



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Diversidad genética de materiales de
gusano de seda *Bombyx mori* L.,
mediante la aplicación de marcadores
moleculares nucleares (SSR) y de ADN
mitocondrial (COI).**

Julián David Trochez Solarte

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Palmira, Colombia

2019

Diversidad genética de materiales de gusano de seda *Bombyx mori* L., mediante la aplicación de marcadores moleculares nucleares (SSR) y de ADN mitocondrial (COI).

Julián David Trochez Solarte

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ciencias Biológicas

Director:

Ph.D. Jaime Eduardo Muñoz Florez

Codirectora:

M.Sc. Ximena Ruiz Erazo

Línea de Investigación:

Diversidad Genética Animal

Grupo de Investigación:

Grupo de Investigación en Diversidad Biológica

Grupo de investigación en Sistemas Integrados de Producción Agropecuaria, Forestal y Acuícola

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Palmira, Colombia

2019

A mi madre, el pilar fundamental, el apoyo incondicional, la constante e inagotable fuente de motivación y sabiduría en mi vida, la esencia de lo que soy se lo debo a ella, y todo lo que hago será para enorgullecerla siempre.

"...Y entonces, un día, llegó una criatura cuyo material genético no era muy diferente de las estructuras moleculares reproductoras de cualquier otra clase de organismos del planeta, que dicha criatura llamó Tierra. Pero era capaz de reflexionar sobre el misterio de su origen, de estudiar el extraño y tortuoso sendero por el cual había surgido desde la materia estelar. Era el material del cosmos contemplándose a sí mismo..."

Carl Sagan.

Agradecimientos

Al proyecto “Desarrollo Tecnológico para la Obtención de productos Orgánicos e Innovadores de Seda Natural”, operado por el convenio entre la Gobernación y la Universidad del Cauca y financiado por fondos del Sistema General de Regalías, y a todo su equipo de trabajo por el apoyo científico, financiero y moral durante el desarrollo de la investigación.

A la profesora Martha I. Almanza, la M.Sc. Ximena Ruiz y el grupo de investigación SISINPRO por la guía y acompañamiento constante, así como por las oportunidades brindadas para mi formación y crecimiento profesional.

Al profesor Jaime Eduardo Muñoz, al grupo de investigación en Diversidad Biológica y al equipo de trabajo y personas vinculadas al laboratorio de biología molecular por el acceso a los espacios e instrumentos, la capacitación y la ayuda continuamente proporcionada.

A mis compañeros y colegas de estudios de maestría en la Universidad del Cauca y en la Universidad Nacional por todas las experiencias compartidas que enriquecieron mi vida a nivel ético, académico y humano.

A mis amigos por el apoyo, la confianza, los buenos y malos momentos que hemos compartido durante las distintas etapas universitarias, que en conjunto han fortalecido mi crecimiento personal y espiritual.

A mi madre y hermana, por la disciplina y amor que siempre imprimieron en mi crianza, por el apoyo constante durante toda mi vida y formación universitaria, y por ser un ejemplo constante de fuerza, bondad, voluntad, honestidad y decisión.

Resumen

La sericultura o producción de seda a partir de la cría del gusano de seda *Bombyx mori* L. (Bombycidae) es una actividad agroindustrial estratégica para el desarrollo socio-económico del departamento del Cauca, Colombia. Analizar la diversidad genética de *B. mori* es fundamental para la conservación y uso de sus recursos genéticos. El estudio evaluó 13 materiales japoneses, chinos e híbridos, del banco de germoplasma de *B. mori* de la Universidad del Cauca, ubicado en el departamento del Cauca, utilizando seis microsatélites (SSR) y la región COI. Fueron detectados 33 alelos en los loci SSR, con un rango entre 3 y 9, y un PIC entre 0,317 y 0,701, indicando que FL0933 y FI0619 son marcadores altamente informativos. En promedio, los valores de cada material para el número de alelos por locus (Npa), la heterocigosidad promedio entre loci observada (Hpo) y esperada (Hpe) fueron de 2,179, 0,347 y 0,321 respectivamente, indicando altos niveles de homocigosidad. Los híbridos presentaron valores superiores de Hpe y Npa, seguidos por los japoneses y chinos, señalando de mayor a menor el nivel de variabilidad genética presente en estos grupos poblacionales. El AMOVA y los índices de fijación no revelaron diferencias intrapoblacionales significativas (3%), señalando que los materiales están en equilibrio de Hardy-Weinberg, sin embargo, indicaron diferencias significativas entre los híbridos, japoneses y chinos (10%), así como entre los materiales que conforman estos grupos poblacionales (27%). El análisis de agrupamiento generó tres grupos, el I y el III confirman la separación por el origen geográfico, este último está distanciado genéticamente del resto por valores promedio superiores al 0,4, debido a la presencia de seis alelos exclusivos en los materiales japoneses. La región COI presentó un sitio segregante y dos haplotipos que confirmaron la procedencia europea de los materiales, pero la variabilidad fue insuficiente para discriminarlos individualmente. Los hallazgos sugieren la disponibilidad de diversidad genética amplia y estructurada, distribuida principalmente en los grupos poblacionales híbrido y japonés, revelando además que estos últimos representan un grupo poblacional altamente diferenciado.

Palabras clave: ADN mitocondrial, *Bombyx mori*, diversidad genética, gusano de seda, microsatélite, región COI, simple sequence repeats, SSR.

Abstract

Sericulture, the production of silk from the breeding of the silkworm *Bombyx mori* L. (Bombycidae) is a strategic agro-industrial activity for the socio-economic development of the department of Cauca, Colombia. Analyzing the genetic diversity of *B. mori* is fundamental for the conservation and use of its genetic resources. The study evaluated 13 Japanese, Chinese and hybrid materials, from the *B. mori* germplasm bank of "Universidad del Cauca" located in the department of Cauca, using six microsatellites (SSR) and the COI region. Thirty-three alleles were detected in the SSR loci, with a range between 3 and 9, and a PIC between 0,317 and 0,701, indicating that FL0933 and FI0619 are highly informative markers. On average, the values of each material for the number of alleles per locus (Npa), the average heterozygosity observed (Hpo) and expected (Hpe) between loci were 2,179, 0,347 and 0,321 respectively, indicating high homozygosity levels. The hybrids presented superior values of Hpe and Npa, followed by the Japanese and Chinese materials, indicating from greater to lesser the level of genetic variability present in these population groups. The AMOVA and fixation indices did not reveal significant intrapopulation differences (3%), indicating that the materials are in Hardy-Weinberg equilibrium, however indicated significant differences between hybrids, Japanese and Chinese (10%), as well as between the materials that comprise these population groups (27%). The cluster analysis generated three groups, I and III confirm the separation by geographical origin, the latter is genetically distanced from the rest by average values higher than 0,4, due to the presence of six exclusive alleles in Japanese materials. The COI region presented a segregating site and two haplotypes that confirmed the European origin of the materials, but the variability was insufficient to discriminate them individually. The findings suggest the availability of broad and structured genetic diversity, distributed mainly in the hybrid and Japanese population groups, also revealing that the latter represent a highly differentiated population group.

