01909.x>
- Sexton JP, Hangartner SB, Hoffmann AA. 2014. Genetic isolation by environment or distance: which pattern of gene flow is most common? *Evolution* 68(1): 1–15. <https://doi.org/10.1111/evo.12258>
- Seyfried H, Worrier G, Uhlig D, Kohler I, Calvo C. 1998. Introducción a la geología y morfología de los Andes en el norte de Chile. *Chungará*. <https://doi.org/10.4067/s0717-73561998000100002>

- Shafroth PB, Stromberg JC, Patten DT. 2002. Riparian vegetation response to altered disturbance and stress regimes. *Ecological Applications* 12(1): 107. <https://doi.org/10.2307/3061140>
- Shi M, Michalski SG, Chen XY, Durka W. 2011. Isolation by elevation: genetic structure at neutral and putatively non-neutral loci in a dominant tree of subtropical forests, *Castanopsis eyrei*. *PLoS ONE* 6(6): 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021302>
- Sielezniew M, Ponikwicka-Tyszko D, Ratkiewicz M, Dziekanska I, Kostro-Ambroziak A & Rutkowski R. 2011. Divergent patterns in the mitochondrial and nuclear diversity of the specialized butterfly *Plebejus argus* (Lepidoptera: Lycaenidae). *European Journal of Entomology* 108 (4). DOI: 10.14411/eje.2011.069
- Slatkin M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236: 787–92.
- Sousa WP. 1984. The role of disturbance in natural communities. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15: 353–91.
- Stadler J, Jarzabek-Mu A, Hacker H, Braak C. 2011. The predictability of phytophagous insect communities: host specialists as habitat specialists. *PLoS ONE* 6(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025986>
- Stoll A, Harpke D, Schütte C, Jimenez L, Letelier L, Blattner FR, Quandt D. 2020. Landscape genetics of the endangered Atacama Desert shrub *Balsamocarpon brevifolium* in the context of habitat fragmentation. *Global and Planetary Change* 184: 103059. <https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2019.103059>
- Toews DPL & Brelsford A. 2012. The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animal. *Molecular ecology*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05664.x>
- Vandewoestijne S & Baguette M. 2002. The genetic structure of endangered populations in the cranberry fritillary *Boloria aquilonaris* (Lepidoptera, Nymphalidae): RAPDs vs allozymes. *Heredity*. doi: 10.1038/sj.hdy.6800161
- Vargas-Ortiz M, Bobadilla D, Huanca-Mamani W, Vargas HA. 2018. Genetic divergence of isolated populations of the native micromoth *Bucculatrix mirnae* (Lepidoptera: Bucculatricidae) in the arid environments of northern Chile. *Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapping, Sequencing, and Analysis* 29(8): 1139–47. <https://doi.org/10.1080/24701394.2017.1419215>
- Vargas-Ortiz M, Parra LE. 2025. A new species of *Physocleora* Warren 1897 (Lepidoptera: Geometridae) from Atacama and Puna provinces, northernmost Chile. *Neotropical Entomology* 54: 72.

- Villalobos-Leiva A, Rodriguez-Serrano E, Cruz-Jofré F, Lobos IA, Piñeiro A, Pinochet J, Benítez HA. 2025. Tales of a super butterfly: is *Vanessa carye* a truly migrant species? Unraveling migration using morphological and genomics approaches. *Molecular Biology and Evolution* 42(9): msaf212. <https://doi.org/10.1093/molbev/msaf212>
- Wahlberg N, Rubinoff D. 2011. Vagility across *Vanessa* (Lepidoptera: Nymphalidae): mobility in butterfly species does not inhibit the formation and persistence of isolated sister taxa. *Systematic Entomology* 36(2): 362–70. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.2010.00566.x>
- Wang J. 2024. PopCluster: a population genetics model-based toolset for simulating, inferring and visualising individual admixture and population structure. *Molecular Ecology Resources*, 2024 Dec 26: e14058. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.14058>
- Wang IJ, Bradburd GS. 2014. Isolation by environment. *Molecular Ecology* 23(23): 5649–62.
- Weir C, Cockerham C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38(6): 1358–1370.
- Whitford WG. 2002. *Ecology of desert systems*. Amsterdam: Elsevier Science Ltd.
- Wilcox C, Cairns BJ, Possingham HP. 2006. The role of habitat disturbance and recovery in metapopulation persistence. *Ecology* 87(4): 855–63.
- You X, Liu J, Zhang L. 2015. Ecological modeling of riparian vegetation under disturbances: a review. *Ecological Modelling*: 1–8.
- Zayed A, Packer L, Gixti JC, Ruz L, Owen RE, Toro H. 2006. Increased genetic differentiation in a specialist versus a generalist bee: implications for conservation. *Conservation Genetics* 6: 1017–26. <https://doi.org/10.1007/s10592-005-9094-5>
- Zhang QL, Zhang L, Yang XZ, Wang XT, Li XP, Wang J, Chen JY, Yuan ML. 2017. Comparative transcriptomic analysis of Tibetan *Gynaephora* to explore the genetic basis of insect adaptation to divergent altitude environments. *Scientific Reports*: 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17051-4>



A New Species of *Physocleora* Warren 1897 (Lepidoptera: Geometridae) from Atacama and Puna Provinces, Northernmost Chile

Marcelo Vargas-Ortiz¹ · Luis E. Parra²

Received: 27 January 2025 / Accepted: 16 April 2025
 © Sociedade Entomológica do Brasil 2025

Abstract

Riparian zones of the Atacama Desert and slopes of the Andes mountain range host a diversity of insect species still unknown, and some lineages of different species of Geometridae have been discovered in recent years in such areas. Here, we describe *Physocleora polyphaga* Vargas-Ortiz & Parra sp.nov., a polyphagous species closely related to several native plants, distributed in coastal valleys and slopes of the Andes mountain range in the northernmost Chile. We present their diagnostic morphological characteristics, some ecological traits, and a representation of its evolutionary history within *Physocleora* Warren 1897 from DNA barcode sequence data. To validate the hypothesis of conspecificity of the specimens found, we use species delimitation methods based on genetic distances and phylogenetics.

Keywords Biodiversity · Systematics · Phylogenetics · Geometridae · Atacama

Introduction

Geometridae is among the three most diverse families in Lepidoptera, with nearly 23,000 described species (van Nieukerken et al. 2011), half of which belong to the subfamily Ennominae (Pitkin 2002). The species richness of the Neotropical Ennominae represents one-third of the species of the subfamily (Pitkin 2002), and has been suggested that consists, in part, of an adaptive radiation process whose effect includes the presence of three closely related genera of Boarmiini: *Iridopsis* Warren, 1894, *Physocleora* Warren 1897, and *Glena* Hulst, 1896 (Brehm et al. 2019).

The geographical distribution of those three genera is mainly Neotropical, where they occur across various biogeographic provinces; however, *Glena* and *Iridopsis* are also present in the Nearctic (e.g. Murillo-Ramos et al. 2021; Pitkin 2002; Rajaei et al. 2022). Despite this broad distribution,

few species have been described from the Atacama Desert, with the genera *Iridopsis* and *Glena* being the only ones represented in this region (e.g. Vargas 2007, 2010), but no *Physocleora*.

Physocleora is a genus whose geographic distribution is limited to Neotropical region and has been recorded in several countries in Central and South America, from southern Mexico in the north to northern Argentina (Pitkin 2002; Rajaei et al. 2022; Ratnasingham et al. 2024). However, towards the west of the Andes, the closest distribution to the Atacama province corresponds to records from a region located outside its northern boundary, particularly in the department of Ancash (Peru), represented by an undescribed species (GWOSV918-11. SNSB, Zoologische Staatssammlung Muenchen. Accessed on 2024-12-04 via boldsystems.org).

The morphological diagnostic characters described for *Physocleora* consist, as in most Geometridae, of attributes of the male genitalia structure. Pitkin (2002) describes the following features as attributes to delimit most *Physocleora* species: (1) the spinose costal lobe on valva, (2) spinose lobe extending from sacculus, and (3) medio-ventral ridge of the valva. However, the author emphasizes that *Physocleora* is a genus that has been little studied. In relation to phylogenetic relationships, very few works have proposed hypotheses about its position within the Ennominae, but it is suggested that it could be closely related to the genera *Glena*

Edited by Douglas Zeppelini

✉ Marcelo Vargas-Ortiz
marcelovargasortiz@gmail.com

¹ Doctorado en Sistemática y Biodiversidad, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Univ de Concepción, Concepción, Chile

² Depto de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Univ de Concepción, Concepción, Chile

Hulst 1896, *Glenoides* McDunnough 1920, *Anavitrinella* McDunnough 1922, and *Odysia* Guenée (1858). However, its monophyly has not been determined and DNA data from the type species, *P. pauper*, have not been included. To date, it can only be suggested that it is a paraphyletic genus and intermixed with *Glenoides* McDunnough, 1920 and *Glena* Hulst, 1896 (e.g. Murillo-Ramos et al. 2021).

