UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

VARIACIÓN DE LA COLORACIÓN ALAR EN MARIPOSAS (FAMILIA NYMPHALIDAE) DE DOS SITIOS CON DISTINTO GRADO DE PERTURBACIÓN

MODALIDAD

(TESIS TRADICIONAL)

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS (BIOLOGÍA)

P R E S E N T A:

BIÓL. MARILUZ ANAYA VILLEGAS

DIRECTORA DE TESIS:
DRA. MARÍA DE LOURDES RUIZ GÓMEZ

TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO 2026

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

VARIACIÓN DE LA COLORACIÓN ALAR EN MARIPOSAS (FAMILIA NYMPHALIDAE) DE DOS SITIOS CON DISTINTO GRADO DE PERTURBACIÓN

MODALIDAD

(TESIS TRADICIONAL)

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS (BIOLOGÍA)

P R E S E N T A:

B I Ó L. M A R I L U Z A N A Y A V I L L E G A S

DIRECTORA DE TESIS:
DRA. MARÍA DE LOURDES RUIZ GÓMEZ

COMITÉ TUTORAL:
DRA. MARÍA DE LOURDES RUIZ GÓMEZ
DR. CARLOS ALBERTO MASTACHI LOZA
DRA. PETRA SÁNCHEZ NAVA

TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO 2026

ÍNDICE

1 RESUMEN 1

2 INTRODUCCIÓN 2

3 ANTECEDENTES 7

3.1 Producción de la coloración en mariposas 7

3.2 Aspectos funcionales de la coloración 9

3.3 Efecto de la perturbación antropogénica en la coloración alar 11

3.4 Perturbación ambiental: Uso de la teledetección 16

3.5 Sitio de estudio 18

3.6 Mariposas: Familia Nymphalidae 19

4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 21

5 HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN 22

5.1.1 HIPÓTESIS 22

5.1.2 OBJETIVOS 22

5.1.3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN 23

6 MÉTODO 24

6.1 Área de estudio 24

6.2 Determinación del grado de perturbación 26

6.2.1 Obtención y procesamiento de datos 27

6.2.2 Análisis de tendencia temporal espacial 28

6.3 Análisis multicriterio y selección de sitios 29

6.4 Reconocimiento e identificación de especies compartidas 30

6.5 Colecta e identificación de organismos 31

6.5.1 Trabajo de campo 31

6.5.2 Procesamiento y determinación taxonómica en el laboratorio 33

6.6 Evaluación de la coloración 33

6.6.1 Toma de mediciones de color 33

6.6.2 Procesamiento de datos y obtención de variables colorimétricas 35

6.7 Análisis estadísticos 35

7 RESULTADOS 36

7.1 Determinación del grado de perturbación y selección de sitios 36

7.1.1 Análisis de tendencias temporales (espacial) 36

7.2 Análisis multicriterio y selección de sitios de estudio 38

7.3 Especies identificadas y compartidas entre los sitios de colecta 45
7.4 Evaluación de la coloración alar 46
8 DISCUSIÓN 49
9 CONCLUSIONES 59
10 REFERENCIAS 60
11 APÉNDICE 70
12 ANEXOS 71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de localización geográfica del municipio de Malinalco, Estado de México. 25
Figura 2. Manipulación de mariposas para identificación taxonómica y posterior liberación. 31
Figura 3. Colocación de trampas Van Someren Rydon con cebo de plátano como atrayente. 32
Figura 4. Distribución espacial de tendencia temporal anual para las series de vegetación a) NDVI y b) LAI de Malinalco, Estado de México. Los píxeles en negro muestran una tendencia no significativa estadísticamente (P>0.05), mientras que los píxeles en escala de colores son aquellos con tendencias significativas en el test de Mann Kendall (P<0.05). 37
Figura 5. Distribución espacial de tendencia temporal anual para la serie LST de Malinalco, Estado de México. Los píxeles en negro tuvieron una tendencia no significativa estadísticamente (P>0.05); mientras que los píxeles en escala de colores obtuvieron tendencias significativas en el test de Mann-Kendall (P<0.05). 38
Figura 6. Distribución de zonas potenciales para el trabajo de campo, en conjunto con el criterio de tipo de vegetación y uso de suelo para Malinalco, Estado de México (INEGI, 2018) resultado del análisis multicriterio. 39
Figura 7. Localización geográfica y altitudinal de los sitios de estudio en Malinalco, Estado de México (INEGI, 2013). 41
Figura 8. Mapa de uso de suelo y vegetación, y principales corrientes de agua que cruzan los sitios de estudio en Malinalco, Estado de México (Casas-Andreu, G.,1997; INEGI, 2018). 42
Figura 9. Tendencia anual Theil-Sen de las series de tiempo (2000-2020) a) NDVI, b) LST c) LAI para las localidades Las Truchas y San Pedro Chichicasco en Malinalco, Estado de México. 44
Figura 10. Diagrama de Venn de las especies identificadas durante el trabajo de campo para cada sitio de estudio en el Municipio de Malinalco, Estado de México. Se especifican las especies compartidas entre los mismos y se resaltan en negritas las especies incluidas en este estudio para el análisis de color. 45
Figura 11. Efecto de la condición ambiental en el brillo de la coloración alar de las mariposas compartidas entre de San Pedro Chichicasco y Las Truchas. 47

Figura 12. Efecto de la condición de los sitios San Pedro Chichicasco y Las Truchas en la saturación del color alar de las mariposas de ambos sitios de estudio. 48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Efecto de la vegetación y la temperatura en las características de la coloración alar en distintas especies de mariposas. 9
Tabla 2. Productos y resolución de las variables biofísicas utilizadas para la creación de series temporales. 28
Tabla 3. Criterios asignados en el análisis multicriterio para la selección de los sitios perturbados y no perturbados para el estudio de coloración de mariposas ninfálidas en Malinalco, Estado de México. 30
Tabla 4. Zonas alares seleccionadas para mediciones de reflectancia. Las zonas establecidas como color de fondo se muestran con sus respectivas repeticiones. 34
Tabla 5. Razón de cambio en el período 2000-2020 para cada variable analizada en Malinalco, Estado de México. 44
Tabla 6. Análisis de varianza tipo III con el método de Satterthwaite, para LMM de brillo. 47
Tabla 7. Análisis de varianza tipo III con el método de Satterthwaite, para LMM de saturación. 48
Tabla 8. Coeficientes de variación para los efectos aleatorios de la variable brillo. 70
Tabla 9. Coeficientes de variación para los efectos aleatorios de la variable saturación. 70

1 RESUMEN

La coloración alar en mariposas es un rasgo funcional estrechamente relacionado con las condiciones bióticas y abióticas del hábitat, ya que interviene en procesos ecológicos como la termorregulación, la comunicación y la selección sexual. Debido a esta estrecha relación con el ambiente, la coloración ha sido propuesta como un rasgo potencialmente sensible a la modificación del hábitat. El objetivo de este estudio fue analizar el efecto de las condiciones ambientales sobre la coloración alar de mariposas de la familia Nymphalidae en dos sitios del municipio de Malinalco, Estado de México, que difieren en su condición ambiental.

Las condiciones ambientales se caracterizaron mediante un análisis espacial multicriterio basado en series temporales de sensores remotos, integrando índices de vegetación (NDVI y LAI) y temperatura superficial terrestre (LST) para el período 2000–2020. A partir de este análisis se identificaron y seleccionaron dos sitios contrastantes: Las Truchas, clasificado como perturbado, y San Pedro Chichicasco, clasificado como conservado. En ambos sitios se realizó el muestreo de mariposas ninfálidas y la cuantificación de variables colorimétricas (brillo, tono y saturación) mediante espectrofotometría.

Los resultados mostraron que, a pesar de las diferencias detectadas en las condiciones ambientales entre ambos sitios, las variables de coloración alar no presentaron diferencias significativas consistentes entre mariposas provenientes del sitio perturbado y del sitio conservado. Estos hallazgos sugieren que la estabilidad ambiental local, la configuración del paisaje y posibles mecanismos ecológicos compensatorios podrían amortiguar los efectos de la modificación del hábitat sobre la expresión de la coloración alar en mariposas ninfálidas. Este estudio resalta la importancia de integrar herramientas de teledetección y análisis funcional de rasgos para comprender la respuesta de los organismos a la heterogeneidad ambiental a escala local.

2 INTRODUCCIÓN

La perturbación antropogénica, resultado de la intervención humana en los ecosistemas, representa una problemática global de creciente gravedad (Laurance *et al*., 2001). Actividades como la deforestación, la expansión urbana, la sobreexplotación de recursos naturales, y el cambio de uso de suelo para la agricultura y producción ganadera han provocado una acelerada pérdida de la calidad y disponibilidad del hábitat, afectando su capacidad para amortiguar el daño y regenerarse (Turner & Gardner, 2015a). Las consecuencias son visibles en la reducción de áreas boscosas y la simplificación de la estructura vegetal, ocasionando paisajes fragmentados; estos paisajes suelen caracterizarse por áreas de hábitat original intercaladas con superficies impermeables y matrices de vegetación homogénea, que propician comunidades biológicas poco diversas (Manson *et al*., 2009).

Entre los principales efectos adversos que provoca la perturbación antropogénica, destaca la pérdida de biodiversidad, afectando especialmente a organismos altamente sensibles a las modificaciones del hábitat, como las mariposas, que dependen de diferentes elementos ambientales para completar su ciclo de vida (Hambler *et al*., 2011; Kotze *et al*., 2022; Meléndez-Jaramillo *et al*., 2021). En este sentido, estudios realizados en áreas sometidas a modificaciones humanas como: la urbanización (Soga & Koike, 2012), la deforestación, la agricultura (González-Valdivia *et al*., 2016) y la contaminación del aire (Meléndez-Jaramillo *et al.*, 2021), han reportado una disminución representativa de la riqueza y abundancia de especies, especialmente en aquellas con alta especificidad ecológica. Debido a su amplia distribución, fidelidad ecológica y sensibilidad ante alteraciones de su entorno, las mariposas se han empleado como bioindicadores ecológicos (Andrade-C, 1998), donde la presencia o ausencia de ciertas especies se ha relacionado con el estado de conservación ecológica (Orta *et al*., 2022).