Key words: *Bombyx mori*, COI region, genetic diversity, microsatellite, mitochondrial DNA, silkworm, simple sequence repeats, SSR.

Contenido

| | Pág. |
|---|-------------|
| Lista de figuras..... | XIV |
| Lista de tablas | XV |
| Lista de anexos | XVII |
| Introducción | 1 |
| 1. Marco teórico..... | 3 |
| 1.1 Sericultura..... | 3 |
| 1.1.1 Historia | 3 |
| 1.1.2 Importancia económica..... | 4 |
| 1.2 Gusano de seda..... | 5 |
| 1.2.1 Taxonomía..... | 5 |
| 1.2.2 Ciclo de vida y morfología..... | 5 |
| 1.2.3 Origen..... | 6 |
| 1.2.4 Clasificaciones de acuerdo con caracteres biológicos y económicos..... | 7 |
| 1.3 Marcadores genéticos | 8 |
| 1.3.1 Marcadores moleculares..... | 8 |
| 1.3.2 Región COI..... | 9 |
| 1.3.3 Microsatélites..... | 10 |
| 1.4 Análisis de diversidad genética | 11 |
| 1.4.1 Descripción de la diversidad genética..... | 11 |
| 1.4.2 Cuantificación de las relaciones genéticas..... | 14 |
| 1.4.3 Visualización de las relaciones genéticas | 15 |
| 2. Antecedentes..... | 17 |

| | |
|--|-----------|
| 3. Materiales y métodos..... | 21 |
| 3.1 Establecimiento de la colección de ADN de <i>B. mori</i> | 21 |
| 3.1.1 Material genético | 21 |
| 3.1.2 Extracción y purificación del ADN..... | 22 |
| 3.1.3 Determinación de la calidad y almacenamiento..... | 23 |
| 3.2 Caracterización genotípica y análisis de los microsatélites | 23 |
| 3.2.1 Amplificación por PCR y verificación por electroforesis | 23 |
| 3.2.1 Detección automatizada y determinación de genotipos | 24 |
| 3.2.2 Análisis de los datos de los microsatélites..... | 25 |
| 3.2.2.1 Características de los loci empleados | 25 |
| 3.2.2.2 Diversidad intrapoblacional | 25 |
| 3.2.2.3 Estructura genética | 26 |
| 3.2.2.4 Análisis de agrupamiento | 26 |
| 3.3 Secuenciación y análisis de la región COI | 27 |
| 3.3.1 Amplificación por PCR y verificación con electroforesis..... | 27 |
| 3.3.2 Secuenciación y edición | 27 |
| 3.3.3 Análisis de los datos de la región COI | 28 |
| 3.3.3.1 Parámetros de diversidad genética | 28 |
| 3.3.3.2 Reconstrucción filogenética..... | 28 |
| 4. Resultados y discusión | 29 |
| 4.1 Características de la colección de ADN | 29 |
| 4.1.1 Concentración y pureza..... | 29 |
| 4.1.2 Integridad del ADN..... | 30 |
| 4.1.3 Funcionalidad de las muestras de ADN..... | 30 |
| 4.2 Análisis de los datos: Microsatélites..... | 31 |
| 4.2.1 Características de los loci empleados | 31 |
| 4.2.1.1 Matriz de genotipos | 31 |
| 4.2.1.2 Número de alelos y contenido de información polimórfica | 31 |
| 4.2.1.3 Prueba de ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg (HW)..... | 33 |
| 4.2.1.4 Prueba de desviación del equilibrio de ligamiento | 34 |
| 4.2.1.5 Prueba de neutralidad de Ewens-Watterson | 35 |
| 4.2.2 Diversidad intrapoblacional..... | 36 |
| 4.2.2.1 Heterocigosidad observada, esperada e índice de fijación | 36 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 4.2.2.2 | Patrones alélicos | 40 |
| 4.2.3 | Estructura genética..... | 43 |
| 4.2.4 | Análisis de agrupamiento..... | 45 |
| 4.2.4.1 | Distancia genética de Nei | 45 |
| 4.2.4.2 | UPGMA y análisis de coordenadas principales..... | 46 |
| 4.3 | Análisis de los datos: Región COI | 51 |
| 4.3.1 | Características y estimaciones de diversidad genética | 51 |
| 4.3.2 | Reconstrucción filogenética | 52 |
| 5. | Conclusiones y recomendaciones..... | 55 |
| 5.1 | Conclusiones..... | 55 |
| 5.2 | Recomendaciones..... | 56 |
| 6. | Anexos | 59 |
| 7. | Bibliografía | 67 |

Lista de figuras

| | Pág. |
|--|------|
| Figura 4-1: Gel de agarosa (0,8%) representativo de la integridad de las muestras de la colección de ADN. | 30 |
| Figura 4-2: Gel de agarosa (2,5%) para verificar la amplificación por PCR del microsatélite FL0933 con muestras de ADN de <i>B. mori</i> de baja calidad.. | 30 |
| Figura 4-3: Dendrograma basado en la distancia genética insesgada de Nei y el método UPGMA para analizar la relación entre 13 materiales de <i>B. mori</i> | 47 |
| Figura 4-4: Diagrama de caja con que compara la distancia genética promedio de Nei entre y al interior de las agrupaciones propuestas con respecto al total (Prom-T)..... | 48 |
| Figura 4-5: Análisis de coordenadas principales (PCoA) con la distancia genética de Nei entre 13 materiales de <i>B. mori</i> | 49 |
| Figura 4-6: Análisis de coordenadas principales (PCoA) con la distancia genotípica entre los 117 individuos de <i>B. mori</i> analizados..... | 50 |
| Figura 4-7: Árbol filogenético de la región COI de <i>B. mori</i> y <i>B. mandarina</i> , construido con el método de máxima verosimilitud y basado en el modelo evolutivo de Kimura-2-parametros (Kimura, 1980).. | 53 |