Recently, individuals of Geometridae with similar morphological attributes have been collected in the Atacama Desert, specifically in the northernmost part of Chile, in coastal valleys and Andean slopes around 3400 m.a.s.l. Morphological characteristics of the genitalia of males suggest that they belong to lineages of *Physocleora* Warren 1897. To determine whether these specimens represent intraspecific lineages, preliminary analyses of barcode sequences were carried out. The genetic distances (K2P, Kimura 2-parameter) observed were between 0.3 and 1.2%, which supported the idea that the specimens represent the same species.

Based on this background, this work attempts to evaluate the hypothesis that specimens of *Physocleora* from different geographic areas represent separately evolving lineages, using species delimitation methods based on phylogenetics and genetic distance.

Material and methods

Morphological analysis

Sampling 110 specimens were collected across coastal valleys and mountains, ranging from 15 and 3400 m.a.s.l. (Fig. 1A, B; Table 1), by collecting larvae from host plants and adults using light traps. All the specimens were destined for morphological analysis and 39 for barcode sequencing.

Fig. 1 Geographic distribution of *Physocleora polyphaga* sp.nov. (red square in A): sampling localities (B) and haplotype network (C). Colors in C indicate geographic distribution of genetic clusters in B. Coastal valleys (green), Tamarugal (orange), and Andean slopes (yellow)

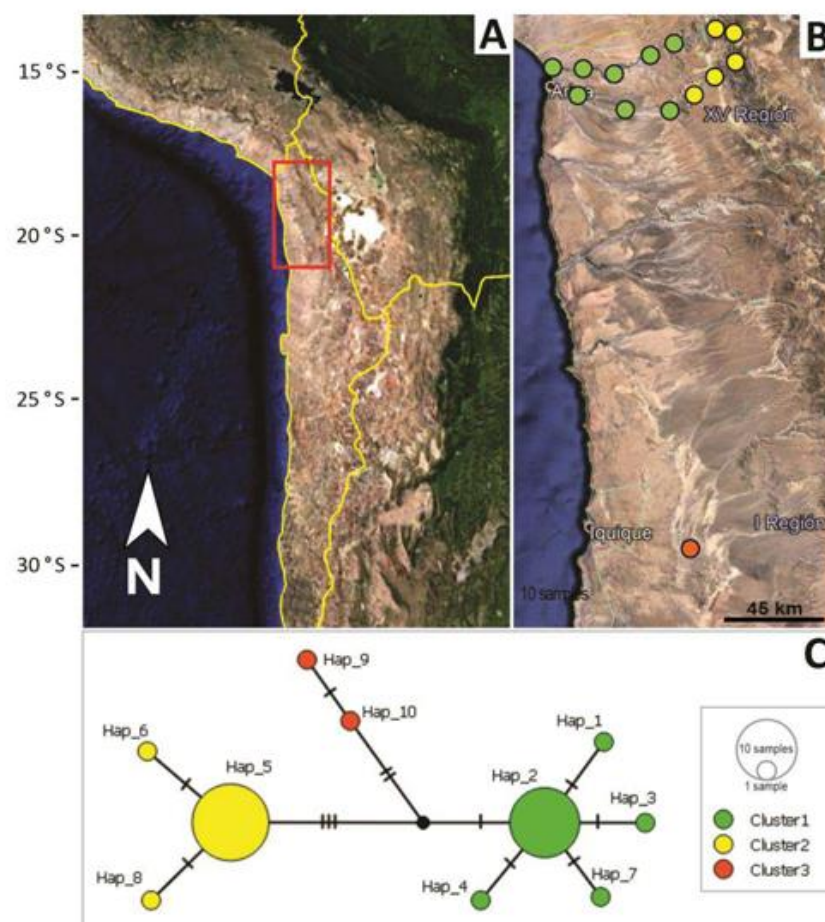


Table 1 Sequences used for phylogenetic analysis

Species	BOLD accession	GenBank accession	Locality
<i>Physocleora polyphaga</i> sp. n H1			Chile
<i>Physocleora polyphaga</i> sp. n H2			Chile
<i>Physocleora polyphaga</i> sp. n H3			Chile
<i>Physocleora polyphaga</i> sp. n H4			Chile
<i>Physocleora polyphaga</i> sp. n H5			Chile
<i>Physocleora polyphaga</i> sp. n H6			Chile
<i>Physocleora polyphaga</i> sp. n H7			Chile
<i>Physocleora polyphaga</i> sp. n H8			Chile
<i>Physocleora polyphaga</i> sp. n H9			Chile
<i>Physocleora pauper</i>	BCIGE015-10	HM883562	Panama
<i>Physocleora pauper</i>	BCIGE026-10	HM883576	Panama
<i>Physocleora pauper</i>	BCIGE031-10	HM883576	Panama
<i>Physocleora pauper</i>	BCIGE040-10	HM883585	Panama
<i>Physocleora taeniata</i>	BLPAA14893-19	-	Costa Rica
<i>Physocleora taeniata</i>	BLPAA16435-20	-	Costa Rica
<i>Physocleora taeniata</i>	BLPAA16554-20	-	Costa Rica
<i>Physocleora taeniata</i>	BLPAA22352-20	-	Costa Rica
<i>Physocleora taeniata</i>	BLPAA22758-20	-	Costa Rica
<i>Physocleora taeniata</i>	BLPDF443-09	GU674925	Costa Rica
<i>Physocleora taeniata</i>	BLPAD287-06	JQ579392	Costa Rica
<i>Physocleora taeniata</i>	BLPCF487-08	JQ562029	Costa Rica
<i>Physocleora taeniata</i>	BLPCF697-08	JQ562227	Costa Rica
<i>Physocleora taeniata</i>	MHMYL9442-16	-	Costa Rica
<i>Physocleora taeniata</i>	BLPDV2458-18	-	Costa Rica
<i>Physocleora taeniata</i>	BLPDA209-09	JQ550790	Costa Rica
<i>Physocleora</i> sp.	GWORC1876-08	-	Peru
<i>Physocleora</i> sp.	GWOSV918-11	-	Peru
<i>Physocleora</i> sp.	GWOTV764-18	-	Peru
<i>Physocleora</i> sp.	GWOTV845-18	-	Peru
<i>Physocleora</i> sp.	GBMNA29468-19	MK739442	-
<i>Physocleora</i> sp.	GWOR1893-07	-	Peru
<i>Physocleora</i> sp.	GWORC1871-08	-	Peru
<i>Physocleora</i> sp.	NGEOC535-11	JX149762	Ecuador
<i>Physocleora bella</i>	GWORC798-08	-	Ecuador
<i>Physocleora bella</i>	GWOR1455-07	-	Ecuador
<i>Physocleora</i> nr. <i>latimedia</i>	GBMNA29466-19	MK739440	-
<i>Physocleora castaneata</i>	NGEOF690-13	KU381339	Ecuador
<i>Physocleora castaneata</i>	GWORE295-08	-	Ecuador
<i>Glena</i> sp.	GBMNA24280-19	MK739232	-
<i>Glena</i> sp.	GBMNA29460-19	MK739434	-
<i>Glena nigrigaria</i>	GBMNA29508-19	MK739481	-
<i>Glenoides texanaria</i>	BBLSX010-09	HM427372	USA
<i>Glenoides texanaria</i>	GBMNA22922-19	MK739557	-
<i>Glenoides texanaria</i>	BBLSX494-09	HM427852	USA
<i>Glenoides texanaria</i>	USLEP302-10	HQ985653	USA
<i>Glenoides texanaria</i>	FRLAR626-18	-	USA
<i>Annavitrinella addenaria</i>	BLPCN481-08	JQ558701	Costa Rica
<i>Annavitrinella addenaria</i>	BLPCO852-08	JQ549939	Costa Rica
<i>Annavitrinella addenaria</i>	BLPAA9192-17	-	Costa Rica
<i>Annavitrinella addenaria</i>	MHMYC1820-09	GU651418	Costa Rica
<i>Annavitrinella addenaria</i>	BLPEE4716-14	-	Costa Rica