No obstante, la clasificación de algunas especies como bioindicadores ecológicos o parámetros de perturbación ha sido cuestionada, debido a que las mariposas responden de forma muy variable a los cambios ambientales de acuerdo con su tipo de alimentación, capacidad de dispersión, fenología, preferencias de hábitat y el tipo de conformación en el hábitat posterior al cambio (Andrade-C, 1998; Forsberg *et al*., 2020; Whitworth *et al*., 2018). Si bien se han reportado especies muy sensibles a la perturbación que llegan a extinguirse localmente, otras permanecen estables en hábitats alterados (Orta *et*

al., 2022). Las diferencias de tolerancia ecológica se deben a un conjunto de rasgos funcionales que responden a las características del hábitat y se expresan en la condición del adulto y la resiliencia de cada organismo (Spaniol *et al*., 2019); estas características pueden expresarse en la morfología, la fisiología, el comportamiento o el uso de hábitat (Vandewalle et al., 2010). En las mariposas se ha propuesto la medición de características como: el rendimiento de vuelo, el tamaño corporal, el patrón de coloración y la percepción del hábitat, como rasgos funcionales que pueden variar en respuesta a cambios ambientales y que son componentes importantes que moldean la comunidad (Spaniol *et al.*, 2019).

Por lo anterior, incorporar la medición de rasgos funcionales como indicadores ecológicos puede enriquecer enfoques limitados a componentes taxonómicos, en especial al trabajar con taxones tan susceptibles a la variación como las mariposas. Además, también se puede generar información sobre la estabilidad de servicios ecosistémicos que aporta el entorno, brindando una perspectiva integral sobre el impacto de la perturbación, en especial en aquellas especies que tienden a permanecer después de la modificación del hábitat (Attiwilli *et al*., 2021). Por ejemplo, Pignataro y col. (2023); demostraron cómo la medición de rasgos morfológicos en la mariposa Morpho azul (*Morpho helenor)*, puede utilizarse como indicador de estrés causado por la fragmentación del bosque. Organismos capturados en sitios de borde mostraron valores de asimetría más altos para la longitud y ancho de las alas en comparación con sitios más conservados en el interior del bosque. De manera similar, la medición de características espectrales del patrón de color en mariposas ninfálidas (diversidad de color, brillo, tono y saturación), ha servido como indicador para la conservación de la biodiversidad en ambientales tropicales bajo distintos niveles de presión por deforestación (Spaniol *et al.*, 2020); asimismo, en zonas de alimentación y paso durante la migración de la mariposa Monarca sometidos a la pérdida de hábitat (Davis *et al*., 2020). Estos ejemplos destacan la importancia de evaluar los rasgos funcionales, como la coloración, en la detección y comprensión de los efectos de la perturbación en las poblaciones de mariposas, dando como resultado información sobre la salud general de los ecosistemas.

La coloración alar en las mariposas además de ser un atractivo visual, es un rasgo fenotípico funcional con una importancia adaptativa significativa, al desempeñar funciones esenciales como: la termorregulación, la señalización intra e interespecífica (Cuthill *et al*., 2017; Delhey & Peters, 2017; Endler, 1990; Kemp & Rutowski, 2011; Pinheiro *et al*., 2016), la defensa contra los depredadores, la protección microbiana y contra la radiación ultravioleta (Caro

et al., 2016; Dubovskiy *et al*., 2013), lo que favorece la supervivencia y el éxito reproductivo. Frecuentemente las funciones de la coloración alar interactúan (i.e la función termorreguladora de un color puede tener importancia en la protección microbiana), lo que resalta su papel multifuncional (Dubovskiy *et al*., 2013). El desarrollo, la percepción y la función de la coloración tienen una estrecha relación con las condiciones abióticas y los elementos bióticos del hábitat (Koneru & Caro, 2022), por lo que su incorporación a estudios ecológicos podría servir como una herramienta de monitoreo ambiental eficaz.

Diferentes factores ambientales actúan de forma sinérgica e interrelacionada, influyendo en el color de distintas maneras. Durante el desarrollo del color en etapas inmaduras, factores como la humedad, la radiación solar y la temperatura, intervienen regulando la entrada de energía y recursos en los ecosistemas en diversas formas como i) interviniendo en la calidad y disponibilidad del suministro de plantas nutricias (Dalrymple *et al*., 2018; Endler, 1990) esenciales durante la etapa larval, cuando se adquieren pigmentos (Johnson *et al*., 2014; Koneru & Caro, 2022) y ii) creando el entorno físico del hábitat, dado por la estructura vegetal, que moldea las condiciones microclimáticas, particularmente del ambiente térmico, crucial en la etapa de pupa para impulsar mecanismos fisiológicos involucrados en el establecimiento y melanización del patrón de color (Van der Burg & Reed, 2021). Por lo tanto, la capacidad de expresar un fenotipo óptimo en la etapa adulta, cuando el color es inalterable, se determina por el buen acceso a nutrientes y las condiciones ambientales estables en etapas tempranas (Van der Burg & Reed, 2021).

Posterior al establecimiento de la coloración alar en el adulto, las condiciones del hábitat continúan influyendo en la funcionalidad del color. La heterogeneidad estructural puede favorecer la presencia de diferentes fenotipos y necesidades ecofisiológicas, por ejemplo dada la condición ectoterma de las mariposas, mantener una adecuada temperatura corporal es fundamental para llevar a cabo actividades como el vuelo, la alimentación o el apareamiento (Zeuss *et al*., 2014). En este sentido, la disposición vertical de la vegetación y la densidad del dosel con sitios abiertos y de resguardo, les permite disponer de diferentes condiciones microclimáticas para aumentar su temperatura o evitar el sobrecalentamiento, de acuerdo con la claridad u oscuridad del color en sus alas (Clusella-Trullas & Nielsen, 2020; Ellers & Boggs, 2004; Schirmer *et al*., 2023). Asimismo, la coloración requiere la percepción y visibilidad de la señal para su funcionamiento (Delhey & Peters, 2017). El entorno de señalización, con variabilidad de ambientes visuales y condiciones de luz, promueve o altera la forma en que las mariposas interactúan y transfieren

información entre sí o con otras especies (Merilaita *et al*., 2017). Esto influye en la efectividad de señales antidepredatorias (colores aposemáticos o crípticos) o sexuales (parches ultravioleta) (Dalrymple *et al.,* 2018; Endler, 1990), lo que implica que algunos rasgos de color solo pueden alcanzar su óptimo funcional bajo condiciones ambientales específicas. Por lo tanto, los cambios profundos que inducen las modificaciones antropogénicas podrían alterar la estabilidad de factores ambientales relevantes en el desarrollo del color y comprometer la eficacia de su funcionalidad.

Al respecto, la evidencia indica que, debido a cambios antropogénicos, como la pérdida de hábitat por deforestación; la coloración de las mariposas (i.e familia Nymphalidae) puede sufrir variaciones significativas que comprometen su eficacia. Los efectos observados involucraron modificaciones en las propiedades colorimétricas de sus alas (brillo, tono y saturación), afectando la distribución de las especies de acuerdo con el grado de perturbación ambiental. La principal fuente de variación se relacionó con la transformación del ambiente visual debido a la carencia de estructura vegetal, lo que resulta en una mayor visibilidad ante depredadores y reduce la efectividad de señales antidepredatorias (Spaniol *et al*., 2020). Sin embargo, no se han descrito otras variables que expliquen los cambios en las propiedades del color alar, particularmente en aquellas especies que tienden a permanecer en los ambientes modificados, considerando que su desarrollo óptimo involucra factores ambientales como la calidad y disponibilidad de alimento y el ambiente térmico.

Particularmente en México, los bosques tropicales poseen una alta diversidad biológica gracias a la variabilidad de recursos y nichos ecológicos que provee (Rzedowski, 2006). Esto hace que sean ecosistemas no sólo rico en especies sino también en diversidad fenotípica, representando uno de los ecosistemas con mayor diversidad de mariposas (Llorente-Bousquets *et al*., 2014). Durante las últimas décadas, los bosques tropicales han experimentado una gran presión debido a la deforestación, la expansión agrícola, la tala ilegal y la urbanización, ocasionando la pérdida y degradación de los servicios ecosistémicos que proporcionan (INEGI, 2009). Lo anterior hace que estos sean zonas ideales para avanzar en el conocimiento sobre la relación entre ambientes perturbados y las características del color en las especies de mariposas que en ellos habitan.

Dado que este campo representa un nicho importante para realizar investigaciones que integren nuevas variables ambientales, consideramos que el estudio de la coloración en mariposas presenta una vía relativamente no invasiva

que puede reflejar de forma acertada la relación entre un organismo y su entorno, como herramienta diagnóstica de la condición del hábitat. Además, es un rasgo poco analizado en estudios ecológicos que indudablemente puede ayudar a identificar y comprender las consecuencias de la perturbación ambiental, así como nuevas amenazas para la biodiversidad. Por lo anterior, el presente estudio tiene como objetivo determinar el efecto de la perturbación del hábitat en la coloración alar de mariposas ninfálidas, por medio del análisis espacio-temporal del estado de conservación de dos sitios que difieren en su condición ecológica (incorporando a la vegetación y temperatura como variables ambientales) y el análisis de las características espectrales del color (brillo, saturación y tono) de las especies de mariposas compartidas entre ambos sitios. Particularmente, las mariposas de la familia Nymphalidae, han sido descritas como excelentes bioindicadores ecológicos (Freitas *et al*., 2014) y es la segunda familia con mayor riqueza de especies para México (Hernández-Mejía *et al*., 2008). Al ser un grupo que manifiesta un amplio repertorio de colores asociados a los diversos hábitats que ocupan, son un modelo de estudio ideal para la evaluación de la variación ambiental.