Lista de tablas

| | Pág. |
|--|------|
| Tabla 1-1: Parámetros empleados para describir la diversidad genética intrapoblacional con microsatélites..... | 12 |
| Tabla 1-2: Parámetros empleados para describir la diversidad genética intrapoblacional con secuencias de ADN. | 13 |
| Tabla 3-1: Materiales analizados de la colección de <i>B. mori</i> | 21 |
| Tabla 3-2: Microsatélites utilizados para analizar la diversidad genética en <i>B. mori</i> | 23 |
| Tabla 3-3: Coctel para amplificar 6 microsatélites en <i>B. mori</i> | 24 |
| Tabla 3-4: Marcaje fluorescente de los 8 microsatélites y paneles conformados..... | 24 |
| Tabla 4-1: Concentración y pureza promedio de las muestras de ADN de <i>B. mori</i> | 29 |
| Tabla 4-2: Características de los microsatélites empleados en el análisis..... | 31 |
| Tabla 4-3: Estimadores asociados a la prueba de desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg para 6 microsatélites. | 33 |
| Tabla 4-4: Prueba de desviación del equilibrio de ligamiento entre 6 microsatélites. | 34 |
| Tabla 4-5: Prueba de neutralidad de Ewens -Watterson para 6 microsatélites..... | 35 |
| Tabla 4-6: Heterocigosidad e índice de fijación promedio por población. | 37 |
| Tabla 4-7: Heterocigosidad e índices de fijación promedio por grupo poblacional..... | 37 |
| Tabla 4-8: Patrones alélicos por población..... | 40 |
| Tabla 4-9: Patrones alélicos por grupo poblacional. | 41 |
| Tabla 4-10: Alelos exclusivos por población..... | 43 |

| | |
|---|----|
| Tabla 4-11: AMOVA – Fst entre 13 materiales de <i>B. mori</i> organizados en grupos poblacionales híbridos, chinos y japoneses. | 44 |
| Tabla 4-12: Significancia estadística del AMOVA – Fst mediante estadísticos F. | 45 |
| Tabla 4-13: Distancia genética de Nei entre 9 líneas puras y 4 híbridos de <i>B. mori</i> | 46 |
| Tabla 4-14: Características y estimaciones de diversidad genética de 13 secuencias de la región COI en <i>B. mori</i> | 51 |

Lista de anexos

| | Pág. |
|---|------|
| Anexo 6-1: Polillas colectadas de los materiales híbridos | 59 |
| Anexo 6-2: Polillas colectadas de los materiales chinos. | 59 |
| Anexo 6-3: Polillas colectadas de los materiales japoneses. | 60 |
| Anexo 6-4: Concentración y pureza individual de las muestras de ADN de <i>B. mori</i> | 60 |
| Anexo 6-5: Geles de agarosa (0,8%) para verificar la integridad del ADN de las muestras de los materiales híbridos, japoneses y chinos de la colección de ADN de <i>B. mori</i> | 62 |
| Anexo 6-6: Matriz de genotipos de 6 microsatélites en 117 muestras de <i>B. mori</i> | 63 |
| Anexo 6-7: AMOVA – Fst entre 13 materiales de <i>B. mori</i> organizados en los clúster propuestos por el análisis de agrupamiento. | 64 |
| Anexo 6-8: Parentesco promedio (r) entre los individuos que conforman las agrupaciones propuestas con respecto al promedio total. | 65 |
| Anexo 6-9: Secuencia de referencia de la región COI de <i>B. mori</i> , en formato FASTA. ... | 65 |
| Anexo 6-10: Alineamiento múltiple de secuencias de la región COI de <i>B. mori</i> y <i>B. mandarina</i> con Clustal W. | 65 |

- Biodiversity: Plants and Animals* (pp. 315–325). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Bilde, T., Lubin, Y., Smith, D., Schneider, J. M., & Maklakov, A. A. (2005). The transition to social inbred mating systems in spiders: role of inbreeding tolerance in a subsocial predecessor. *Evolution*, 59(1), 160–174. John Wiley & Sons, Ltd (10.1111).
- Bindroo, B., y Manthira, S. (2014). Genetic divergence, implication of diversity, and conservation of silkworm, *Bombyx mori*. *International Journal of Biodiversity*, 2014.
- Blouin, M. S. (2003). DNA-based methods for pedigree reconstruction and kinship analysis in natural populations. *Trends in Ecology and Evolution*, 18(10), 503–511.
- Bolívar, A. M., Rojas, A., y García-Lugo, P. (2014). PCR y PCR-Múltiple: parámetros críticos y protocolo de estandarización. *Avances en biomedicina*, 3(1), 25–33. Instituto de Inmunología Clínica. Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes.
- Borisenko, A. V, Lim, B. K., Ivanova, N. V, Hanner, R. H., y Hebert, P. D. N. (2008). DNA barcoding in surveys of small mammal communities: a field study in Suriname. *Molecular Ecology Resources*, 8(3), 471–479.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., y Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32(3), 314. Elsevier.
- Brown-Guedira, G., Thompson, J., Nelson, R., y Warburton, M. (2000). Evaluation of genetic diversity of soybean introductions and North American ancestors using RAPD and SSR markers. *Crop Science*, 40(3), 815–823.
- Brown, A. H. D., y Briggs, J. D. (1991). Sampling strategies for genetic variation in *ex situ* collections of endangered plant species. *Genetics and Conservation of Rare Plants* (pp. 99–119). Nueva York: Oxford University Press.
- Buhroo, Z. I., Ganai, N. A., y Bhat, M. A. (2016). Molecular marker systems with special reference to the silkworm *Bombyx mori* L. *International Journal of Bioassays*, 5(11), 5025–5040.
- Buhroo, Z. I., Ganai, N. A., Malik, M. A., Kamili, A. S., y Mir, S. A. (2017). Genomic DNA extracted from long preserved silkworm samples suitable for genetic diversity studies. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(1), 643–648.
- Caixeta, E. T., Ferrão, L. F. V., Maciel-Zambolim, E., y Zambolim, L. (2014). Chapter 2 - Molecular Markers. In *Biotechnology and Plant Breeding* (pp. 19–45). San Diego: Academic Press.

- Capinera, J. (2008). *Encyclopedia of entomology* (Vol. 4). Springer Science y Business Media.
- Caterino, M. S., Reed, R. D., Kuo, M. M., y Sperling, F. A. H. (2001). A partitioned likelihood analysis of swallowtail butterfly phylogeny (Lepidoptera: Papilionidae). *Systematic Biology*, 50(1), 106–127. Oxford University Press.
- Caujapé-Castells, J. (2006). Brújula para botánicos desorientados en la genética de poblaciones. *Exegen Ediciones. Las Palmas de Gran Canaria. España*.
- Chandrakanth, N., Moorthy, S. M., Anusha, P., Dayananda, A., y Bindroo, B. B. (2014). Evaluation of genetic diversity in silkworm (*Bombyx mori* L.) strains using microsatellite markers. *International Journal of Biotechnology and Allied Fields*, 2(3), 73–93.
- Cifuentes, C., y Sohn, K. W. (1998). Manual técnico de sericultura: cultivo de la morera y cría del gusano de seda en el trópico. *Convenio SENA-CDTS. Colombia*.
- Collard, B., Jahufer, M., Brouwer, J., y Pang, E. (2005). An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. *Euphytica*, 142(1–2), 169–196.
- Cox, A. J., y Hebert, P. D. N. (2001). Colonization, extinction, and phylogeographic patterning in a freshwater crustacean. *Molecular Ecology*, 10(2), 371–386.
- Cruz, C. D., Salgado, C. C., y Bhering, L. L. (2014). Chapter 3 - Biometrics applied to molecular analysis in genetic diversity BT - Biotechnology and Plant Breeding (pp. 47–81). San Diego: Academic Press.
- Dalirsefat, S. B., y Mirhoseini, S. Z. (2007). Assessing genetic diversity in Iranian native silkworm (*Bombyx mori* L.) strains and Japanese commercial lines using AFLP markers. *Iranian Journal of Biotechnology*, 5(1), 25–33.
- Das, S. K. (2001). Techniques of breeding for evolving improved breeds of bivoltine mulberry silkworm *Bombyx mori*. *Cytology and Genetics*, 10, 129–134.
- Das, S. K., Sen, S. K., y Saratchandra, B. (1998). Improvement of commercial traits in mulberry silkworm *Bombyx mori* L by hybridization. *Cytology and Genetics*, 9, 101–108.
- De Bruyn, A., Martin, D. P., y Lefevre, P. (2014). Phylogenetic reconstruction methods: An Overview. In P. Besse (Ed.), *Molecular Plant Taxonomy: Methods and Protocols* (pp. 257–277). Totowa, NJ: Humana Press.