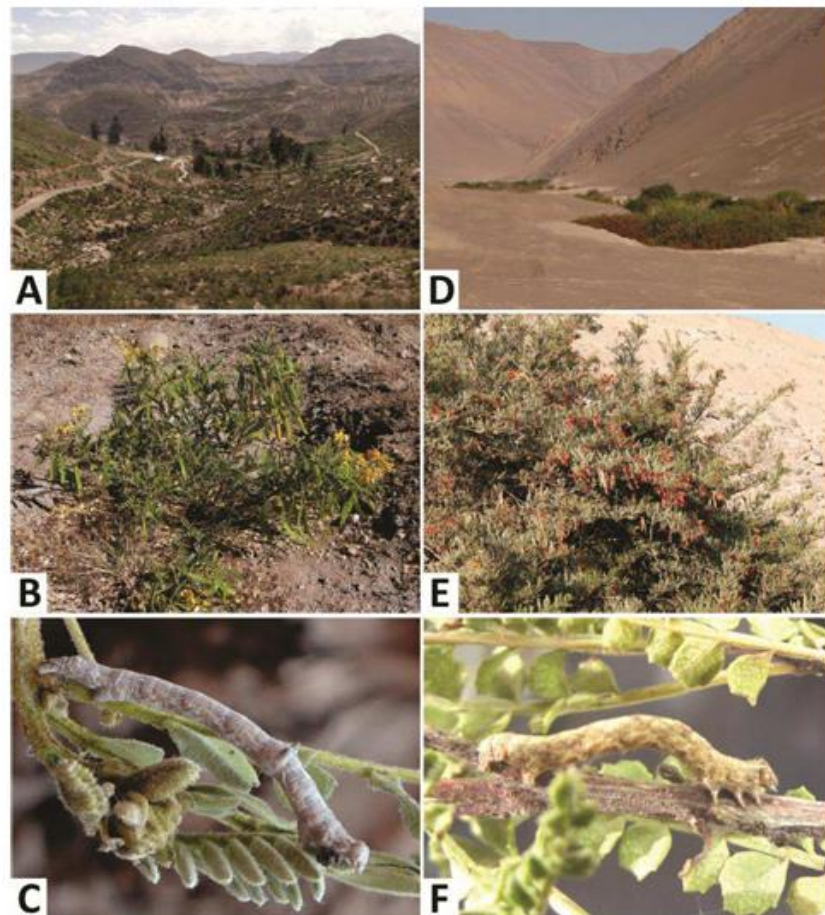
Table 1 (continued)

Species	BOLD accession	GenBank accession	Locality
<i>Anavitrinella pampinaria</i>	GBMNA29509-19	MK739482	-
<i>Stenalcidia</i> sp.	GMARR123-14	OM560200	Argentina
<i>Stenalcidia</i> sp.	GMARR1320-14	OM557265	Argentina
<i>Stenalcidia</i> sp.	GMARU720-14	OM559491	Argentina
<i>Stenalcidia</i> sp.	GMARV004-14	OM313960	Argentina
<i>Stenalcidia</i> sp.	GWORD1938-08	-	Brazil
<i>Stenalcidia tharpoides</i>	INCTB092-10	-	Brazil
<i>Odysia</i> nr. <i>excurvaria</i>	GBMNA24426-19	MK739324	-
<i>Tornos scolopacinaria</i>	GBMNA29511-19	MK739484	-

Morphology The genitalia of all the collected specimens were observed and mounted. In the case of larvae, they were raised until they became adults. The preparation of genitalia slides was carried out using the procedure outlined by Robinson G (1976) as a guide. The extraction of the genitalia consisted of a treatment with 10% KOH for

~ 30–60 min to eliminate fatty tissue and cleaning with distilled water. Mounting was performed with Euparal to obtain permanent samples. Morphological observations and measurements were performed with the aid of a Leica® M125 stereomicroscope and an Olympus BX51 optical microscope.

Fig. 2 Natural history aspects of *Physocleora polyphaga* sp.nov. Andean slopes landscape (A); host plant *Senna birostris* (B); larva on host plant indicated in B (C); coastal valley landscape (D); host plant *Tecoma fulva* (E); larva on host plant indicated in E (F)



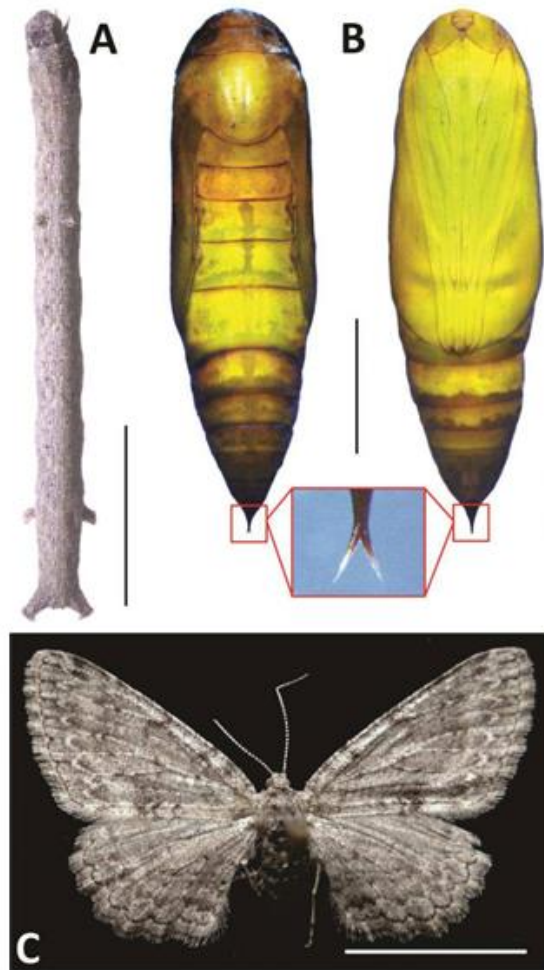


Fig. 3 Some developmental stages of *Physocleora polyphaga* sp. nov. Larva (A), pupa (B; cremaster detail in red square), and adult male (C)

Map and figures The map image was obtained from Google Earth. All figures were edited in the CorelDraw® X7 software based on photographs taken with a digital camera. Coordinates were obtained from the labels when available, or with a portable GPS system.

Specimen depository Entomological collection of the Faculty of Agronomic Sciences (IDEA), University of Tarapacá, Arica-Chile.

Molecular analysis

DNA extraction and sequencing Genomic DNA was extracted from 39 individuals using the QIAamp Fast DNA

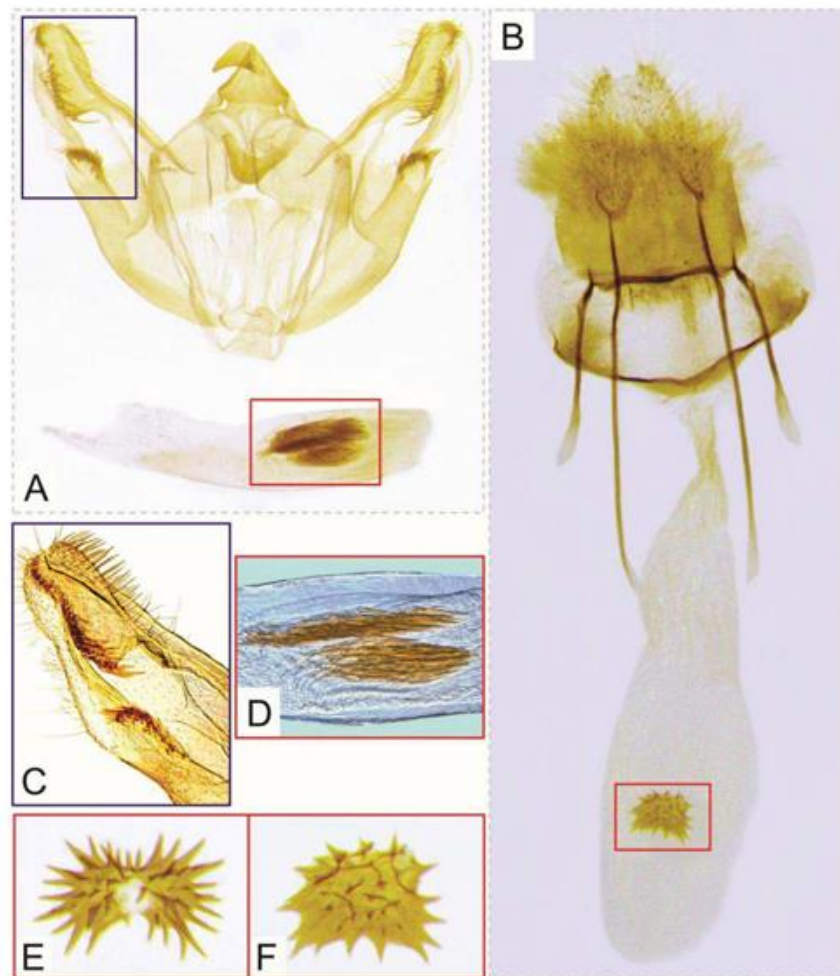
Tissue Kit, following the procedures indicated by the manufacturer. A fragment of the COI (cytochrome c oxidase subunit I) gene was amplified by polymerase chain reaction using primers LCO1490 and HCO2198 (Folmer et al. 1994). PCR reactions and Sanger sequencing (ABI 3730xl) were performed at Macrogen Inc., South Korea. The PCR conditions were as follows: 5 min at 94 °C, 35 cycles of 30 s at 94 °C, 30 s at 47 °C, 1 min at 72 °C, and a final elongation step of 10 min at 72 °C.