3 ANTECEDENTES

En la actualidad, la coloración se ha convertido en un campo de estudio importante para la ecología sensorial, debido a las múltiples funciones ecológicas y procesos adaptativos que desempeñan en la historia de vida de los organismos y su relación con factores bióticos y abióticos del ambiente para su desarrollo y funcionalidad. (Cuthill *et al*., 2017; Figon & Casas, 2018). En el caso específico de las mariposas el establecimiento del patrón de coloración durante la etapa adulta está ligado al suministro de nutrientes y las condiciones térmicas que establecen las características ambientales en etapas inmaduras del ciclo de vida (Dalrymple *et al*., 2018; Kemp, 2008). Esta dependencia ambiental implica que los rasgos de color suelen ser señales honestas de disponibilidad de los recursos que aporta el ambiente. (Kemp, 2008). Los Individuos que tuvieron buen acceso a nutrientes y condiciones térmicas ambientales estables, expresan fenotipos que funcionan óptimamente en la comunicación visual y en procesos fisiológicos determinantes para su supervivencia (Koneru & Caro, 2020).

3.1 Producción de la coloración en mariposas

Las mariposas poseen una asombrosa diversidad de colores en sus alas que varían a lo largo de los espectros ultravioleta al visible (300-700 nm). Estos colores se expresan por dos mecanismos de producción: por la presencia de pigmentos o las nanoestructuras en las escamas que recubren sus alas (Shawkey *et al*., 2009). La coloración pigmentaria se produce por la absorción selectiva de la luz en los pigmentos, que son sustancias de composición química definida. Los colores producidos varían con la naturaleza química del pigmento y entre los principales, se encuentran: la melanina, las pterinas, los omocromos y el precursor de quinurenina, estos producen colores como el amarillo, naranja, rojo, negro y el café (Stavenga *et al*., 2014). Normalmente contrastan mucho con el fondo del hábitat y su combinación dentro del patrón de color usualmente se relaciona con mala palatabilidad para los depredadores (Dell'Aglio *et al*., 2018). Por otra parte, los llamativos colores de aspecto metálico como el azul, verde y violeta son el resultado de la reflectancia específica de la longitud de onda y/o la difracción de la luz por la diversidad de nanoestructuras basadas en quitina. Estos colores suelen presentar efectos direccionales en la dispersión de la luz, es decir, varían con el ángulo de visión o el cambio de luz reflejada a transmitida, provocando características ópticas particulares como la iridiscencia y la polarización (Stavenga *et al*., 2014; Wijnen *et al*., 2007). Ambos tipos de color usualmente interactúan química y físicamente, produciendo patrones de

coloración muy complejos y diversos, con una variedad de mecanismos ópticos, lo cual dificulta clasificar el color del ala dentro de un tipo en particular (Shawkey *et al.,* 2009; Stanvenga *et al*., 2014).

Las condiciones térmicas durante el desarrollo y los nutrientes que provee la vegetación son determinantes, para el establecimiento del patrón de coloración en las etapas de larva y pupa (Dalrymple *et al*., 2018; Kemp & Rutowski, 2011; Rossato *et al.*, 2018). La adquisición de los pigmentos transcurre durante la etapa de larva mediante el metabolismo de la ingesta de las plantas hospederas. (Johnson *et al*., 2014; Warren *et al*., 2012). Posteriormente, el proceso de formación de nanoestructuras y deposición de pigmentos es determinado por el ambiente térmico, el cual establece la respuesta endócrina, por medio de la hormona ecdisona, inmediatamente antes y después de la pupación. Este proceso determina la melanización y configuración posicional del patrón de color, así como su variación estacional en algunas especies (Iwata *et al*., 2014; Van Der Burg & Reed, 2021).

La calidad fenotípica desarrollada impacta en la funcionalidad de procesos fisiológicos de la etapa adulta (i. e. termorregulación, protección microbiana y contra la luz ultravioleta) y de señalización intra e interespecífica (señales antidepredatorias y sexuales) ligados al color (Badejo *et al*., 2020; Cuthill *et al*., 2017; Delhey & Peters, 2017; Kemp & Rutowski, 2011; Pinheiro *et al*., 2016). Por ejemplo, en la mariposa *Pieris rapae*, la coloración amarilla de las alas anteriores es un rasgo sexual asociado con el éxito de apareamiento y la fecundidad. Su desarrollo depende de la calidad y disponibilidad de plantas nutricias para la deposición de pterinas. Al ser una especie con preferencia por ambientes abiertos, el color blanco dorsal les confiere mayor tolerancia a altas temperaturas aumentando su reflectancia para evitar el sobrecalentamiento. Esta dependencia de la coloración con los elementos bióticos y las condiciones abióticas del hábitat significa que los rasgos de color suelen ser indicadores honestos de calidad individual ya que impactan en la condición general del adulto (i.e el tamaño, la forma, el peso y la capacidad de vuelo) y la aptitud futura (i.e el éxito de apareamiento, la fecundad y el tiempo de maduración de los huevos) (Davis *et al*., 2023; Ellers & Boggs, 2003, 2004; Kemp & Rutowski, 2011; Tigreros *et al.*, 2013). Debido a esta dependencia ambiental de la coloración, su estudio puede informar sobre la calidad de los servicios ecosistémicos que aporta el ambiente (Tigreros *et al.*, 2013).

Una forma de entender las características funcionales que poseen los rasgos de color es a través del análisis de sus propiedades espectrales dentro del rango

de longitud de onda de la luz al que son sensibles las mariposas (300-700 nm). Estas propiedades se clasifican en tres variables principales: brillo (la intensidad de luz en el color), saturación (la pureza o intensidad del color en comparación con la luz blanca) y tono (longitud de onda dominante o tipo de color ej. rojo) (Montgomerie, 2006). En este sentido, estudios experimentales han contribuido al conocimiento de la relación entre variables ambientales, así como en el desarrollo y la expresión del color (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto de la vegetación y la temperatura en las características de la coloración alar en distintas especies de mariposas.

Variable	Etapa	Efectos principales	Referencias
Vegetación	Larva	En la mariposa *Danaus plexippus* la calidad y disponibilidad del alimento influye en la saturación y brillo del color en el adulto.	Johnson *et al*., 2014
		Las larvas de *Eurema hecabe* alimentadas con una dieta de mejor calidad expresan colores UV más brillantes	Kemp, 2008
		El nitrógeno en la dieta influye en la deposición de pigmentos, pues su baja disponibilidad en la dieta afecta los valores de reflectancia en *Pieris rapae* (mayor reflectancia UV y reducida en el rango visible), además de disminuir la fecundidad en las hembras.	Tigreros *et al*., 2013
		Hábitats con alta producción primaria neta proporcionan mejores recursos para la expresión de colores más saturados en mariposas.	Dalrymple *et al*., 2018
Temperatura	Larva	Las larvas de *Danaus plexippus* desarrollaron colores más oscuros en el tratamiento con frío y fueron más claros cuando se criaron a temperaturas cálidas. Resultados similares se observaron al medir el melanismo en las alas de adultos.	Davis, 2014
	Pupa	En mariposas de la familia Nymphalidae se ha descrito que el entorno térmico en el hábitat detona mecanismos fisiológicos para la melanización y configuración del patrón de color. Temperaturas bajas aumentan la saturación debido a su melanización.	Van Der Burg *et al.,* 2021
		La disminución de la temperatura provoca la melanización del color y modificaciones del patrón, como: dislocación, agrandamiento o reducción de los parches en diferentes mariposas ninfálidas, como: *Junonia coenia, Vanessa cardu*i y *V. indica*.	Otaki & Yamamoto, 2004; Otaki *et al*., 2008
		En la mariposa *Polyommatus icarus,* la disminución experimental de la temperatura durante la etapa de pupa provoca la reducción de elementos del patrón de color café ventral y la presencia de color azul dorsal en hembras. Además, los fenotipos creados fueron semejantes a fenotipos aberrantes silvestres.	Kertész *et al*., 2017

3.2 Aspectos funcionales de la coloración

Debido a que el color es un elemento importante en la comunicación visual; su percepción y visibilidad, requieren que la señal llegue al receptor sin interrupciones (Caro *et al*., 2016; Spaniol *et al*., 2020). La estructura física del hábitat que aporta la vegetación, las variaciones microclimáticas, de luz ambiental y los colores de fondo, así como los cambios a lo largo del día o entre

estaciones, favorecen el establecimiento de diferentes fenotipos y necesidades ecológicas, ya que la diversidad de entornos visuales promueve o interfiere en la eficacia de estrategias antidepredatorias o sexuales (Delhey & Peters, 2017; Endler, 1993). Por ejemplo, la detección de señales de advertencia (aposemáticas) requiere colores saturados que contrasten con el fondo y resalten su notoriedad, para la percepción por parte de sus depredadores, principalmente aves (Dell'aglio *et al*., 2016). Por el contrario, para fenotipos crípticos que buscan pasar desapercibidos, las zonas sombreadas del entorno con vegetación densa, les permiten coincidir con el fondo y evitar su detección (Delhey & Peters**,** 2016). La variabilidad de microhábitats disponibles, con sitios abiertos y de resguardo, que difieren en sus condiciones microclimáticas y presentan conectividad, permiten que los individuos se dispersen con mayor éxito a áreas más idóneas donde la señal de color funcione mejor (Fahrig, 2013; González-Valdivia *et al.*, 2016; Soga *et al*., 2015). En consecuencia, los hábitats que mantienen variabilidad en su estructura espacial y diversidad vegetal son ricos no sólo en especies sino también en diversidad fenotípica (Spaniol *et al*., 2020).