- De Vicente, M. C., López, C., y Fulton, T. (2004). *Genetic diversity analysis with molecular marker data: learning module*. International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI). Roma, Italia.
- Edwards, A., Civitello, A., Hammond, H., y Caskey, C. (1991). DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *American Journal of Human Genetics*, 49(4), 746–756.
- Efron, B. (1979). Bootstrap methods: another look at the jackknife. *The Annals of Statistics*, 7(1), 1–26.
- Eguiarte, L. E. (2007). *Ecología molecular*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología.
- Elices, M., Rigueiro, J., Plaza, G., y Guinea, G. (2011). Usos médicos de la seda. *Investigación y Ciencia*, 419(1), 28–35.
- Ellegren, H. (2004). Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics*, 5, 435–445. Nature Publishing Group.
- Ellegren, H., & Galtier, N. (2016). Determinants of genetic diversity. *Nature Reviews Genetics*, 17(7), 422. Nature Publishing Group.
- Eroğlu, D., y Arica, Ş. (2009). Molecular genetic analysis of three Turkish local silkworm breeds (Bursa Beyazı, Alaca and Hatay Sarısı) by RAPD-PCR method. *Journal of Applied Biological Sciences*, 3(2), 17–20.
- Excoffier, L. (2001). Analysis of population subdivision. *Handbook of Statistical Genetics*, 713.
- Excoffier, L., y Lischer, H. E. L. (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.
- Excoffier, L., y Slatkin, M. (1998). Incorporating genotypes of relatives into a test of linkage disequilibrium. *The American Journal of Human Genetics*, 62(1), 171–180.
- Excoffier, L., Smouse, P. E., y Quattro, J. M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2), 479–491.
- Fassina, V. A., Bignotto, T. S., Munhoz, R. E. F., Fulan, B., Bravo, J. P., Garay, L. B., ... Pessini, G. M. (2014). Low genetic polymorphism at the cytochrome C oxidase I in silkworm strains of the brazilian germplasm bank. *Open Journal of Genetics*, 4(3), 202–209.

- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. *Evolution*, 39(4), 783–791.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., y Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294–299.
- Frankel, O. H., Brown, A. H. D., y Burdon, J. J. (1995). The Conservation of plant biodiversity. The conservation of plant biodiversity. Reino Unido: Cambridge University Press.
- Furdui, E., Mărghitaș, L. A., Dezmirean, D. S., Pașca, I., Pop, I. F., Erler, S., y Schlüns, E. A. (2014). Genetic characterization of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) breeding and hybrid lines with different geographic origins. *Journal of Insect Science*, 14(1), 211–216.
- Furdui, E., Mărghitaș, L., Dezmirean, D., Pop, I., Coroian, C., y Pașca, I. (2011). Genetic phylogeny and diversity of some Romanian silkworms based on RAPD technique. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 44(1), 204–208.
- Garcia, J. B., y Pereira, M. F. (2013). Cooperation to increase silk production in Latin America. “Building Value Chains in Sericulture” “BISERICA” 2013, 51.
- Garris, A. J., Tai, T. H., Coburn, J., Kresovich, S., y McCouch, S. (2005). Genetic structure and diversity in *Oryza sativa* L. *Genetics*, 169(3), 1631 LP-1638.
- Gauch, H. G. (1982). *Multivariate analysis in community ecology*. Cambridge University Press.
- Gaviria, D., Aguilar, E., Ramírez, L., y Alegría, Á. (2006). Caracterización molecular de líneas de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) mediante AFLP. *Revista Colombiana de Entomología*, 32(2), 221–227.
- Gaviria, D., Aguilar, E., Serrano, H., y Alegria, A. (2006). DNA fingerprinting using AFLP markers to search for markers associated with yield attributes in the silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Insect Science*, 6(1).
- Goldsmith, M. R. (2009). Recent progress in silkworm genetics and genomics. In M. R. Goldsmith y M. Frantisek (Eds.), *Molecular Biology and Genetics of the Lepidoptera* (pp. 25–48). New York: CRC press.
- Goldstein, D. B., Linares, A. R., Cavalli-Sforza, L. L., y Feldman, M. W. (1995). An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci. *Genetics*, 139(1), 463–471.

- Graner, A., Dehmer, K. J., Thiel, T., y Börner, A. (2004). Plant genetic resources: benefits and implications of using molecular markers. In Bioversity International (Ed.), *The Evolving Role of Genebanks in the Fast-developing Field of Molecular Genetics - Issues in Genetic Resources No. 11* (pp. 26–32).
- Granevitze, Z., Hillel, J., Feldman, M., Six, A., Eding, H., y Weigend, S. (2009). Genetic structure of a wide-spectrum chicken gene pool. *Animal Genetics*, 40(5), 686–693. John Wiley y Sons, Ltd (10.1111).
- Haghighi, M. T., y Jagadeesh Kumar, T. S. (2017). Genetic divergence and allelic-specificity in relation to expression of voltinism in silkworm using ISSR and RAPD fingerprinting. *Russian Journal of Genetics*, 53(2), 267–274.
- Haghighi, M. T., y Kumar, T. S. J. (2016). Genetic divergence and voltinism's expression in silkworm: revealed through DNA Barcoding. *International Journal of Pure and Applied Bioscience*, 4(4), 255–263.
- Hair, J., Black, W., Babin, B., y Anderson, R. (2010). *Multivariate data analysis a global perspective*, Prentice Hall. *Upper Saddle River, NJ*.
- Hair, J. F., Anderson, R. E., Tatham, R. L., y Black, W. C. (1995). *Multivariate data analysis with readings*. Prentice Hall International Editions (4th ed.). Prentice Hall.
- Hamilton, M. B. (2009). *Population Genetics*. (John Wiley y Sons, Ed.) (Primera.). Reino Unido: Wiley.
- Hartl, D. L., y Clark, A. G. (1997). *Principles of population genetics* (Tercera.). Sinauer associates Sunderland, MA.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., y Ball, S. L. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 270(1512), 313–321.
- Hebert, P. D. N., Stoeckle, M. Y., Zemplak, T. S., y Francis, C. M. (2004). Identification of birds through DNA barcodes. *Plos Biology*, 2(10), e312.
- Henry, R. J. (Ed.). (2001). *Plant genotyping: the DNA fingerprinting of plants*. CABI publishing.
- Hildebrand, C. E., David, C., Torney, C., y Wagner, P. (1994). Informativeness of polymorphic DNA markers. *The Human Genome Project: Deciphering the Blueprint of Heredity*. University Science Books, CA, USA, 100–102.
- Hillis, D. M., y Bull, J. J. (1993). An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology*, 42(2), 182–192.