Haplotype analyses and spatial distribution The determination of the number of haplotypes was made in DnaSP 5.10 (Librado and Rozas 2009) and the genetic distance (K2P) between haplotypes was calculated in Arlequin 3.5 (Excoffier and Lischer 2010). To visualize the relationships between haplotypes and their geographical distribution, we built a median-joining network of haplotypes in PopArt (<https://popart.maths.otago.ac.nz/>). To determine spatial distribution patterns of intraspecific genetic diversity, we used the Geneland program (Guillot et al. 2005), evaluating the posterior probability for each number of genetic clusters ($K = 14$), after 100,000,000 MCMC iterations, thinning each 10,000 iterations and a burn-in of 10%. Finally, to evaluate the hypothesis observed in the Geneland output, we performed an AMOVA (analysis of molecular variance) in Arlequin 3.5.

Sequence analysis and phylogenetic inference Nine haplotype sequences of *Physocleora polyphaga* sp. nov. were used in the analyses to find out which genus the species belongs to. Sequences of *Stenalcidia* Warren 1897, *Anavitrinella*, *Glena*, *Glenoides*, and *Odysia* were included (Table 1) based on recent phylogenetic hypotheses (Murillo-Ramos et al. 2021) that indicate non-monophyly of *Physocleora*. To evaluate the phylogenetic position of the new species within the group, sequences from the type species, *P. pauper*, were included. The software MEGA X (Kumar et al. 2018) was used to perform the 657 bp sequence alignment with ClustalW, to determine the nucleotide substitution model (under BIC criteria) and to assess the genetic distance between haplotypes with the K2P model. To assess whether the dataset represents neutral evolutionary processes, deviations from neutrality were assessed using McDonald-Kreitman (MK) test (McDonald and Kreitman 1991) for comparative data in DnaSP 5.10 (Librado and Rozas 2009). The Xia test (Xia et al. 2003) was used to assess the presence of phylogenetic signal with a substitution saturation analysis in the software Dambe 7.2.1 (Xia 2018).

To determine evolutionary relationships between haplotypes and to evaluate the monophyly hypothesis, a phylogenetic analysis was performed by Bayesian inference using a mixture model in BayesPhylogenies (Pagel and Meade 2004) with a GTR + G as substitution model. Trees were obtained

Fig. 4 Morphological attributes of genitalia of *Physocleora polyphaga* sp.nov. Male genitalia (A), female genitalia (B), details of valve (C) and cornuti (D), and signum (E, F)

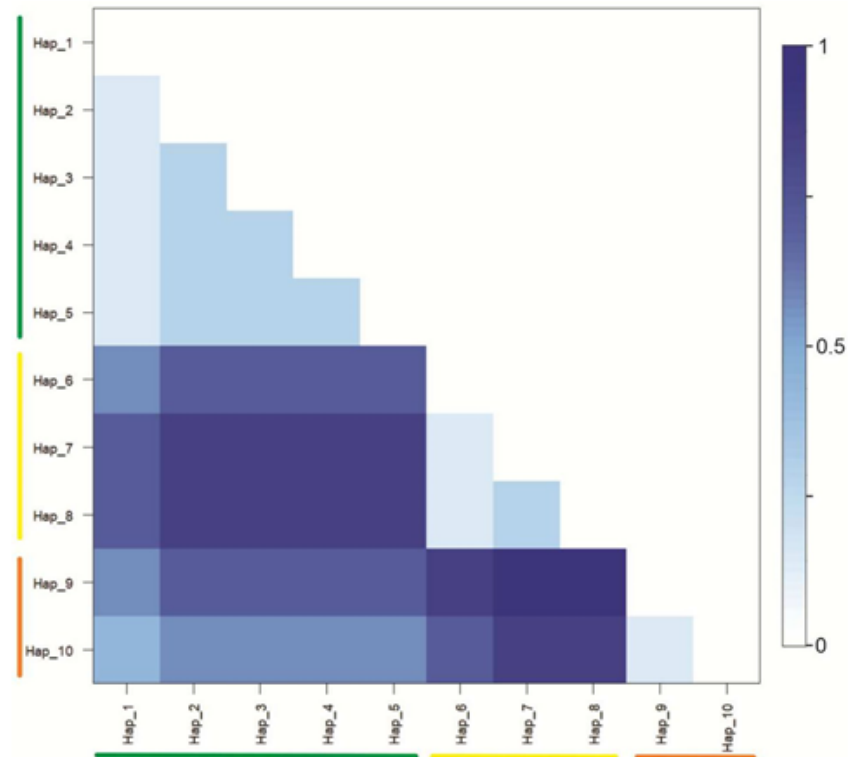


after running 200,000,000 MCMC. The parameters of the runs were observed in Tracer 1.6 (Rambaut et al. 2014). The visualization of the phylogenetic tree was done in Bayes-Trees 1.3 (Meade and Pagel 2011).

Species delimitation Analyses were carried out using one pairwise genetic distance-based method, the Automatic Barcode Gap Discovery ABGD (Puillandre et al. 2012) and three tree-based methods, the single-threshold General Mixed Yule Coalescent st-GMYC (Pons et al. 2006), a Bayesian implementation of the General Mixed Yule Coalescent bGMYC (Reid and Carstens 2012), and a Bayesian implementation of the Poisson tree processes (PTP) model, bPTP (Zhang et al. 2013). The ABGD analysis was performed through the web server of ABGD (<http://www.wabi.snv.jussieu.fr/public/abgd/abgdweb.html>) using the K2P evolution model. A range of prior intraspecific divergence values from 0.001 to

0.3 was assayed (e.g. Hebert et al. 2003; Ratnasingham and Hebert 2007), applying a relative gap width of 1.5. For the st-GMYC analysis, an ultrametric phylogenetic tree was generated by Bayesian inference, using the Yule process as the prior method of speciation model under a lognormal relaxed clock model in BEAST 2.5 (Bouckaert et al. 2019), using a clock rate of 0.023 substitutions per million years (Brower 1994; Nazari and Sperling 2007). The ultrametric tree was used as input for the st-GMYC analysis conducted in R 4.0 using the splits package (<http://r-forge.r-project.org/projects/splits/>). The bGMYC model was implemented in R 3.6 using the bGMYC package, using 100 randomly selected trees from BEAST analysis (same priors as for st-GMYC). Fifty thousand MCMC generations were simulated, sampling every 100 trees and discarding 10% as burn-in. Finally, to implement the bPTP method, an ML tree was determined using RAXML-NG (Kozlov et al. 2019) on the website <https://raxml-ng.vital-it>.

Fig. 5 Intraspecific genetic distance matrix (K2P) of *Physocleora polyphaga* sp.nov. Color bars correspond to localities indicated in Fig. 1: Coastal valleys (green), Tamarugal (orange), and Andean slopes (yellow)



ch/, using a GTR + G + I as the substitution model and a bootstrapping cutoff of 0.5. The best resulting RAxML tree was used as input for the bPTP analysis on the website <https://species.h-its.org/>, using 100,000 MCMC generations, thinning every 100 trees and discarding 10% as burn-in.

Results

Morphological analysis

Physocleora Warren 1897

Physocleora Warren 1897: 469. Type species: *Physocleora pauper* Warren 1897.

Physocleora polyphaga Vargas-Ortiz & Parra, sp.nov. (Fig. 2, 3 and 4).

Examined material Holotype: Male: Chile, Parinacota, Socoroma; vi-2023; ex-larva *Balbisia microphylla*; v-2023; H.A.Vargas leg.; “*Physocleora polyphaga* Vargas-Ortiz & Parra” [red label]; IDEA-LEPI-2024-01; HAV-1775 [genitalia slide]. Paratypes. Four females, three males, same data as for the holotype; IDEA-LEPI-2024-02 to IDEA-LEPI-2024-08; HAV-1776 to HAV-1782 [genitalia slides].

Diagnosis *Physocleora polyphaga* sp.nov. can be morphologically distinguished from the other species of the genus by the genital structures of the male. In comparison to *Physocleora pauper*, which presents a mid-ventral ridge in the valve (Pitkin 2002; Fig. 280), *Physocleora polyphaga* presents an additional larger costal lobe with slight medial contraction in the distal area of the valvae.