Debido a la condición ectoterma de las mariposas, la temperatura corporal es importante para realizar actividades como la búsqueda de alimento, pareja y el vuelo (Badejo *et al.*, 2020; Ellers & Boggs, 2004). La coloración de las alas influye en la absorción de los rayos solares, permitiendo que las mariposas eleven su temperatura corporal hasta alcanzar el óptimo térmico (Ellers & Boggs, 2004). En términos generales, se ha observado que, en ambientes fríos y húmedos, las alas total o parcialmente oscuras prevalecen y favorecen a las mariposas al aumentar más rápido su temperatura corporal, lo que permite una mayor capacidad de movimiento entre los parches del hábitat. En zonas abiertas con alta exposición solar, los colores claros y brillantes son más abundantes y son favorecidos al impedir de forma más eficaz el sobrecalentamiento (Clusella-Trullas & Nielsen, 2020). La necesidad fisiológica de termorregular influye, por ende, en las preferencias de hábitat de cada especie, favoreciendo la elección de lugares donde su color sea más efectivo (Dalrymple *et al*., 2018). Además, la coloración provee ventajas adicionales; por ejemplo, los colores oscuros usualmente originados por el pigmento melanina, ofrecen beneficios relacionados con la resistencia inmunológica, al brindar protección contra patógenos, en ambientes fríos y húmedos, donde es más fácil contraer infecciones (Côte *et al*., 2018; Dubovskiy *et al*., 2013). La melanización o claridad desarrollada en el patrón de color, por lo tanto, establece un vínculo entre el hábitat y los procesos fisiológicos.

3.3 Efecto de la perturbación antropogénica en la coloración alar

Las modificaciones antropogénicas en los entornos naturales como: la sobreexplotación de los recursos naturales, la deforestación, la rápida urbanización y el cambio de uso de suelo para fines agrícolas y ganaderos, ocasionan cambios drásticos e intensos que afectan las condiciones ambientales y el funcionamiento de los ecosistemas (como los ciclos hidrológicos, el microclima, la estructura de la comunidad vegetal, entre otros) comprometiendo su capacidad para amortiguar el daño y regenerarse (Turner & Gardner, 2015a). La perturbación antropogénica suele dar lugar a paisajes caracterizados por fragmentos de hábitat original integrados en matrices de vegetación homogénea con comunidades vegetales poco diversas y superficies impermeables lo que ocasiona el aislamiento de los fragmentos resultantes. Aunado a lo anterior, en muchas ocasiones la perturbación antropogénica también es fuente de contaminantes (como pesticidas o desechos industriales, mineros, etc.), siendo factores estresantes que los organismos deben enfrentar (Greenspoon & Spencer, 2021; Manson & Jardel, 2009; Turner & Gardner, 2015a). Los efectos negativos, son notables particularmente en organismos sensibles a las modificaciones, como los insectos, donde la perdida de diversidad es una de las principales consecuencias (Cardoso *et al*., 2020; Sánchez-Bayo & Wyckhuys, 2019).

En mariposas, diferentes estudios ecológicos demuestran que la riqueza y abundancia de las especies disminuye a causa de alteraciones humanas como: los contaminantes en el aire (Meléndez-Jaramillo *et al*., 2021), la urbanización (Tzortzakaki *et al*., 2019) o el cambio de uso de suelo (González-Valdivia *et al*., 2016). Usualmente los cambios acelerados y drásticos que conllevan, alteran la conformación espacial (tamaño, estructura vertical, horizontal, elementos abióticos), las condiciones microclimáticas en el hábitat remanente y el suministro y calidad de recursos (Soga *et al*., 2012; Tobar-López, 2004). Se sabe que las primeras especies en desaparecer son aquellas con requerimientos específicos, mientras que las especies generalistas pueden ser favorecidas y permanecer en estos sitios (Orta *et al*., 2022; Soga & Koike, 2012). Esta diferencia de tolerancia es la consecuencia de cómo los rasgos funcionales de cada especie les permiten adaptarse y responder a los factores bióticos y abióticos después de la perturbación; por lo tanto, la especialización en sus requerimientos ecológicos tiene una profunda relación en su predisposición al cambio (Pin, 2007; Spaniol *et al*., 2019). Por ejemplo, en mariposas de la India,

las especies que exhibían mayor masa corporal y longitud alar tenían más probabilidades de ocupar el bosque cerrado, posiblemente debido a su ventaja para conservar el calor corporal (Attiwilli *et al*., 2021). Por consiguiente, las modificaciones humanas pueden no sólo conducir a la perdida de componentes taxonómicos, sino también, a la modificación de características funcionales determinantes para su supervivencia (Koneru & Caro, 2020).

Los efectos dañinos de la perturbación humana en la coloración han sido ampliamente estudiados en vertebrados como las aves, que comparten similitudes en la forma de desarrollar el color con las mariposas (Grunst *et al*., 2020; Meadows *et al.*, 2012; Peneaux *et al*., 2021). En ellas, igual que en las mariposas, la incorporación de pigmentos, proteínas y grasas, por medio de la dieta, es necesaria para la producción de color (Koneru & Caro, 2020). Sin embargo, la fragmentación de los recursos dietéticos se ha identificado como una de las principales fuentes de estrés debido a i) por baja disponibilidad de recursos alimenticios por cambio de uso de suelo o ii) por la incorporación de contaminantes como metales pesados o pesticidas en el alimento, a causa de la cercanía a carreteras; lo anterior desencadena estrés oxidativo y modifica las características espectrales del color (saturación, brillo y tono), tanto en colores estructurales (Meadows *et al*., 2012) como pigmentarios basados en carotenoides y melanina (Grunst *et al*., 2020; Peneaux *et al*., 2021).

Hasta ahora, las principales aproximaciones para comprender las consecuencias posteriores a la perturbación en mariposas provienen de manipulaciones experimentales durante etapas inmaduras del desarrollo cruciales para la expresión del color en el adulto. En este sentido, se ha encontrado que la cantidad y calidad de los recursos alimenticios (plantas nutricias) que obtienen durante la etapa de larva, puede comprometer la expresión del color e impactar en aptitudes físicas como la selección de pareja, la capacidad de vuelo y la termorregulación (Davis, 2014; Davis *et al*., 2020, 2023; Johnson *et al.*, 2014). En mariposas de la familia Pieridae, organismos criados con dietas de baja calidad producen colores pigmentarios más brillantes y menos saturados en áreas del ala que están relacionadas con la selección sexual (manchas oculares, parches ultravioleta) (Kemp & Rutowski, 2011; Tigreros *et al.*, 2013). De forma similar, en la mariposa Monarca (*Danaus plexippus*), la capacidad de navegar con éxito en la ruta migratoria depende de la capacidad de termorregulación de sus alas, que está en función de la coloración. La restricción de algodoncillo (*Asclepia incarnata*) para la dieta, en la etapa larval, propicia color pigmentario naranja con baja saturación y reduce el tamaño de las alas, comprometiendo el

rendimiento de vuelo durante la migración (Davis, 2014; Davis *et al.*, 2020; Johnson *et al*., 2014; Warren *et al*., 2012).

Por otra parte, algunos estudios han explorado la influencia de variables climáticas como la temperatura en la expresión del color durante la etapa de larva y pupa, donde la exposición a variaciones térmicas tiene efectos significativos en el patrón y la intensidad del color expresado por los individuos (Kertész *et al*., 2017; Otaki & Yamamoto, 2004; Otaki, 2007, Otaki, 2008). Por ejemplo, en la mariposa Monarca (*Danaus plexippus*) la crianza a bajas temperaturas durante la etapa larval ocasiona la melanización de su cuerpo y acelera el desarrollo de las etapas subsecuentes del ciclo de vida. Los adultos emergen prematuramente con colores más oscuros, lo que afecta su capacidad para termorregular. Por su parte, en la mariposa Ícaro (*Polyommatus icarus*) pupas criadas a bajas temperaturas experimentan melanización general y modificaciones estructurales, como agrandamiento o reducción, en elementos del patrón de color pigmentario (Kertész *et al*., 2017). Hallazgos similares se han reportado en otras especies de la familia Nymphalidae como: *Junonia orithya* (Otaki & Yamamoto, 2004), *Vanessa cardui* (Otaki, 2008), *Vanessa indica* (Otaki , 2007). En algunos casos, los cambios registrados en condiciones de cautiverio son muy similares a lo que sucede con organismos de vida silvestre quienes experimentan gradualmente condiciones cambiantes de temperatura en respuesta a fenómenos como el cambio climático, expresan cambios de coloración hacia la claridad u oscuridad en el patrón de color (Kertész *et al.*, 2017; Otaki *et al*., 2010). Dichos cambios se sugieren son el resultado de una medida de protección ante el sobrecalentamiento en áreas con aumento de temperatura y como una ventaja en zonas frías y húmedas, al permitirles incrementar o disminuir más rápido su temperatura corporal. No obstante, ante condiciones aceleradas de cambio, no se sabe si los cambios fenotípicos son lo suficientemente rápidos para contrarrestar las modificaciones ambientales y si comprometen otras funciones relacionadas con el color.