- Holderegger, R., Kamm, U., y Gugerli, F. (2006). Adaptive vs. neutral genetic diversity: implications for landscape genetics. *Landscape Ecology*, 21(6), 797–807. Springer.
- Holmes, S. (2003). Bootstrapping phylogenetic trees: theory and methods. *Statistical Science*, 18(2), 241–255. The Institute of Mathematical Statistics.
- Hou, C., Li, M., Zhang, Y., Qian, H., Sun, P., Xu, A., ... Haung, Y. (2007). Analysis of SSR fingerprints in introduced silkworm germplasm resources. *Agricultural Sciences in China*, 6(5), 620–627.
- ISC: International Sericultural Commission. (2015). Statistics. Recuperado Septiembre 28, 2017, de <http://inserco.org/en/statistics>
- Jingade, A. H., Vijayan, K., Somasundaram, P., Srivasababu, G. K., y Kamble, C. K. (2011). A review of the implications of heterozygosity and inbreeding on germplasm biodiversity and its conservation in the silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Insect Science*, 11, 8.
- Joshi, S. P., Ranjekar, P. K., y Gupta, V. S. (1999). Molecular markers in plant genome analysis. *Current Science*, 77(2), 230–240.
- Kalinowski, S. T., Taper, M. L., y Marshall, T. C. (2007). Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology*, 16(5), 1099–1106.
- Karp, A., Kresovich, S., Bhat, K. V., Ayad, W. G., y Hodgkin, T. (1997). *Molecular Tools in Plant Genetic Resources Conservation: A Guide to the Technologies*. (A. Karp y International Plant Genetic Resources Institute, Eds.). Roma, Italia: IPGRI.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., ... Duran, C. (2012). Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647–1649.
- Kim, I., Bae, J.-S., Sohn, H.-D., Kang, P.-D., Ryu, K.-S., Sohn, B.-H., ... Jin, B.-R. (2000). Genetic homogeneity in the domestic silkworm, *Bombyx*, and Phylogenetic relationship between *B. mori* and the wild silkworm, *B. mandarina* using mitochondrial COI gene sequences. *International Journal of Industrial Entomology*, 1(1), 9–17.
- Kim, K. Y., Lee, E. M., Lee, I. H., Hong, M. Y., Kang, P. D., Choi, K. H., Gui, Z. Z., et al. (2008). Intronic sequences of the silkworm strains of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae): High variability and potential for strain identification. *European Journal of Entomology*, 105(1), 73. Institute of Entomology.

- Kim, K. Y., Kang, P. D., Lee, K. G., Oh, H. K., Kim, M. J., Kim, K.-H., ... Kim, I. (2010). Microsatellite analysis of the silkworm strains (*Bombyx mori*): high variability and potential markers for strain identification. *Genes y Genomics*, 32(6), 532–543.
- Kim, K.-Y., Kang, P.-D., Ryu, K.-S., Kim, K.-H., Sung, G.-B., Ji, S.-D., ... Kim, I.-S. (2012). Microsatellite analysis of the silkworm strains (*Bombyx mori*) Originated from China. *International Journal of Industrial Entomology*, 25(1), 81–92.
- Kim, K. Y., Kim, M. J., y Park, J. S. (2014). Microsatellite analysis of silkworm strains (*Bombyx mori*) of japan origin preserved in Korea. *International Journal of Industrial Entomology*, 28(2), 39–50.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16(2), 111–120.
- Kimura, M., y Crow, J. F. (1964). The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49(4), 725–738. Genetics Soc America.
- Kirk, H., y Freeland, J. R. (2011). Applications and implications of neutral versus non-neutral markers in molecular ecology. *International journal of molecular sciences*, 12(6), 3966–3988. Molecular Diversity Preservation International.
- Kômoto, N., Tsuda, M., Okada, E., Iizuka, T., Kuwabara, N., Sezutsu, H., y Tabei, Y. (2014). Development of methods for risk assessment of transgenic silkworms rearing on biodiversity. *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, 83, 171–179.
- Kreitman, M., y Akashi, H. (1995). Neutral theory and coalescence. In Jones y Bartlett Learning (Ed.), *Genetics of Populations* (Tercera., pp. 407–468). Jones y Bartlett Publishers.
- Kumar, K. A., Somasundaram, P., Ponnuvel, K. M., Babu, G. K. S., Qadri, S. M. H., y Kamble, C. K. (2009). Identification of genetic variations among silkworm races of *Bombyx mori* (L) through bio-molecular tools. *Indian Journal of Sericulture*, 48(2), 116–125.
- Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan, P. A., McWilliam, H., ... Lopez, R. (2007). Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23(21), 2947–2948.

- Li, M.H., Tapio, I., Vilkki, J., Ivanova, Z., Kiselyova, T., Marzanov, N., Činkulov, M., *et al.* (2007). The genetic structure of cattle populations (*Bos taurus*) in northern Eurasia and the neighbouring Near Eastern regions: implications for breeding strategies and conservation. *Molecular Ecology*, 16(18), 3839–3853. John Wiley y Sons, Ltd (10.1111).
- Li, M. H., y Kantanen, J. (2010). Genetic structure of eurasian cattle (*Bos taurus*) based on microsatellites: clarification for their breed classification. *Animal Genetics*, 41(2), 150–158. John Wiley y Sons, Ltd (10.1111).
- Li, M., Hou, C., Miao, X., Xu, A., y Huang, Y. (2007). Analyzing genetic relationships in *Bombyx mori* using intersimple sequence repeat amplification. *Journal of Economic Entomology*, 100(1), 202–208.
- Li, M., Shen, L., Xu, A., Miao, X., Hou, C., Sun, P., ... Huang, Y. (2005). Genetic diversity among silkworm (*Bombyx mori* L., Lep., Bombycidae) germplasms revealed by microsatellites. *Genome*, 48(5), 802–810.
- Librado, P., y Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451–1452.
- Litt, M., y Luty, J. A. (1989). A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics*, 44(3), 397.
- Liu, Y.-Q., Qin, L., Li, Y.-P., Wang, H., Xia, R.-X., Qi, Y.-H., ... Xiang, Z.-H. (2010). Comparative genetic diversity and genetic structure of three chinese silkworm species *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae), *Antheraea pernyi* Guérin-Meneville and *Samia cynthia ricini* donovan (Lepidoptera: Saturniidae). *Neotropical Entomology*, 39, 967–976.
- Lu, C., Zhao, A., Zhou, Z., Xiang, Z., y Wan, C. (2000). AFLP analysis of Chinese mulberry wild silkworm (*Bombyx mandarina*) and domestic silkworm (*Bombyx mori*). *Acta Sericologica Sinica*, 27(4), 243–252.
- Lynch, M., y Crease, T. J. (1990). The analysis of population survey data on DNA sequence variation. *Molecular Biology and Evolution*, 7(4), 377–394.
- Madesis, P., Ganopoulos, I., y Tsaftaris, A. (2013). Microsatellites: evolution and contribution. In K. S. Kantartzi (Ed.), *Microsatellites: Methods and Protocols* (pp. 1–13). Totowa, NJ: Humana Press.