Description **Adults** (Figs. 3C and 4). Antenna bipectinate in males, simple filiform in female. Wing expansion of 11–13 mm ($n = 50$). For both sexes, the wings are gray with light and dark waves, generally more frequent in the distal area (Fig. 3C), difficult to differentiate between sexes and from other species. Male genitalia (Fig. 4A): Tapered uncus. Gnathos U-shaped medially. Valve with two spiny ridges, one larger apical, and another small one that extends from the middle area of the valve. Edeagus presents vesica with one or two groups of cornuti. Female genitalia (Fig. 4B): Signum densely toothed, in the shape of a semi-divided disc or ellipse. Anterior apophyses almost half the size of posterior apophyses. **Larvae** (Figs. 2C, F and 3A). Gray larva, in the field it is very cryptic with the branches of the host plant. Sometimes it has a remarkable longitudinal stripe on the back, but it is not a highly frequent characteristic. It always



Fig. 6 Phylogeny obtained by Bayesian inference. Clade of *Physocleora polyphaga* sp.nov. is indicated in red. Colored circles correspond to geographic distribution in Fig. 1B. The type species of the genus,

Physocleora pauper, is indicated in red as “Type species.” Asterisk indicates clade used for species delimitation analyses

presents two dorsal projections in the anterior area of segment A4; this characteristic is more noticeable in larvae of advanced instars. No differences were detected between larvae of different sexes. **Pupa** (Fig. 3B). Heterogeneous brown color. It has a fork-shaped cremaster in both sexes.

Natural history aspects The larvae of this species are folivores of species from four plant families: Anacardiaceae: *Schinus molle*; Bignoniaceae: *Tecoma fulva* (Fig. 2E); Fabaceae: *Senna birostris* (Fig. 2B), *Adesmia spinosissima*, *Geoffroea decorticans*, *Prosopis tamarugo*; Asteraceae: *Mutisia acuminata*, *Baccharis salicifolia*, *Pluchea chingoyo*; Francoaceae: *Balbisia microphylla*. The larvae appear to be very cryptic in relation to the coloration of the host plants (Fig. 2C, F).

Etymology Specific name refers to the polyphagous feeding habit, generalist on tissues from different plant families.

Distribution The species is distributed in coastal valleys (Fig. 2D), the Tamarugal pampa and Andean west slopes (Fig. 2A) of the extreme north of Chile. Localities are in the biogeographic province of Atacama (valleys and Tamarugal) and Puna (Andean slopes) (Morrone 2015).

Molecular analyses

The DNA sequences used for molecular delimitation meet the required parameters for species phylogenetic analysis, such as absence of stop codons, no saturation substitution ($ISS < ISS.C$, $p < 0.05$), and no deviation from neutrality.

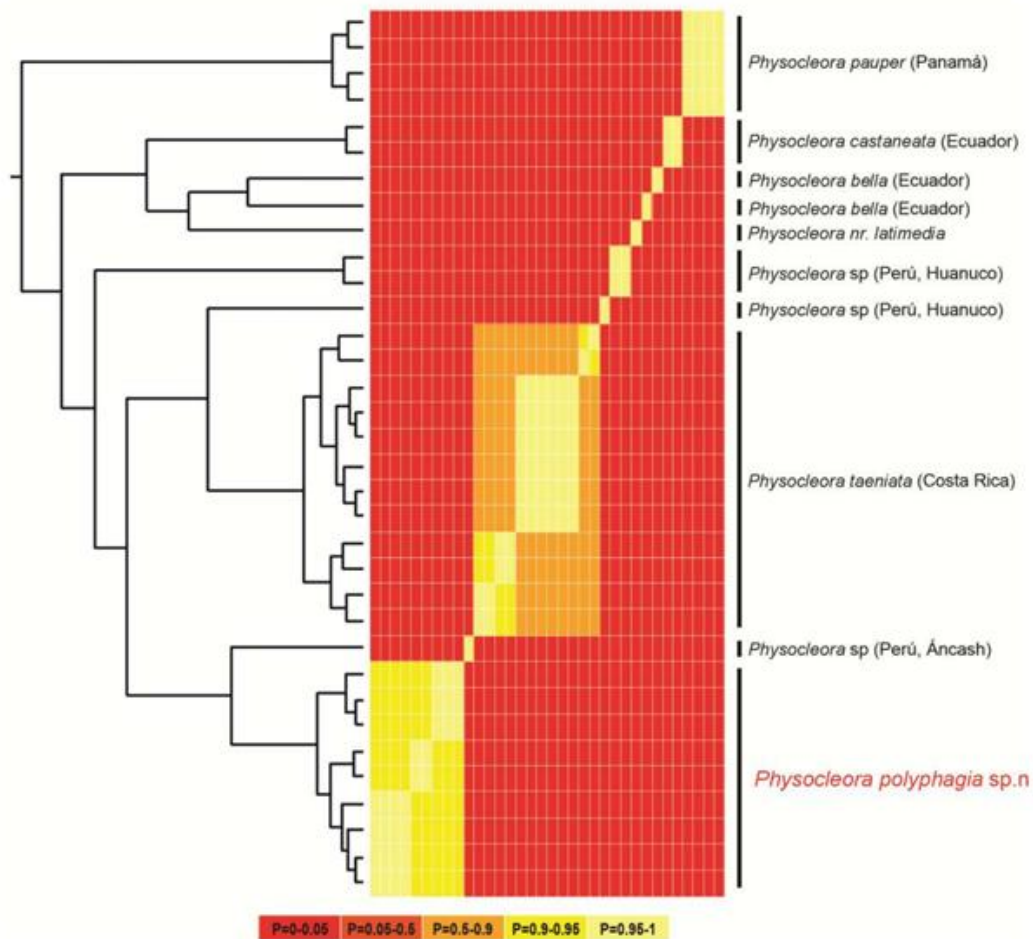


Fig. 7 Phylogeny and heatmap obtained from bGMYC analysis. *Physocleora polyphaga* sp.nov. is indicated with red letters. Colored bars indicate posterior probabilities of conspicuity

Genetic diversity and spatial distribution Dataset of thirty-nine sequences of *Physocleora polyphaga* sp.nov. of 657 base pair (bp) length was used for intraspecific analyses. Their alignment showed 13 variable sites, representing ten haplotypes (H1–H10), a haplotype diversity of 0.694 and nucleotide diversity of 0.004. Genetic distance was 0.153–0.965% (K2P) between haplotypes (Fig. 5). The Geneland analysis indicated a maximum posteriori estimate for three genetic clusters ($K = 3$) with probabilities near to 0.4 (Fig. S1). The clusters were principally distributed in coastal valleys (cluster 1), Andean slopes (cluster 2), and Tamarugal (cluster 3) (Fig. 1B, C). Analysis of molecular variance indicated that 92.20% of the variation occurred between these spatial groups ($F_{ST} = 0.92$).

Phylogenetic analysis A 585 base pair alignment included nine haplotypes of *Physocleora polyphaga* sp.nov. and 51 sequences of Ennominae. The McDonald-Kreitman (MK) neutrality test indicated that ratio of replacement to synonymous fixed substitutions is the same as the ratio of replacement to synonymous (G value = 0.288, p -value = 0.591); therefore, the alignment can be used to determine relationships between species lineages. The phylogenetic analysis (Fig. 6) indicated (1) polyphyly for *Physocleora* genus; (2) the type species of the genus, *Physocleora pauper*, represents the sister species of a clade (asterisk in Fig. 6) composed only of congeneric species, including *Physocleora polyphaga* sp.nov.; (3) within such clade, a well-supported

monophyly (100% pp) is observed for *Physocleora polyphaga* sp.nov., whose sister species would be undescribed lineages distributed in Peru; and (4) within the *Physocleora polyphaga* sp.nov. clade, the relationships between haplotypes were clustered in accordance with the spatial groups suggested by Geneland in well-supported reciprocally monophyletic groups (Coastal valleys, Andean west slopes and Tamarugal).

Species delimitation Based on the resulting phylogeny, the dataset chosen for the delimitation analyses corresponds to the sequences that make up the monophyletic group indicated with an asterisk in Fig. 6, which includes *Physocleora pauper*, type species of the genus.

All species delimitation analyses (ABGD, st-GMYC, bGMYC, and bPTP) validated the hypothesis that *Physocleora* specimens collected in the study area belong to lineages of the same species. Therefore, *Physocleora polyphaga* sp.nov. is validated as a species. The ABGD analysis showed a large barcode gap between 0.02 and 0.08 (Fig. S2). The st-GMYC analysis indicated that the number of delimited species (singletons excluded) is 5 (number of ML clusters = 5; confidence interval = 5–7), validating the st-GMYC model over the null model of coalescence (likelihood ratio = 31.64, p -value < 0.05), with a time threshold between inter-intraspecific branching events of about 1000–500 Kya (Fig. S3). The same number of species was suggested by bGMYC analysis using a conspecificity probability threshold of 0.95–1 (Fig. 7). The highest Bayesian supported solution of the bPTP analysis indicated that the number of delimited species is 10, with ranges of support between 0.597 and 1, indicating a support of 0.689 for *Physocleora polyphaga* sp.nov. (Fig. S4).