Los trabajos mencionados evidencian el papel de varios factores ambientales en la coloración tanto durante el desarrollo como en relación con la funcionalidad del color alar. Sin embargo, el impacto de la perturbación antropogénica en la coloración de las mariposas, en condiciones silvestres, se conoce poco, debido a la falta de una metodología estandarizada para medir rasgos de color en las alas y la dificultad de incorporar en los análisis variables ambientales vinculados con la expresión del color (Spaniol *et al*., 2019). Lo anterior se debe a la complejidad que representa considerar las interacciones entre los factores climáticos y la amplia gama de aspectos bióticos y abióticos del ambiente, cuya

interacción moldea las condiciones ecológicas del hábitat (Dalrymple *et al*., 2018).

Hasta el momento, solo un estudio incorpora el color como variable respuesta a la perturbación (Spaniol *et al*., 2020). En un amplio estudio comparativo de los efectos de la deforestación en la coloración alar de mariposas ninfálidas, Spaniol y colaboradores (2020) demostraron en bosques tropicales de la selva amazónica que el aumento de la visibilidad por la eliminación de la vegetación nativa, así como cambios en las condiciones de luz en el hábitat, resultado de la deforestación y el pastoreo, determinan la variación espacial de los patrones de coloración alar. Los resultados señalan que dicha variación depende de la preferencia de hábitat y las propiedades cromáticas (brillo, tono y saturación), principalmente por la presión que ejerce el aumento en el riesgo de depredación. Se observó que las especies con patrones alares llamativos y contrastantes eran las primeras en desaparecer localmente en respuesta a la perturbación, debido a la carencia de estructura vegetal compleja y sustratos como arbustos, ramas y troncos que les permitieran contrastarse con los colores de fondo, disminuyendo la efectividad de las señales de color (en este caso aposematismo). Conforme incrementó la cobertura vegetal hacia áreas mejor conservadas de bosque secundario y primario, la diversidad de especies y colores alares aumentó, con una notable prevalencia de fenotipos con valores de saturación altos y tonos alares hacia longitudes de onda larga (> 600 nm). Por el contrario, áreas abiertas, con reciente modificación en la sucesión temprana, tendían a albergar especies con patrones alares menos diversos y crípticos, que expresaban baja saturación, alto brillo y tono alar a longitudes de onda corta (< 500 nm). Lo anterior sugiere que los patrones de coloración alar más diversos y llamativos pueden ser más susceptibles al cambio, especialmente ante modificaciones que incrementan la visibilidad, recibiendo por lo tanto mayor presión ambiental en las características cromáticas que influyen en la efectividad de señales antidepredatorias.

No obstante, la creación, expresión, funcionalidad del patrón de color y su presencia en hábitats específicos, se ve influenciada por varios factores más allá de las condiciones de visibilidad o la interferencia que crea la estructura de la vegetación (Dalrymple *et al*., 2018). Si bien la efectividad de las señales antidepredatorias es indispensable para la supervivencia de los organismos, también lo es para otros procesos fisiológicos como la termorregulación que dependen de igual manera de las condiciones ambientales y de las características cromáticas desarrolladas para funcionar adecuadamente. Por lo

anterior, la medición de otros factores estresantes podría brindar explicaciones alternativas a los cambios manifestados, como en el caso del trabajo de Spaniol (2020). Por ejemplo, la disminución de las fuentes de nutrientes (plantas nutricias), el aumento o disminución de la temperatura, la modificación de los depredadores tanto comunes como invasores en el hábitat, la presencia o cercanía a fuentes de contaminantes que usualmente van de la mano con las modificaciones humanas o la intensidad de las modificaciones que inciden en la conformación del hábitat posteriormente (Clusella-Trullas & Nielsen, 2020; Delhey & Peters, 2017; Koneru & Caro, 2022), podrían ser nuevas fuentes de variación.

En México, la mayoría de los estudios enfocados en mariposas, se centran en la generación de listas de especies a nivel local, relacionando su estructura y composición con el grado de conservación del ecosistema (Hernández-Mejía *et al*., 2008; Meléndez-Jaramillo *et al*., 2021; Molina-Martínez & León-Cortés, 2006; Orta *et al*., 2022; Pozo *et al*., 2008). Sólo dos estudios han incorporado al color como una variable susceptible a alteraciones en el hábitat (De La Maza & Soberón, 1998; González-Valdivia *et al*., 2016). El estudio realizado por De la Maza en los años 90's es el referente para la incorporación de la coloración alar como variable asociada a las alteraciones del hábitat. Los autores proponen agrupaciones no taxonómicas de organismos adultos basadas en patrones de coloración, tamaños y comportamientos de alimentación similares, correlacionándolos con distintos tipos de hábitat, su estado sucesional o el grado de perturbación (De La Maza & Soberón, 1998). Esta clasificación, en cuanto a los rasgos de color, sigue siendo poco objetiva, ya que se basa en la visión del investigador, para categorizar los fenotipos en grupos con especies y requerimientos ecológicos diferentes y no incluye información sobre su ocurrencia bajo determinadas condiciones, de acuerdo con funciones fisiológicas o de señalización específicas relacionadas al color que compartan en conjunto.

Durante el 2016, González-Valdivia retomó esta clasificación en el Estado de Tabasco, donde estudió un bosque tropical perennifolio. Evaluó la diversidad de mariposas ninfálidas en un paisaje con remanentes de bosque, zonas de uso agropecuario y su relación con los patrones de coloración como indicadores de la idoneidad del hábitat. Observo que las mariposas pueden persistir en comunidades diversas y en paisajes que combinan fragmentos de bosque maduro con sistemas de manejo agroforestal que incluyen arbolado y vegetación secundaria. El resultado es un hábitat con alta conectividad que permite el flujo de organismos; por tanto, las especies estudiadas mostraron

preferencias por hábitats con características físico-estructurales de acuerdo con su patrón de coloración, como lo propusieron De la Maza y Soberón (1998). No obstante, no se abordó un análisis más detallado sobre las características espectrales del color alar de las especies presentes en los diferentes microhábitats. Por lo tanto, está claro que la variación del color alar en mariposas ha sido escasamente estudiada especialmente en nuestro país y que se necesitan más investigaciones para comprender el efecto de la perturbación humana en un rasgo tan susceptible e importante para las mariposas como lo es la coloración.

3.4 Perturbación ambiental: Uso de la teledetección

La perturbación antropogénica actúa a diferentes escalas espaciales y temporales, su adecuada detección requiere de la capacidad para diferenciar los ciclos fenológicos normales de los cambios anormales en el ecosistema (Turner & Gardner, 2015). A menudo, las consecuencias de las alteraciones suelen ser impredecibles y requieren un seguimiento cuidadoso a largo del tiempo y el espacio para definir adecuadamente la condición ambiental. Tradicionalmente, los enfoques ecológicos para la estimación de la perturbación se realizan con estudios de campo convencionales, principalmente mediante la recolección de datos ecológicos de la vegetación, sin embargo, su obtención resulta invasiva y está determinada por componentes sociales, económicos y temporales, lo cual dificulta catalogar objetivamente la magnitud de la afectación o predecir patrones futuros. Además, los datos obtenidos generalmente se limitan a áreas pequeñas, que a menudo no son suficientes para predecir patrones a escala regional o de paisaje (Alcaraz-Segura *et al*., 2010).

La teledetección ha revolucionado la investigación ecológica, a través del uso de sensores remotos que detectan la radiación electromagnética emitida o reflejada por objetos lejanos. Su uso permite ampliar y automatizar el monitoreo de cambios en la condición y calidad del hábitat de áreas grandes o especialmente remotas que son de difícil acceso y de muestreo en el campo, así como su seguimiento en períodos de tiempo largo, gracias a su alta resolución espacial, temporal, espectral y radiométrica (Alcaraz-Segura *et al*., 2010). Una gran variedad de satélites de acceso libre cuentan con sensores ópticos capaces de detectar pasivamente la radiación electromagnética reflejada dentro de las regiones del espectro de luz visible (400-700 nm), infrarrojo cercano (NIR) (700-1400 nm) e infrarrojo de onda corta (SWIR) (1400-3000 nm), obteniendo así

datos relacionados con las características espectrales de los componentes de la superficie terrestre permitiendo la cuantificación de cambios en la cobertura de suelo, a lo largo del tiempo por una variedad de productos de acceso libre, que entre los más utilizados se encuentran los índices espectrales (Nagendra *et al*., 2013). Un índice es un número que cualifica la intensidad de un fenómeno cuando este es muy complejo para ser descompuesto en parámetros conocidos; por ejemplo, los índices de vegetación se relacionan con la biomasa vegetal, el área foliar y la productividad primaria estimada del dosel (Essens & Hernández-Stefanoni, 2013). Por medio de la teledetección, se pueden estimar parámetros para determinar los índices de vegetación a partir de productos derivados del contraste entre bandas espectrales satelitales, que representan las características espectrales únicas de la vegetación, como el Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada (NDVI) y el Índice de Área Foliar (LAI), lo que permite distinguir la cobertura vegetal de otros elementos del suelo (Vega-Araya, 2019).