- Mallet, J. (2007). Taxonomy of Lepidoptera: the scale of the problem. Recuperado Marzo 18, 2019, from <http://www.ucl.ac.uk/taxome/lepnos.html>.
- Manly, B. F. (1985). Equilibrium gene frequencies at a single locus. In M. B. Usher y M. L. Rosenzweig (Eds.), *The statistics of natural selection on animal populations* (1st ed., pp. 262–283). Chapman y Hall.
- Marshall, D. R., y Brown, A. H. D. (1975). Optimum sampling strategies in genetic conservation. *Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow* (pp. 53–80). London: Cambridge University Press.
- Melchinger, A. E. (1993). Use of RFLP markers for analysis of genetic relationships among breeding materials and prediction of hybrid performance. *International Crop Science I*, (internationalcr), 621–628.
- Messmer, M. M., Melchinger, A. E., Boppenmaier, J., Herrmann, R. G., y Brunklaus-Jung, E. (1992). RFLP analyses of early-maturing European maize germ plasm. *Theoretical and Applied Genetics*, 83(8), 1003–1012.
- Michalakis, Y., y Excoffier, L. (1996). A generic estimation of population subdivision using distances between alleles with special reference for microsatellite loci. *Genetics*, 142(3), 1061–1064.
- Mirhoseini, S. Z. (1998). *Analysis of Genetic diversity in Iranian silkworm using protein and DNA markers*. Ph. D. dissertation, University of Tarbiat Modarres, Tehran, Iran.
- Mirhoseini, S. Z., Dalirsefat, S. B., y Pourkheirandish, M. (2007). Genetic characterization of Iranian native *Bombyx mori* strains using amplified fragment length polymorphism markers. *Journal of Economic Entomology*, 100(3), 939 LP-945.
- Mohammadi, S. A., y Prasanna, B. M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants—salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43(4), 1235–1248.
- Mondini, L., Noorani, A., y Pagnotta, M. A. (2009). Assessing plant genetic diversity by molecular tools. *Diversity*, 1(1), 19–35.
- Moorthy, S. M., Chandrakanth, N., Ashwath, S. K., Kumar, V., y Bindroo, B. B. (2013). Genetic diversity analysis using RAPD marker in some silkworm breeds of *Bombyx mori* L. *Annals of Biological Research*, 4(12), 82–88.
- Moorthy, S. M., Das, S. K., Kar, N. B., y Urs, S. R. (2007). Breeding of bivoltine breeds of *Bombyx mori* L suitable for variable climatic conditions of the tropics. *International Journal of Industrial Entomology*, 14(2), 99–105. Korean Society of Sericultural Science.

- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G., y Erlich, H. (1986). Specific enzymatic amplification of DNA *in vitro*: the polymerase chain reaction. In *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* (Vol. 51, pp. 263–273). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Murthy, B. C. K., Prakash, B. M., y Puttaraju, H. P. (2006). Fingerprinting of non-diapausing silkworm, *Bombyx mori*, using random arbitrary primers. *Cytologia*, 71(4), 331–335.
- Muruges, K. A., Mohankumar, S., y Mahalingam, C. A. (2010). Molecular marker analysis on genetic variation in domesticated silkworm. *Trends in Biosciences*, 3(2), 102–105.
- Nagaraja, G. M., y Nagaraju, J. (1995). Genome fingerprinting of the silkworm, *Bombyx mori*, using random arbitrary primers. *Electrophoresis*, 16(1), 1633–1638.
- Nagaraju, J. G., y Singh, L. (1997). Assessment of genetic diversity by DNA profiling and its significance in silkworm, *Bombyx mori*. *Electrophoresis*, 18(9), 1676–1681.
- Nagaraju, J., y Goldsmith, M. R. (2002). Silkworm genomics-progress and prospects. *Current Science-Bangalore*, 83(4), 415–425.
- Nagaraju, J., Reddy, K. D., Nagaraja, G. M., y Sethuraman, B. N. (2001). Comparison of multilocus RFLPs and PCR-based marker systems for genetic analysis of the silkworm, *Bombyx mori*. *Heredity*, 86(5), 588–597.
- Nei, M. (1972). Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 283–292.
- Nei, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(12), 3321–3323.
- Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89(3), 583–590. Genetics Soc America.
- Nei, M., y Kumar, S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press.
- Nei, M., y Li, W.H. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(10), 5269–5273.
- Nei, M., y Tajima, F. (1981). DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. *Genetics*, 97(1), 145–163.
- Núñez, C., y Escobedo, D. (2011). Uso correcto del análisis clúster en la caracterización de germoplasma vegetal. *Agronomía Mesoamericana*, 22(2), 415–427.

- PADEMÉR. (2003). La influencia de la integración de productores y artesanos en el desarrollo de la corporación para el desarrollo de la sericultura del Cauca, Corseda. Popayán.
- Palumbo, F., Galla, G., Martínez-Bello, L., y Barcaccia, G. (2017). Venetian Local Corn (*Zea mays* L.) Germplasm: disclosing the genetic anatomy of old landraces suited for typical cornmeal mush production. *Diversity*, 9(3), 32.
- Parker, H. G., Kim, L. V., Sutter, N. B., Carlson, S., Lorentzen, T. D., Malek, T. B., Johnson, G. S., *et al.* (2004). Genetic structure of the purebred domestic dog. *Science*, 304(5674), 1160 LP-1164.
- Peakall, R. y Smouse, P. (2006). GenAIEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6(1), 288–295.
- Peakall, R. y Smouse, P. (2015). Appendix 1 – methods and statistics in GenAIEx 6.5.
- Pentinsaari, M., Salmela, H., Mutanen, M., y Roslin, T. (2016). Molecular evolution of a widely-adopted taxonomic marker (COI) across the animal tree of life. *Scientific Reports*, 6, 35275.
- Pereira, N. C., Munhoz, R. E., Bignotto, T. S., Bernal, R., Garay, L. B., Saez, C. R., ... Fernandez, M. A. (2013). Biological and molecular characterization of silkworm strains from the Brazilian germplasm bank of *Bombyx mori*. *Genetics and Molecular Research*, 12(2), 2138–2147.
- Pescio, F., Zunini, H., Claudio, B., Marta, D. de S., Rodolfo, F., Pelicano, A., y Carlos, V. (2008). *Sericicultura: manual para la producción* (1st ed.). Buenos Aires, Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI).
- Petkov, N. I., Tzenov, P. I., Petkov, Z. M., Natcheva, Y. S., y Vasileva, Y. B. (2006). *Silkworm, Bombyx mori L. germplasm resources in Bulgaria. National Centre for Agrarian Sciences–Sofia, North-West Regional Agrotechpark - Vratza, Regional Centre for Scientific Applied Service - Vratza, Sericultural Experiment Station–Vratza*. Sofia, Bulgaria: PublishScieSet – Eco
- Piñero, D., Barahona, A., Eguiarte, L., Rocha, A., y Salas, R. (2008). La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México. In *Capital natural de México* (Vol. I: conocim, pp. 415–435). México: CONABIO.