Discussion

We describe a new species of polyphagous Geometridae, *Physocleora polyphaga* Vargas-Ortiz & Parra sp.nov., distributed in the Atacama Desert and Puna, delimited by genetic distances and phylogenetic methods. According to previous studies and sequence data (e.g. boldsystems.org), *Physocleora* represents a genus with several undescribed Neotropical species. Such a fact has probably also led to *Physocleora* being considered a non-monophyletic taxon. In relation to this, our phylogenetic hypothesis proposed here indicates non-monophyly, coinciding with the results of Murillo-Ramos et al. (2021), but we consider that it is necessary to evaluate this hypothesis with a greater representation of correctly delimited species.

The intraspecific relationships of *Physocleora polyphaga* sp.nov. observed in the phylogenetic hypothesis and haplotype network, indicates reciprocal monophyly with respect to the spatial distribution of haplotypes, a pattern clearly observed in the Geneland results. Similar patterns have already been observed with other moth species in the Atacama Desert e.g. (Vargas-Ortiz et al. 2018, 2020). This information gives us some ideas about how historical landscape evolution could have influenced the current observed genetic diversity. For the specific case of this work, it seems that there are low-altitude populations (Coastal Valleys), high-medium altitude (west Andean slopes), and isolation due to purely geographical barriers (Tamarugal). However, greater sampling and other types of molecular markers are necessary to answer these questions.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s13744-025-01281-7>.

Acknowledgements To Chilean Beca ANID Doctorado Nacional 2018. Programa de Doctorado en Sistemática y Biodiversidad, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. We thank the anonymous reviewers for their comments and important suggestions. We also thank Dr. Cynthia Vásquez, MSc. Claudia Hurtado, Dr. Wilson Huanca-Mamani, and Dr. Héctor Vargas Ortiz for their support during the development of this work.

Nomenclature Zoobank ID: <http://zoobank.org/urn:lsid:zoobank.org:act:CD3571FB-BE63-48DA-B3DD-2C84E159ECA6>.

Author Contribution MV conceived the research and collected most of the material, and took the photographs; MV and LP described the species and wrote the first draft; MV edited the images and plates; MV extracted DNA, analyzed sequences, and performed all bioinformatics analyses. MV and LP edited the final version of the manuscript.

Data Availability All sequences of the new species used in this study are deposited in GenBank.

Declarations

Ethical Approval Not applicable.

Conflict of interest The authors declare no competing interests.

References

- Bouckaert R, Vaughan TG, Barido-Sottani J, Duchêne S, Fourment M, Gavryushkina A, Heled J, Jones G, Kühnert D, De Maio N, Matschiner M, Mendes FK, Müller NF, Ogilvie HA, Du Plessis L, Popinga A, Rambaut A, Rasmussen D, Siveroni I, Drummond AJ (2019) BEAST 2.5: an advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Comput Biol* 15(4):1–28. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006650>
- Brehm G, Murillo-ramos L, Sihvonen P, Hausmann A, Schmidt BC, Öunap E, Moser A, Mörtter R, Bolt D, Bodner F, Lindt A (2019) New World geometrid moths (Lepidoptera : Geometridae):

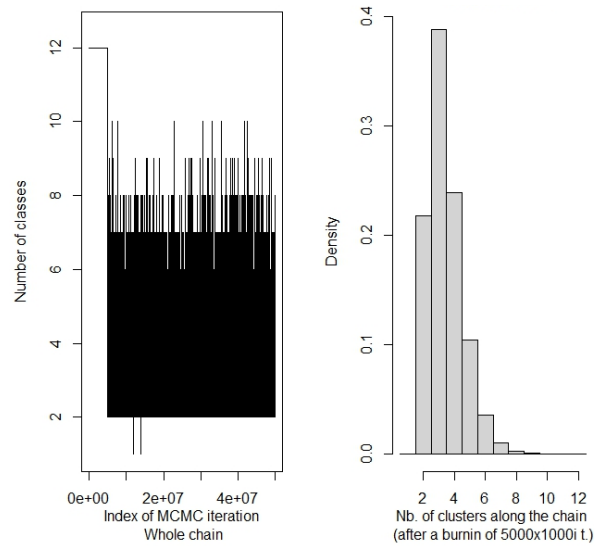
- molecular phylogeny, biogeography, taxonomic updates and description of 11 new tribes. *Arthropod Syst Phylogeny* 77(3):457–486. <https://doi.org/10.26049/ASP77-3-2019-5>
- Brower AVZ (1994) Rapid morphological radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 91(14):6491–6495. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.14.6491>
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour* 10(3):564–567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- 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. *Int J Biol Macromol* 3:294–299. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.135>
- Guillot G, Estoup A, Mortier F, Cosson JF (2005) A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics* 170(3):1261–1280. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.033803>
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B* 270:313–321
- Kozlov AM, Darriba D, Stamatakis A (2019) RAXML-NG: a fast, scalable and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference. *Bioinformatics* 35(May):4453–4455. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz305>
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K (2018) MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol* 35(6):1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Librado P, Rozas J (2009) DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25(11):1451–1452. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187>
- McDonald JH, Kreitman M (1991) Adaptive protein evolution at the Adh locus in *Drosophila*. *Nature* 351:652–654
- Meade A, Pagel M (2011) BayesTrees, Version 1.3. 2011. Available online: <http://www.evolution.reading.ac.uk/BayesTrees.html>
- Morrone JJ (2015) Biogeographical regionalisation of the Andean Region. *Zootaxa* 3936(2):207–236. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3936.2.3>
- Murillo-Ramos L, Chazot N, Sihvonen P, Öunap E, Jiang N, Han H, Clarke JT, Davis RB, Tammaru T, Wahlberg N (2021) Molecular phylogeny, classification, biogeography and diversification patterns of a diverse group of moths (Geometridae: Boarmiini). *Mol Phylogenet Evol* 162(March):107198. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2021.107198>
- Nazari V, Sperling FAH (2007) Mitochondrial DNA divergence and phylogeography in western Palaearctic Parnassiinae (Lepidoptera: Papilionidae): how many species are there? *Insect Syst Evol* 38(2):121–138. <https://doi.org/10.1163/187631207788783996>
- Pagel M, Meade A (2004) A phylogenetic mixture model for detecting pattern-heterogeneity in gene sequence or character-state data. *Syst Biol* 53(4):571–581. <https://doi.org/10.1080/10635150490468675>
- Pitkin LM (2002) Neotropical ennomine moths: a review of the genera (Lepidoptera: Geometridae). *Zool J Linn Soc* 135(2–3):121–401. <https://doi.org/10.1046/j.1096-3642.2002.00012.x>
- Pons J, Barraclough TG, Gomez-Zurita J, Cardoso A, Duran DP, Hazell S, Kamoun S, Sumlin WD, Vogler AP (2006) Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Syst Biol* 55(4):595–609. <https://doi.org/10.1080/10635150600852011>
- Puillandre N, Lambert A, Brouillet S, Achaz G (2012) ABGD, automatic barcode gap discovery for primary species delimitation. *Mol Ecol* 21(8):1864–1877. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05239.x>
- Rajaei H, Hausmann A, Scoble M, Wanke D, Plotkin D, Brehm G, Murillo-Ramos L, Sihvonen P (2022) An online taxonomic facility of Geometridae (Lepidoptera), with an overview of global species richness and systematics. *Integr Syst* 5(2):145–1923. <https://doi.org/10.18476/2022.577933>
- Rambaut A, Suchard MA, Xie D, Drummond AJ (2014) Tracer v1.6. Available from <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>
- Ratnasingham S, Hebert PDN (2007) BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Mol Ecol Resour* 7:355–364. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01678.x>
- Ratnasingham S, Wei C, Chan D, Agda J, Agda J, Ballesteros-Mejia L, Ait Boutou H, El Bastami ZM, Ma E, Manjunath R, Rea D, Ho C, Telfer A, McKeown J, Rahulan M, Steinke C, Dorschner J, Milton M, Hebert PDN (2024) BOLD v4: a centralized bioinformatics platform for DNA-based biodiversity data. In *DNA barcoding: methods and protocols*. Chapter 26. Springer US, New York, pp 403–441
- Reid NM, Carstens BC (2012) Phylogenetic estimation error can decrease the accuracy of species delimitation: a Bayesian implementation of the general mixed Yule-coalescent model. *BMC Evol Biol* 12(1):1–11. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-12-196>
- Robinson G (1976) The preparation of slides of Lepidoptera genitalia with special reference to the Microlepidoptera. *Entomologists Gaz* 27:127–132
- van Nieukerken EJ, Kaila L, Kitching IJ, Kristensen NP, Lees DC et al (2011) Order Lepidoptera Linnaeus, 1758. In: Zhang ZQ (ed) *Animal biodiversity: an outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness*. *Zootaxa* 3148:212–221
- Vargas HA (2007) Dos nuevas especies de Iridopsis Warren (Lepidoptera, Geometridae) del norte de Chile. *Rev Bras De Entomol* 51(2):138–141. <https://doi.org/10.1590/s0085-56262007000200003>
- Vargas HA (2010) Una nova espécie de Glena Hulst (Lepidoptera, Geometridae) do norte do Chile. *Rev Bras De Entomol* 54(1):42–44. <https://doi.org/10.1590/S0085-56262010000100005>
- Vargas-Ortiz M, Bobadilla D, Huanca-Mamani W, Vargas HA (2018) Genetic divergence of isolated populations of the native micro-moth *Bucculatrix mirnae* (Lepidoptera: Bucculatricidae) in the arid environments of Northern Chile. *Mitochondrial DNA Part a: DNA Mapping, Sequencing*. *Anal* 29(8):1139–1147. <https://doi.org/10.1080/24701394.2017.1419215>
- Vargas-Ortiz M, Aliaga-Pichihua G, Lazo-Rivera A, Cerdeña J, Farfán J, Huanca-Mamani W, Vargas HA (2020) Cryptic diversity in the monotypic neotropical micromoth genus *angelabella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in the Peru–Chile desert. *Insects* 11(10):1–13. <https://doi.org/10.3390/insects11100677>
- Warren W (1897) New genera and species of Thyrididae, Epiplemidæ, and Geometridæ, from South and Central America and the West Indies, in the Tring Museum. *Novitates Zoologicae* 4:408–507
- Xia X (2018) DAMBE7: new and improved tools for data analysis in molecular biology and evolution. *Mol Biol Evol* 35(6):1550–1552. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy073>
- Xia X, Xie Z, Salemi M, Chen L, Wang Y (2003) An index of substitution saturation and its application. *Mol Phylogenet Evol* 26(1):1–7. [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(02\)00326-3](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(02)00326-3)
- Zhang J, Kapli P, Pavlidis P, Stamatakis A (2013) A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics* 29(22):2869–2876. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt499>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