La aplicación de la teledetección en la investigación entomológica ha contribuido en aspectos de la ecología y conservación de insectos, así como en la detección de perturbaciones por insectos fitófagos (Rhodes *et al*., 2021). En particular se ha dirigido al seguimiento de plagas en entornos agrícolas y forestales (Hart & Veblen, 2015; Senf *et al*., 2017), así como predicciones sobre la riqueza de especies, como escarabajos, a través del mapeo del hábitat (Lassau & Hochuli, 2008), la caracterización estacional de la vegetación como indicador de la fenología en insectos (periodos de vuelo en polillas, fenología de la colmena en *Apis mellifera*) (Nightingale *et al*., 2008; Pöyry *et al*., 2018) o en el seguimiento de modificaciones en los recursos florales que utilizan los polinizadores (Gonzáles *et al*., 2022). Particularmente, la estrecha relación de las mariposas con las plantas, ha permitido la implementación de índices de vegetación, para crear modelos de distribución de especies (Luoto *et al*., 2002), mapear patrones espaciotemporales de defoliación forestal por orugas (Spruce *et al*., 2011) y correlacionar la condición de la vegetación en paisajes complejos, con la riqueza y distribución de mariposas (Essens & Hernández-Stefanoni, 2013; Levanoni *et al*., 2011). De acuerdo con algunos estudios, la implementación del NDVI es el principal predictor de la riqueza de especies de mariposas, ya que los valores medios a altos de NDVI se relacionan con una mayor productividad energética del hábitat y por consiguiente, se asocia a una mayor actividad fotosintética y biomasa vegetal, que puede ser aprovechada por una gran variedad de especies (Essens & Hernández-Stefanoni, 2013; Kerr *et al.*, 2001; Levanoni *et al.*, 2011). Por otro lado, ya que la disponibilidad de energía en

términos de productividad primaria neta se correlaciona con otros factores ambientales, como la fertilidad de suelo, el clima, la topografía etc., se sugiere incorporar en los análisis otras variables biofísicas, que enriquezcan el entendimiento de su efecto conjunto en los patrones de diversidad (Essens & Hernández-Stefanoni, 2013). En este sentido, los sensores térmicos infrarrojos han demostrado ser eficaces en investigaciones ambientales y climáticas al analizar patrones de temperatura superficial y su relación con características particulares del ecosistema, como la productividad vegetal, al implementar el registro de la Temperatura Superficial Terrestre (LST, por sus siglas en inglés) (Hulley *et al*., 2019).

El análisis conjunto de diferentes variables biofísicas podría predecir no sólo patrones de diversidad de mariposas, sino también detectar la condición ambiental del hábitat y los procesos que la causan, tanto naturales (i.e sequías, incendios, inundaciones) (Barmpoutis *et al*., 2020; Slayback *et al*., 2023), como factores antropogénicos (ej. deforestación, urbanización, minería) (Cardille *et al*., 2022). No obstante, para llevar a cabo una evaluación y detección pertinente del grado de alteración, se requiere información del sitio en un momento dado, con el estado previo como referencia; por consiguiente, el uso de datos históricos es imprescindible para analizar la tendencia de cambio, resultado de modificaciones abruptas o graduales a lo largo de varios años (Verbesselt *et al*., 2012). El uso de series temporales es un método que permite la acumulación de imágenes espectrales capturadas de la misma muestra en diferentes puntos en el tiempo, permitiendo analizar variaciones espectrales y espaciales a lo largo del tiempo y ampliar la comprensión de los procesos y factores que actúan en los cambios (Vega-Araya & Alvarado-Barrantes, 2019). Por lo tanto, la teledetección podría facilitar la detección de cambios en los patrones espaciales y temporales de variables biofísicas importantes para el desarrollo del color y distribución de fenotipos en mariposas (Garbulsky y Paruelo, 2004).

3.5 Sitio de estudio

El municipio de Malinalco se ubica en una región de alta diversidad biológica, debido a la variabilidad de recursos y hábitats disponibles que provee su geografía, fisiografía y clima favoreciendo diferentes de comunidades vegetales como la selva baja caducifolia (bosque tropical caducifolio). Todas estas características posicionan a Malinalco como el municipio con mayor diversidad de mariposas en el Estado de México (Aguilera-Gómez & Rivas-Manzano, 2006; Hernández-Mejía *et al*., 2008; INEGI, 2009), siendo un ecosistema no sólo rico en

especies, sino también en diversidad fenotípica. Aunque aún su territorio se conserva en gran medida, durante las últimas décadas la alta actividad turística y la extensa actividad agrícola ha motivado cambios significativos que impactan en su estabilidad (Pavón, 2020), lo cual lo hace una zona ideal para la implementación de tecnologías de detección remota para dilucidar posibles alteraciones del hábitat y avanzar en el conocimiento sobre la relación entre ambientes perturbados y el color en mariposas, con lo que se pueden implementar estrategias de conservación adecuadas para las especies.

3.6 Mariposas: Familia Nymphalidae

Las mariposas de la familia Nymphalidae, se encuentran entre los insectos más carismáticos en muchos hábitats, debido a su belleza visualmente llamativa y diversidad de especies. Son un grupo modelo en estudios evolutivos y ecológicos ya que tienen una alta sensibilidad a los cambios ambientales debido a su fuerte asociación con la vegetación, los microhábitats y la conformación del paisaje (Andrade, 1998; Freitas *et al*., 2014; Luis-Martínez *et al*., 2010; Spaniol *et al.*, 2019). También llamadas mariposas ninfálidas o mariposas patas de cepillo, debido a las múltiples setas que recubren sus patas, las mariposas de la familia Nymphalidae miden entre 10 y180 mm de envergadura alar (Luis-Martínez *et al*., 2003); el par anterior de sus patas es pequeño y reducido, cumpliendo una función quimiorreceptora para detectar sustancias, principalmente aquellas útiles para reconocer a la planta hospedera (De Vries, 1987), por lo que es un caracter morfológico de identificación.

A nivel de familia, para el territorio mexicano representa la segunda (527 *spp*.) y para el Estado de México la primera (102 *spp*.) con mayor riqueza de especies (Hernández-Mejía *et al*., 2008; Llorente-Bousquets *et al.*, 2014). Particularmente en Malinalco es la familia con mayor riqueza de especies (55 *spp*.). En cuanto especies bioindicadoras en México, Orta y col. (2022) la mencionan como la familia con más especies identificadas como bioindicadores ecológicos, pues responden a las condiciones del hábitat, en ambientes conservados (26 *spp*) como de perturbados (59 *spp*.), donde la vegetación es el componente principal que determina su presencia-ausencia.

Las mariposas ninfálidas representan el grupo con mayor variedad de hábitos alimentarios. Son consideradas como especies eurífagas, capaces de aprovechar uno o más sustratos para alimentarse (Hernández-Mejía *et al*., 2008). Principalmente llevan una dieta nectarívora, pero potencialmente pueden abarcar una dieta acimófaga (consumo de materia orgánica en descomposición

como: frutos fermentados, heces, etc.) lo cual facilita su captura mediante métodos combinados por red aérea y trampas de cebo (Checa *et al*., 2019; Orta *et al*., 2022).

Es un grupo que manifiesta un amplio repertorio de colores asociados a los diversos hábitats que ocupan (Spaniol *et al*., 2020). La coloración de sus alas en la superficie dorsal usualmente es llamativa, cuyo patrón puede tener características aposemáticas; mientras que la superficie ventral, presenta diseños crípticos que le permiten confundirse con su entorno. El color de estas mariposas se basa principalmente en pigmentos, destacando la xantomatina y su precursor 3-OH-quinurenina (Stavenga *et al*., 2014). En comparación con otros taxones donde la coloración puede ser variable a lo largo de la ontogenia, el color de las escamas de las mariposas ninfálidas permanece inalterable, ya que en gran medida son morfológicamente homogéneas y fijas, sin migración celular cuando se determina el patrón de color, una vez que llega a la etapa adulta (Otaki & Yamamoto, 2004); por consiguiente representan un buen modelo para estudiar rasgos de color.

4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente, la transformación de entornos naturales por actividades humanas modifica la condición ambiental y la disponibilidad de recursos en los ecosistemas. En Malinalco, la intensificación agrícola, el turismo y la expansión urbana han generado cambios en el hábitat que pueden afectar a organismos sensibles, como las mariposas.

Estas alteraciones pueden modificar la temperatura y la vegetación, factores que intervienen en el desarrollo y la expresión de la coloración alar en las mariposas. Este rasgo que se relaciona con funciones biológicas relevantes para su supervivencia y reproducción. Sin embargo, existe poca información sobre su respuesta ante las modificaciones humanas en condiciones naturales.

Por tal motivo, analizar la coloración alar de mariposas presentes en ambientes modificados puede aportar información sobre la influencia de las condiciones del hábitat en el desarrollo y la expresión de este rasgo. Esto permitirá identificar posibles amenazas para la biodiversidad y orientar estrategias de conservación.

5 HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

5.1.1 HIPÓTESIS

Si las características del hábitat influyen en la coloración alar de las mariposas, entonces, al comparar mariposas provenientes de dos sitios que difieran en su condición ambiental, presentarán diferencias en las propiedades que conforman la coloración alar. Donde las mariposas de un sitio perturbado tendrán colores más brillantes y menos saturados que las de un sitio conservado.

5.1.2 OBJETIVOS

Objetivo general

Analizar el efecto de la condición ambiental del hábitat en la coloración alar de mariposas de la familia Nymphalidae en dos sitios de estudio que difieren en su estado de perturbación.

Objetivos particulares

-Determinar las condiciones ambientales del área de estudio mediante un análisis temporal utilizando sensores remotos, para seleccionar dos sitios de estudio que difieran en su estado de perturbación.

-Identificar la riqueza de las especies de mariposas de la familia Nymphalidae mediante el uso de guías de identificación y seleccionar las especies compartidas entre ambos sitios.

-Obtener las variables colorimétricas de la coloración alar de las especies de mariposas colectadas mediante espectrofotometría.

-Analizar el efecto de las condiciones ambientales en la coloración alar de las mariposas comparando entre sitios de estudio.

5.1.3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

Dado que las condiciones ambientales del hábitat pueden influir en la calidad y disponibilidad de recursos necesarios para el desarrollo del color alar en las mariposas, la pregunta de investigación planteada para este proyecto es:

¿Cuál es el efecto que las condiciones ambientales del hábitat tienen en la coloración alar de mariposas de la familia Nymphalidae en sitios con distinto grado de perturbación?