- Post, R. J., Flook, P. K., y Millest, A. L. (1993). Methods for the preservation of insects for DNA studies. *Biochemical Systematics and Ecology*, 21(1), 85–92.
- Powell, W., Machray, G. C., y Provan, J. (1996). Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends in Plant Science*, 1(7), 215–222.
- Pradeep, A. R., Chatterjee, S. N., y Nair, C. V. (2005). Genetic differentiation induced by selection in an inbred population of the silkworm *Bombyx mori*, revealed by RAPD and ISSR marker systems. *Journal of Applied Genetics*, 46(3), 291.
- Proyecto Sericultura Caucana: “Desarrollo tecnológico para la producción de productos orgánicos e innovadores de seda natural.” (2016). *Diagnostico socioeconómico de la sericultura en el cauca - borrador 30 de mayo*. Popayán.
- Qian, H., Xu, A., Zhang, Y., Sun, P., y Zhao, Y. (2007). Genetic diversity and molecular phylogenetics on silkworm, *Bombyx mori*. *Journal-Shenyang Agricultural University*, 38(3), 357.
- Radjabi, R., Sarafrazi, A., Tarang, A., Kamali, K., y Tirgari, S. (2012). Intraspecific biodiversity of iranian local races of silkworm *Bombyx mori* by ISSR (inter-simple sequence repeat) molecular marker. *World Journal of Zoology*, 7, 17–22.
- Raju, P. J., y Krishnamurthy, N. B. (1993). Breeding of two bivoltines, MG511 and MG512, of silkworm, *Bombyx mori* L., for higher viability and silk productivity. *Sericologia* (France).
- Red Latinoamericana de la seda. (2011). Que es la Red? Recuperado Octubre 4, 2016, de <http://www.relaseda.org/?ac=paginasyid=1>
- Reddy, K. D., Abraham, E. G., y Nagaraju, J. (1999). Microsatellites in the silkworm, *Bombyx mori*: Abundance, polymorphism, and strain characterization. *Genome*, 42(6), 1057–1065.
- Reddy, K. D., Nagaraju, J., y Abraham, E. G. (1999). Genetic characterization of the silkworm *Bombyx mori* by simple sequence repeat (SSR)-anchored PCR. *Heredity*, 83(6), 681–687.
- Reddy, K. S., Mahalingam, C. A., Muruges, K. A., y Mohankumar, S. (2009). Exploring the genetic variability in *Bombyx mori* L. with molecular marker. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 22(3).
- Renshaw, M. A., Giresi, M., y Adams, J. O. (2013). Microsatellite fragment analysis using the ABI Prism® 377 DNA Sequencer. In K. S. Kantartzi (Ed.), *Microsatellites: Methods and Protocols* (pp. 181–196). Totowa, NJ: Humana Press.

- Rischkowsky, B., y Pilling, D. (2007). *The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture*. (Food y Agriculture org., Ed.). Roma, Italia: Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Roe, A. D., Weller, S. J., Baixeras, J., Brown, J., Cummings, M. P., Davis, D., ... Rubinoff, D. (2009). Evolutionary framework for Lepidoptera model systems. In *Genetics and molecular biology of Lepidoptera* (pp. 1–24). New York: CRC Press.
- RStudio team. (2015). RStudio: integrated development environment for R. RStudio. Inc., Boston, MA, 14.
- Rubinoff, D., y Holland, B. S. (2005). Between two extremes: mitochondrial DNA is neither the panacea nor the nemesis of phylogenetic and taxonomic inference. *Systematic Biology*, 54(6), 952–961.
- Saccone, C., De Giorgi, C., Gissi, C., Pesole, G., y Reyes, A. (1999). Evolutionary genomics in Metazoa: the mitochondrial DNA as a model system. *Gene*, 238(1), 195–209.
- Saitou, N., y Nei, M. (1987). The Neighbor-Joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406–425.
- Schulman, A. H., Flavell, A. J., y Ellis, T. H. N. (2004). The application of LTR retrotransposons as molecular markers in plants. *Mobile Genetic Elements: Protocols and Genomic Applications*, 145–173.
- Singh, T., y Saratchandra, B. (2004). *Principles and techniques of silkworm seed production*. New Delhi, India: Discovery Publishing House.
- Slatkin, M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139(1), 457–462.
- Smouse, P. E., y Peakall, R. (1999). Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity*, 82(5), 561–573. Wiley Online Library.
- Sneath, P. H. A., y Sokal, R. R. (1973). *Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification*.
- Sohn, K. W. (2003). *Expert Consultation on Promotion of Global Exchange of Sericulture Genetic Resources* (Papers contributed to expert consultation on promotion of global exchange of sericulture germplasm). Roma, Italia.

- Sohn, K. W. (2014). *Technical Manual for Tropical Sericulture: Practical Technology to Produce Silkworm Eggs and Cocoons in the Tropics*. Kigali, Republica de Ruanda: Korea International Cooperation Agency (KOICA).
- Srivastava, P. P., Vijayan, K., Awasthi, A. K., Kar, P. K., Thangavelu, K., y Saratchandra, B. (2005). Genetic analysis of silkworms (*Bombyx mori*) through RAPD markers. *Indian Journal of Biotechnology*, 4(3), 389.
- Srivastava, P. P., Vijayan, K., Kar, P. K., y Saratchandra, B. (2011). Diversity and marker association in tropical silkworm breeds of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 31(3), 182–191.
- Sun, W., Yu, H., Shen, Y., Banno, Y., Xiang, Z., y Zhang, Z. (2012). Phylogeny and evolutionary history of the silkworm. *Science China Life Sciences*, 55(6), 483–496.
- Szulkin, M., Stopher, K. V, Pemberton, J. M., y Reid, J. M. (2013). Inbreeding avoidance, tolerance, or preference in animals? *Trends in Ecology and Evolution*, 28(4), 205–211. Elsevier.
- Tahan, O., Geng, Y., Zeng, L., Dong, S., Chen, F., Chen, J., Song, Z., et al. (2009). Assessment of genetic diversity and population structure of Chinese wild almond, *Amygdalus nana*, using EST- and genomic SSRs. *Biochemical Systematics and Ecology*, 37(3), 146–153.
- Tajima, F. (1989). The effect of change in population size on DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3), 597–601.
- Takezaki, N., Nei, M., y Tamura, K. (2014). POPTREEW: Web version of POPTREE for constructing population trees from allele frequency data and computing some other quantities. *Molecular Biology and Evolution*. Oxford University Press.
- Talebi, E., Khademi, M., y Subramanya, G. (2011). RAPD markers for understanding of the genetic variability among the four silkworm races and their hybrids. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 7(5), 789–795.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., y Kumar, S. (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), 2725–2729.
- Tautz, D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*, 17(16), 6463–6471.