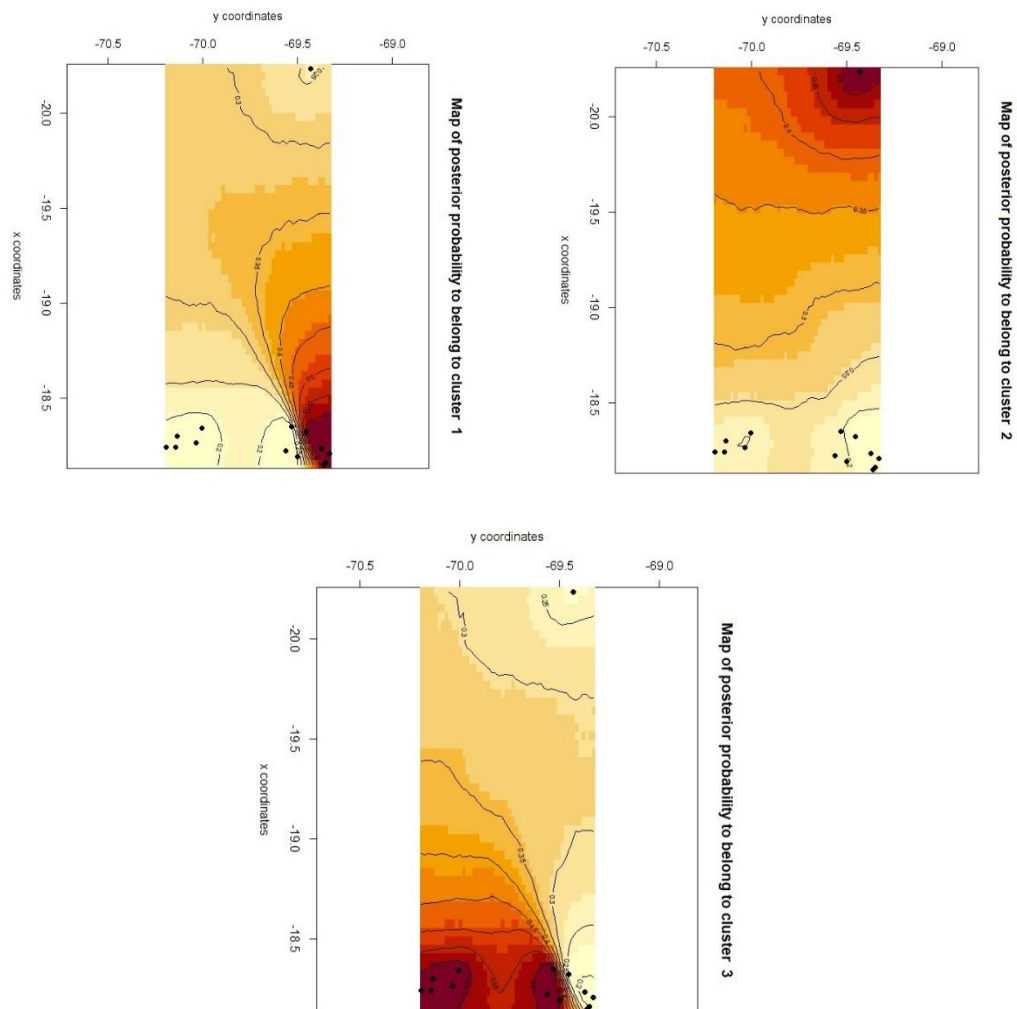
Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

Suppl. 1. Results of Geneland analyses. A. Number of clusters along the chain after burn-in. B. Map of posterior probability to belong to clusters 1-4 (indicated by dark colors).

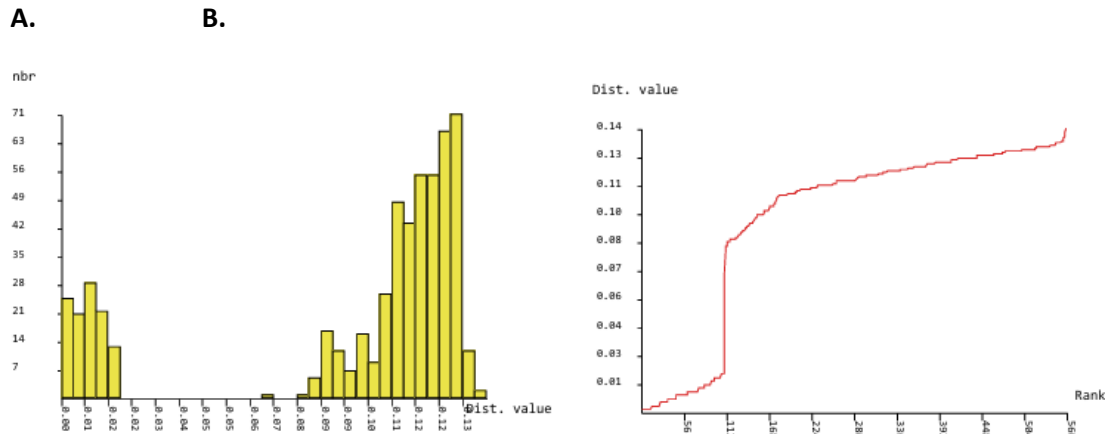
A.



B.



Suppl. 2. Graphical results of the ABGD analysis. A. Histogram of pairwise Kimura 2-parameter distances for the COI marker, showing three barcode gaps. B. Ranked pairwise distances. C. Number of groups for partitions per value of prior intraspecific divergence. *Physocleora polyphaga* sp.nov. is indicated with red rectangle in C.