6 MÉTODO

6.1 Área de estudio

El presente estudio se realizó en el municipio de Malinalco, Estado de México, entre los 19°01'58"-18°45'18" de latitud norte y 99°35'24"-99°25'34" de latitud oeste (figura 1). El municipio tiene una superficie territorial de 266 km^2, colinda al norte con los municipios de Joquicingo, Ocuilan Tenancingo y al sur con el municipio de Zumpahuacán y el Estado de Morelos. Su territorio forma parte de las provincias fisiográficas de la Sierra Madre del Sur (subprovincia depresión del Balsas y Sierras y Valles Guerrerenses) y el Eje Neovolcánico Transversal (subprovincia Lagos y Volcanes de Anáhuac y Mil Cumbres). El área está en el rango altitudinal entre los 1000 y 2600 msnm, creando un relieve irregular caracterizado por la presencia de sierras, cerros, cañadas y lomeríos (INEGI, 2009).

De acuerdo con la clasificación climática de Köeppen modificada por García (1988), se presentan dos tipos de clima: semicálido subhúmedo con lluvias en verano, de mayor humedad (A)C(w1)(w)(i')g, y semicálido subhúmedo con lluvias en verano, de humedad media Aw_1(w)(i')g. La temperatura media anual es de 21 °C y la precipitación media anual es de 1125.7 mm, el mes más húmedo es julio y el más seco febrero (Servicio Meteorológico Nacional, 2022). El municipio presenta un período de sequía con una duración aproximada de siete meses, desde finales de noviembre hasta mayo. El área pertenece a la región hidrológica del Balsas y a la cuenca río Grande de Amacuzac; el río más importante es Ocuilan (INEGI, 2009).

Debido a su variada fisiografía, presenta diferentes tipos de suelo siendo los más predominantes el leptosol, phaeozem y vertisol (Sotelo Ruíz *et al.*, 2019). La vegetación predominante es Selva Baja Caducifolia (SBC) (Rzedowski, 2006), las especies arbóreas más comunes son: *Ficus petiolaris, Bursera morelensis, B. pinnata, Lysiloma acapulcensis, Erythrina* spp., *Eysendhartia polystachya therebinthinaceus, Ceiba aesculifolia, Ipomoea murucoides, Pseudobombax ellipticum* y *Thevetia peruviana;* cactáceas de los géneros: *Stenocereus spp*., *Mammillaria spp*. y *Opuntia spp,* alternando con la vegetación dominante. En la cima de los cerros se desarrollan zacatonales asociados a elementos de bosque templado *(Pinus* spp. y *Quercus* sp.). Otro tipo de vegetación, restringido en cuanto a su extensión, es el bosque de galería (BG) que se desarrolla sobre el curso de los ríos y arroyos y tiene como elementos característicos los géneros *Taxodium, Salix y Alnus* (Aguilera-Gómez

& Rivas-Manzano, 2006; Rzedowski, 2006). Durante la época seca se presenta el punto máximo de florecimiento y fructificación de los árboles en la selva baja caducifolia, al respecto Janzen (1967) señala que el florecimiento en la estación seca conlleva a ventajas como mayor visibilidad de flores y frutos para insectos polinizadores, incrementando su actividad.

El cambio de uso de suelo predominante es por uso forestal (en la selva baja caducifolia principalmente) para la extracción de leña, la actividad agrícola, y pecuaria, que en conjunto comprenden el 76.2% del territorio municipal. La construcción de asentamientos humanos y centros recreativos destinados a la actividad turística, representan el 5.12% del área del municipio, actividad predominante en la cabecera municipal. Las poblaciones con mayor número de habitantes son Malinalco y Chalma, y subsecuentemente La Ladrillera y Jalmolonga (Hernández-Mejía *et al*., 2008; Pavón, 2020).

En cuanto a la lepidopterofauna, Malinalco es el municipio con mayor número de especies registradas (240 *sp*.) (Hernández-Mejía *et al*., 2008) para el Estado de México. La familia Nymphalidae es la segunda con mayor riqueza de especies (55 *sp*.), por debajo de la familia Hesperiidae (74 *sp*.) y se distribuye en el rango altitudinal de 1200-1600 msnm. Los géneros más diversos descritos para la familia Nymphalidae por Hernandéz-Mejía (2008) son: *Chlosyne* y *Anthanassa* y las especies más frecuentes: *Morpho polyphemus*, *Hermeuptychia hermes*, *Anartia fatima*, *Chlosyne ehrenbergii, Anthanassa nebulosa*, *A. texana* y *Heliconius charithonia*.



Figura 1. Mapa de localización geográfica del municipio de Malinalco, Estado de México.

6.2 Determinación del grado de perturbación

Se realizó un análisis espacio-temporal por medio de sensores remotos del área de estudio con el fin de seleccionar dos sitios de estudio que difieran en su condición ambiental en función de variables biofísicas relacionadas con la condición de la vegetación (Índices de vegetación) y la temperatura (Temperatura Superficial Terrestre).

Índices de Vegetación

Los índices de vegetación son parámetros biofísicos estimados a partir de los valores de reflectancia a distintas longitudes de onda, obtenidos de la combinación matemática de dos o más bandas espectrales de una imagen satelital con el fin de obtener y mejorar la información relacionada con la vegetación, discriminándola de otros factores externos, como las propiedades ópticas del suelo o el agua, reduciendo el efecto del relieve en la caracterización espectral de las cubiertas vegetales (Cruz-Flores *et al*., 2020). Son ampliamente utilizados en, estudios de biodiversidad vegetal, productividad de cultivos, monitoreo de riesgo de sequía y exploración de ciclos de carbono y agua (Bravo Peña *et al*., 2013; Cruz *et al*., 2020; Vega-Araya & Alvarado-Barrantes, 2019). Para este estudio se utilizaron el índice de Diferencia Normalizada y el índice de Área Foliar.

Índice de Diferencia Normalizada (NDVI)

El NDVI es el índice de vegetación más utilizado para cuantificar el estado de la vegetación, está directamente relacionado con la capacidad fotosintética y la energía de absorción de la cubierta de las plantas y se emplea, para obtener información sobre la condición de la vegetación y cambios en la cobertura del suelo (Nagendra *et al*., 2013). Se determina mediante la diferencia entre la reflectancia rojo visible y el infrarrojo cercano, que son regiones de mayor reflectancia y absorbancia de la clorofila. Se representa con la formula:

$$NDVI = \frac{NIR - VIS}{NIR + VIS}$$

Donde:

NIR es la reflectancia en el infrarrojo cercano y VIS el rojo en el espectro visible.

Los valores del NDVI varían de -1 a +1, donde valores de 0.2 a 0.8 representan sitios con vegetación, mientras valores negativos corresponden a zonas

desprovistas de vegetación, presencia de agua y valores cercanos al cero corresponden al suelo desnudo, nubes o concreto (Cruz *et a*l., 2020).

Índice de Área Foliar (LAI)

El Índice de Área Foliar (LAI por sus siglas en inglés) es una variable adimensional definida como el área relativa de la hoja por unidad de superficie de suelo (m^2 hoja/m^2 suelo). El LAI es un atributo ecológico importante que proporciona información sobre la cantidad de superficie vegetal con relación a la superficie total del ecosistema o área de estudio. Esto debido a que el tejido de la hoja, sus características fisiológicas y estructurales están involucradas en la intercepción de radiación solar y su distribución espacial dentro o debajo del dosel, por ende está relacionado con la actividad fotosintética y la productividad en los ecosistemas (Pisek & Chen, 2007; Vega-Araya & Alvarado-Barrantes, 2019).

Temperatura Superficial Terrestre (LST)

El LST mide la emisión de radiación térmica desde la superficie terrestre (temperatura radiométrica) donde la energía solar entrante interactúa y calienta el suelo, o la superficie del dosel en áreas con vegetación. Esta cualidad hace que el LST sea un indicador sensible a los cambios de los componentes de la superficie. Su estimación se obtiene de datos infrarrojos térmicos (TIR) de detección remota que proporcionan mediciones LST espacialmente continuas, para examinar los patrones térmicos de la superficie terrestre y el impacto de cambios naturales e inducidos por el humano en la temperatura superficial. Es sensible a cambios en la densidad de la vegetación, ya que las mediciones derivadas de datos TIR, se relacionan con canales espectrales de la vegetación, por lo que usualmente se combina con índices de vegetación para monitorear la dinámica de la cobertura terrestre, riesgo de sequía y perturbaciones del ecosistema (Hulley *et al*., 2019).

6.2.1 Obtención y procesamiento de datos

Se obtuvieron series temporales de imágenes satelitales (formato ráster) para el área de estudio del espectroradiómetro de imágenes de resolución moderada (MODIS) a bordo del satélite Terra, por medio del portal de la NASA (https://modis.gsfc.nasa.gov/). Los datos incluyeron las variables biofísicas: Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada (NDVI), Índice de Área Foliar

(LAI) y Temperatura Superficial Terrestre (LST) para un histórico de 20 años (2000-2020) (Tabla 1).

Tabla 2. Productos y resolución de las variables biofísicas utilizadas para la creación de series temporales.

Producto	Parámetro biofísico	Resolución espacial	Resolución temporal	Unidades	Número de datos
MOD13A1v006	Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada (NDVI)	500 m	16 días	Adimensional	502
MOD15A2Hv006	Índice de Área Foliar (LAI)	500 m	8 días	m^2/m^2	894
MOD11A2v006	Temperatura Superficial Terrestre (LST)	1000 m	8 días	ºC	1002

Las series de datos fueron procesadas y analizadas mediante el software TerrSet 18.3 (Eastman, 2012). El procesamiento previo incluyó detección y corrección de datos ausentes, mediante el método de interpolación (temporal o climatológica), este método permite predecir valores ausentes para las celdas de un ráster a partir de una cantidad limitada de puntos de datos de una muestra asumiendo su correlación (García Condado, 2016). Es importante destacar que la ausencia de datos en las series temporales se relaciona con la irregularidad de la disponibilidad de datos durante el período analizado debido a la presencia de nubes.