- Thanananta, N., Saksong, P., y Peyachoknagul, S. (1997). RAPD technique in silkworm (*Bombyx mori*): strain differentiation and identification. *Thammasat International Journal of Science and Technology*, 2(2), 47–51.
- TISGC: The International Silkworm Genome Consortium. (2008). The genome of a lepidopteran model insect, the silkworm *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 38(12), 1036–1045.
- Thiyagu, T., y Kamble, C. K. (2011). DNA profiling of bivoltine silkworm germplasm races through microsatellite markers. *International Journal of Biotechnology*, 4(2), 53–57.
- Tunca, R. I., Staykova, T., Ivanova, E., Kence, M., y Grekov, D. (2007). Differentiation of silkworm, *Bombyx mori* strains measured by RAPD analyses. In *Proceedings of the Scientific and Technical Reports of the International Conference on Sericulture Challenges in the 21st Century (Serichal 2007) and the 3rd BACSA Meeting* (pp. 29–30). Vratza, Bulgaria.
- Velu, D., Ponnuvel, K. M., Muthulakshmi, M., Sinha, R. K., y Qadri, S. M. H. (2008). Analysis of genetic relationship in mutant silkworm strains of *Bombyx mori* using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Journal of Genetics and Genomics*, 35(5), 291–297. Elsevier.
- Venkatesh, C. N., y Chikkaswamy, B. K. (2017). Molecular characterization, genetic diversity and relationships of silkworm varieties using RAPD molecular marker. *International Journal of Engineering Science*, 7(3), 4811–4816.
- Vijayan, K., Nair, C. V, y Urs, S. R. (2010). Assessment of genetic diversity in the tropical mulberry silkworm (*Bombyx mori* L.) with mtDNA-SSCP and SSR markers. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 22(2), 71.
- Vivas, N., y Morales, S. (2005). Evaluación agronómica y producción de grano de diez accesiones de guandul (*Cajanus cajan*) en la meseta de Popayán-Cauca. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 3(1), 36–40. Popayán, Colombia.
- Vlaic, B., Marghitas, L., Vlaic, A., y Raica, P. (2013). Analysis of genetic diversity of mulberry silkworm (*Bombyx mori* L.) using RAPD molecular markers. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies*, 69(1–2).

- Wahlund, S. (1928). Zusammensetzung von populationen und korrelationserscheinungen vom standpunkt der vererbungslehre aus betrachtet. *Hereditas*, 11(1), 65–106. Wiley Online Library.
- Wani, S. A., Bhat, M. A., Buhroo, Z., Ganai, M. A., y Majid, N. (2013). Role of molecular markers in silkworm improvement. *International Journal of Advanced Biological Research*, 4(5), 515–523.
- Warburton, M., y Crossa, J. (2002). *Data Analysis in the CIMMYT Applied Biotechnology Center: for Fingerprinting and Genetic Diversity Analysis* (Segunda). Mexico, DF, Mexico: CIMMYT.
- Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R., y Hebert, P. D. N. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 360(1462), 1847–1857.
- Wares, J. P., y Cunningham, C. W. (2001). Phylogeography and historical ecology of the North Atlantic intertidal. *Evolution*, 55(12), 2455–2469.
- Weising, K., Nybom, H., Pfenninger, M., Wolff, K., y Kahl, G. (2005). *DNA fingerprinting in plants: principles, methods, and applications* (Second). United States: CRC press.
- Weising, K., Winter, P., Hüttel, B., y Kahl, G. (1997). Microsatellite markers for molecular breeding. *Journal of Crop Production*, 1(1), 113–143.
- Wiley, E. O. (1981). *Phylogenetics: the theory and practice of phylogenetic analysis*. New York: John Wiley and Sons.
- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., y Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18(22), 6531–6535.
- Winter, P., y Kahl, G. (1995). Molecular marker technologies for plant improvement. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 11(4), 438–448.
- Wright, S. (1951). The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15(4), 323–354.
- Xia, Q., Guo, Y., Zhang, Z., Li, D., Xuan, Z., Li, Z., ... Li, R. (2009). Complete resequencing of 40 genomes reveals domestication events and genes in silkworm (*Bombyx*). *Science*, 326(5951), 433–436.
- Xiang, H., Liu, X., Li, M., Zhu, Y., Wang, L., Cui, Y., Liu, L., et al. (2018). The evolutionary road from wild moth to domestic silkworm. *Nature Ecology y Evolution*, 2(8), 1268–1279.

- Yeh, F. C., Yang, R. C., y Boyle, T. (1999). POPGENE version 1.32: Microsoft Windows–based freeware for population genetic analysis, quick user guide. *Center for International Forestry Research, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada*.
- Yoshitake, N. (1968). Phylogenetic aspects on the origin of Japanese race of the silkworm, *Bombyx mori* L. *The Journal of Sericultural Science of Japan*, 37, 83–87.
- Yukuhiro, K., Iwata, K., Kômoto, N., Tomita, S., Itoh, M., y Kiuchi, M. (2012). Nucleotide sequences of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I (COI) gene show clear differences between the domesticated silkworm *Bombyx mori* and the wild mulberry silkworm *Bombyx mandarina* from Japan. *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, 81(1), 29–35.
- Yukuhiro, K., Sezutsu, H., Tamura, T., Kosegawa, E., Iwata, K., Ajimura, M., ... Mita, K. (2012). Little gene flow between domestic silkworm *Bombyx mori* and its wild relative *Bombyx mandarina* in Japan, and possible artificial selection on the CAD gene of *B. mori*. *Genes y Genetic Systems*, 87(5), 331–340.
- Yukuhiro, K., Sezutsu, H., Tamura, T., Kosegawa, E., y Kiuchi, M. (2011). Nucleotide sequence variation in mitochondrial COI gene among 147 silkworm (*Bombyx mori*) strains from Japanese, Chinese, European and molting classes. *Genes y Genetic Systems*, 86(5), 315–323.
- Zhang, L., Huang, Y.P., Miao, X.X., Qian, M., y Lu, C. (2005). Microsatellite markers application on domesticated silkworm and wild silkworm. *Insect Science*, 12(6), 413–419.