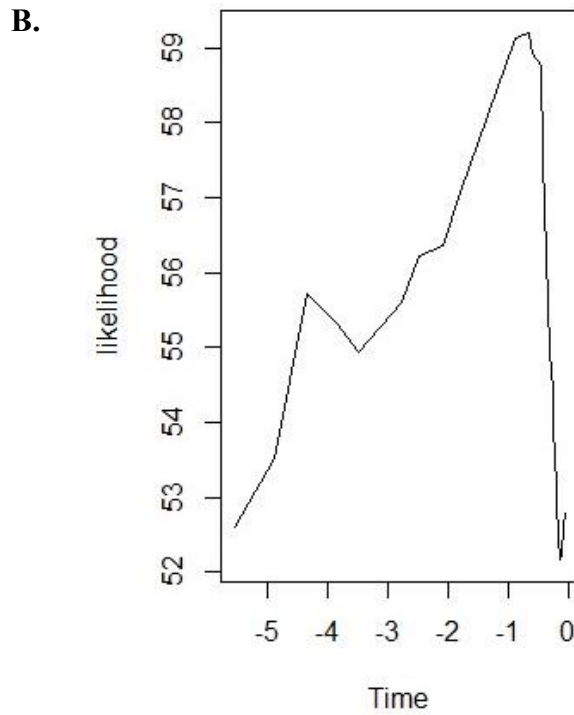
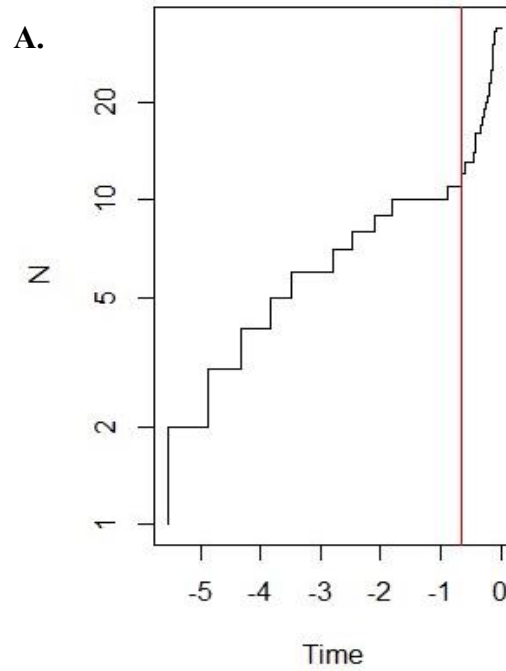


C.

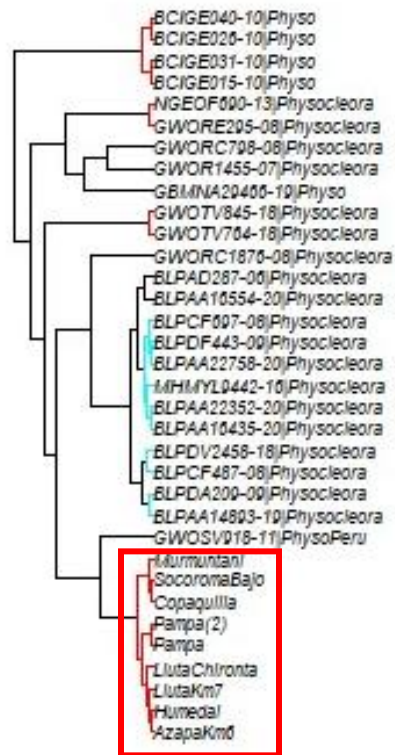
Initial Partition with prior maximal distance $P=4.64e-03$; Barcode gap distance = 0.043
Distance K80 Kimura MinSlope=1.500000
Download (left click and save) or see below the tree file corresponding to this partition: click [here](#)

Group[1] n: 1 ;id: GBMNA29466-19|Physo
Group[2] n: 4 ;id: BCIGE015-10|Physo BCIGE026-10|Physo BCIGE031-10|Physo BCIGE040-10|Physo
Group[3] n: 9 ;id: AzapaKm6 Phy1 LlutaKm7 Phy17 LlutaChironta Phy43 Copaquilla Phy49 SocoromaBajo Phy16 Humedal
Phy118 Murmuntani Phy127 Pampa2 Pampa
Group[4] n: 1 ;id: GWOSV918-11|PhysoPeru
Group[5] n: 2 ;id: GWOTV845-18|Physocleora AH02Pe|COI-5P GWOTV764-18|Physocleora AH02Pe|COI-5P
Group[6] n: 1 ;id: GWORC1876-08|Physocleora AH11Pe|COI-5P
Group[7] n: 1 ;id: GWOR1455-07|Physocleora bellaAH03Ec|COI-5P
Group[8] n: 1 ;id: GWORC798-08|Physocleora bellaAH01Ec|COI-5P
Group[9] n: 2 ;id: GWORE295-08|Physocleora castaneata|COI-5P NGE0F690-13|Physocleora castaneata|COI-5P|KU381339
Group[10] n: 12 ;id: BLPA16435-20|Physocleora taeniataDHJ01|COI-5P BLPA22352-20|Physocleora taeniataDHJ01|COI-5P
BLPA22758-20|Physocleora taeniataDHJ01|COI-5P BLPCF697-08|Physocleora taeniataDHJ01|COI-5P|JQ562227
BLPDF443-09|Physocleora taeniataDHJ01|COI-5P|GU674925 MHMYL9442-16|Physocleora taeniataDHJ01|COI-5P
BLPAD287-06|Physocleora taeniataDHJ02|COI-5P|JQ579392 BLPA14893-19|Physocleora taeniataDHJ04|COI-5P
BLPA16554-20|Physocleora taeniataDHJ04|COI-5P BLPCF487-08|Physocleora taeniataDHJ04|COI-5P|JQ562029 BLPDA209-09|Physocleora taeniataDHJ04|COI-5P|JQ550790 BLPDV2458-18|Physocleora taeniataDHJ04|COI-5P

Suppl. 3. Results of the st-GMYC analysis. A. Number of lineages over time (years) (red vertical line indicates the threshold time between inter- intraspecific branching). B. Likelihood surface through time. C. Tree with species delimited (indicated by red branches). Delimitation supports for *Physocleora polyphaga* **sp.nov.**, indicated with red square (Fig. C).



C.

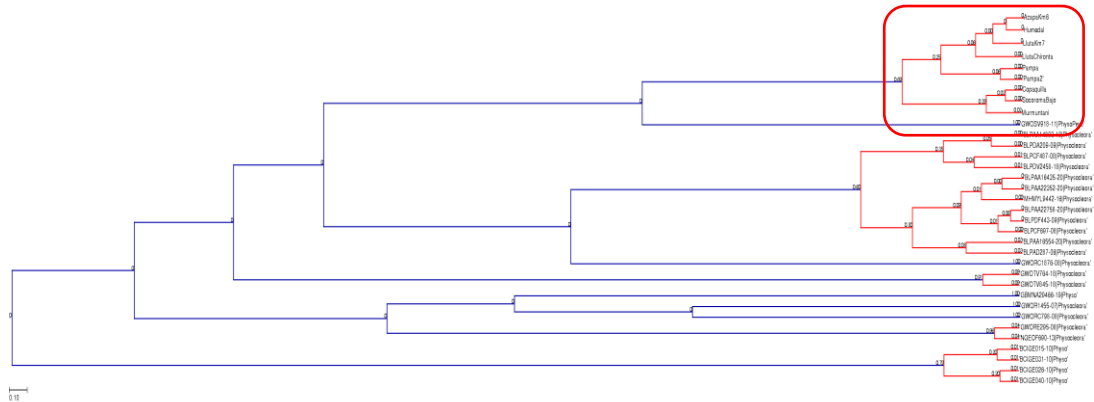


Suppl. 4. Results of the bPTP analysis. A. Highest Bayesian supported solution. B.

Delimitation supports for *Physocleora polyphaga* **sp.nov.**, indicated with red square (Fig.

A) and arrow (Fig. B).

A.



B.

```
# Most supported partition found by simple heuristic search
Species 1 (support = 0.792)
  'BCIGE015-10|Physo', 'BCIGE031-10|Physo', 'BCIGE026-10|Physo', 'BCIGE040-10|Physo'

Species 2 (support = 0.913)
  'GWOTV764-18|Physocleora', 'GWOTV845-18|Physocleora'

Species 3 (support = 0.959)
  'GWORE295-08|Physocleora', 'NGE0F690-13|Physocleora'

Species 4 (support = 1.000)
  'GBMNA29466-19|Physo'

Species 5 (support = 0.597)
  'BLPAA14893-19|Physocleora', 'BLPDA209-09|Physocleora', 'BLPCF487-08|Physocleora', 'BLPDV2458-18|Physocleora', 'BLPAA16435-20|Physocleora',
  'BLPAA22352-20|Physocleora', 'MMMYL9442-16|Physocleora', 'BLPAA22758-20|Physocleora',
  'BLPDF443-09|Physocleora', 'BLPCF697-08|Physocleora', 'BLPAA16554-20|Physocleora', 'BLPAD287-06|Physocleora'

Species 6 (support = 1.000)
  'GWORC1876-08|Physocleora'

Species 7 (support = 0.689)
  AzapaKm6, Humedal, LlutaKm7, LlutaChironta, Pampa, 'Pampa2', Copaquilla, SocoromaBajo, Murmuntani

Species 8 (support = 1.000)
  'GWOSV918-11|PhysoPeru'

Species 9 (support = 1.000)
  'GWOR1455-07|Physocleora'

Species 10 (support = 1.000)
  'GWORC798-08|Physocleora'
```