Finalmente se removió la estacionalidad de las series de datos mediante la aplicación de un filtro temporal de la media mensual eliminando la influencia de patrones estacionales y obteniendo los valores irregulares o anomalías. De esta forma se facilita la detección de cambios en la tendencia de las series (Granato,2006), es decir, la detección de cambios en el comportamiento normal que pueden ser interpretados como perturbaciones en el sistema.

6.2.2 Análisis de tendencia temporal espacial

Se realizó un análisis de tendencia por medio del modelo de regresión no lineal Theil-Sen, el cual determina la pendiente de la tendencia calculando la pendiente entre los pares de píxeles; donde la estimación final será la mediana del conjunto de valores, resultando en la tendencia del cambio por unidad de tiempo. Este análisis ofrece mayor precisión frente a métodos lineales comúnmente utilizados como los mínimos cuadrados ya que es un estimador

robusto, resistente a los efectos de valores atípicos y la no normalidad en los datos que comúnmente caracterizan a variables del sistema terrestre como la temperatura atmosférica, las precipitaciones y la productividad de la vegetación (Alcaraz-Segura *et al.*, 2010; Granato, 2006).

La variación obtenida de la tendencia en el tiempo fue expresada como la diferencia entre el valor inicial y final de la recta de tendencia. Asimismo, se determinó su dirección y significancia mediante la prueba de Mann-Kendall con un nivel de confianza del 95%, donde su valor inicial es cero (no hay tendencia) y tiene un rango de -1 a 1, valores que se aproxima a 1 indican una tendencia creciente (Cannarozzo *et al.,* 2006; Gine*r et al*., 2012). De lo anterior, se consideró como sitio perturbado aquel con tendencia (positiva o negativa) y un valor de P significativo inferior a 0.05 y como sitio conservado aquel sin tendencia (estable en la media). Posteriormente, los resultados se representaron espacialmente para cada variable mediante la elaboración de mapas en el software ArcGIS 10.8.

6.3 Análisis multicriterio y selección de sitios

El análisis multicriterio constituye una herramienta analítica que proporciona una base matemática para la construcción de matrices de comparación entre criterios y factores relevantes, que intervienen en procesos de toma de decisiones complejas (Barredo, 1996). Por lo anterior, para la selección de sitios se implementó un análisis multicriterio, considerando criterios relacionados con la seguridad y accesibilidad, así como características biogeográficas relacionadas con la distribución de las mariposas ninfálidas. Su asignación se basó en la recopilación de información sobre la biología de las mariposas, particularmente en referencia al trabajo realizado por Hernández-Mejía y col. (2008) sobre mariposas de Malinalco. Para esto se organizaron tres grupos de criterios: 1) estado de perturbación, que incluyó la base de datos generada mediante el análisis de tendencia temporal para cada variable biofísica. 2) biogeográfico, representado por la presencia de cuerpos de agua cercanos a los sitios, tipo de vegetación y uso de suelo presente 3) seguridad, entendido como la presencia de rutas de fácil acceso a los sitios.

Para las variables de seguridad y características biogeográficas se obtuvieron capas de los portales de INEGI (https://www.inegi.org.mx/siscon/) y CONABIO (http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/). Se utilizaron la red nacional de caminos (INEGI, 2021), hidrología (Casas-Andreu, 1997) y uso de suelo y vegetación (INEGI, 2018). A continuación, se asignaron valores numéricos

equiparables en función de la importancia de cada variable (tabla 2). Finalmente se realizó una superposición de capas y operaciones pertinentes, para obtener la representación espacial de sitios potenciales y apropiados para el trabajo de campo.

Tabla 3. Criterios asignados en el análisis multicriterio para la selección de los sitios perturbados y no perturbados para el estudio de coloración de mariposas ninfálidas en Malinalco, Estado de México.

Criterio	Sitio perturbado	Sitio no perturbado
Valor numérico	1	0
NDVI	Con tendencia	Sin tendencia
LAI		
LST		
Criterio biogeográfico		
Tipo de vegetación y uso de suelo	Presencia de cultivos Asentamientos humanos	Selva Baja Caducifolia
Ríos	Distancia (m) <500	
Criterios seguridad		
Carreteras	Distancia (m) <500	

Una vez seleccionados los sitios de estudio, se obtuvo la tendencia temporal de cada variable biofísica analizada mediante una regresión no lineal Theil-Sen, correspondiente al período 2000-2020 para cada sitio de estudio y se calculó la tasa de cambio de cada variable, con el objetivo de corroborar la condición de perturbación y conservación de cada sitio.

6.4 Reconocimiento e identificación de especies compartidas

Con la finalidad de familiarizarse con las especies presentes y compartidas entre los sitios de estudio, se realizaron visitas previas al trabajo de campo a los sitios para identificar *In situ* las especies de mariposas ninfálidas. Las mariposas encontradas se capturaron con ayuda de una red entomológica aérea y se identificaron con guías de identificación taxonómica, liberándolas en el sitio de colecta posteriormente (figura 2). Estas visitas piloto facilitaron, el trabajo posterior de colecta.

Las mariposas que no pudieron identificarse en campo fueron fotografiadas en vista dorsal y ventral con una cámara fotográfica (Nikon D700) para su posterior identificación taxonómica, la cual se corroboró con las guías de identificación de De la Maza (1987) Garwood & Lehman (2005), Glassberg (2017), Warren *et. al*.

(2012) y el listado de especies de mariposas de Malinalco descrito por Hernandéz-Mejia (2008).



Figura 2. Manipulación de mariposas para identificación taxonómica y posterior liberación en Malinalco, Estado de México.

6.5 Colecta e identificación de organismos

6.5.1 Trabajo de campo

Siguiendo la metodología propuesta por Abós-Castel (2009) para muestrear mariposas, se realizaron 24 muestreos durante la primavera 2022 (Marzo-Junio) durante 3 días al mes para cada sitio de colecta. En cada sitio se colocaron 6 trampas Van Someren Rydon alternadas cada 30 m, a una altura de 1.5 a 3.0 m tratando de abarcar la mayor parte del área posible; se instalaron en sitios con la presencia de mariposas donde no incidiera el sol directamente. Se usó como atrayente cebo estándar de plátano macho, azúcar mascabado y piña, en algunos casos se incluyó fruta de temporada como naranja, guayaba y melón ligeramente machacados (figura 3). El cebo se dejó fermentar en un contenedor plástico 5 días antes de su utilización. Cada 2 h se revisaron las trampas para colectar e identificar las mariposas capturadas. La muestra se complementó con captura manual por medio de red entomológica aérea como lo sugiere Checa *et al*. (2019) para la búsqueda activa de mariposas en los distintos microhábitats:

vegetación, zonas de penumbra, caminos o senderos con presencia de flores, sitios húmedos.

Puesto que se ha descrito la importancia de la distribución altitudinal en el gremio alimentario de preferencia de estas mariposas y su relación con la técnica de muestreo a implementar, se utilizaron ambas técnicas de muestreo, como lo sugiere Orta (2022) para mariposas con distribución mayor e inferior a 15000 msn, como es el caso de las ninfálidas para Malinalco.



Figura 3. Colocación de trampas Van Someren Rydon con cebo de plátano como atrayente de mariposas ninfálidas en Malinalco, Estado de México.

Cada colecta se inició a las 10:00 h y finalizó a las 17:00 h, tiempo en el que se observó actividad de las mariposas. El esfuerzo de muestreo fue de 4-5 personas por día.

De cada especie compartida entre los sitios de estudio, se colectaron diez organismos por sitio. Las mariposas colectadas se sacrificaron por medio de presión digital siguiendo la técnica descrita por Gonzalo-Andrade *et al*. (2013) posteriormente fueron fijadas en bolsas de papel glassine y rotuladas con la información relacionada al organismo (fecha, sitio de colecta, identificación de la especie, número de organismo). Finalmente, fueron almacenadas en cajas

plásticas para su posterior preparación y montaje. El muestreo se realizó bajo el permiso de colecta 09/K5-0491/02/22 otorgado por SEMARNAT.

6.5.2 Procesamiento y determinación taxonómica en el laboratorio

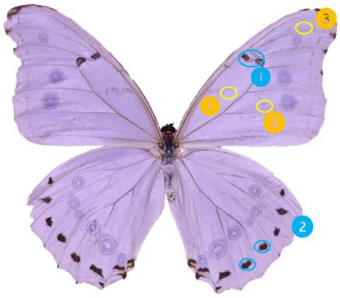
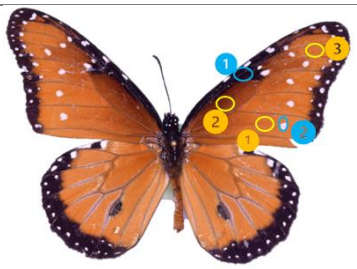
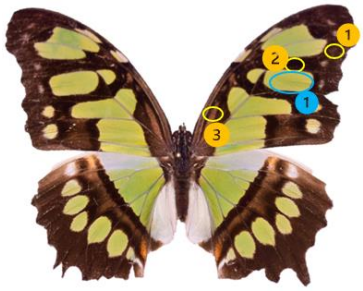
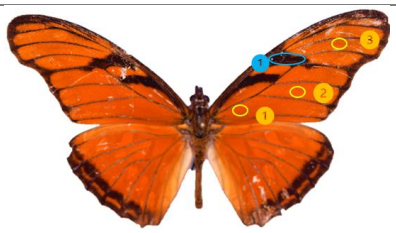
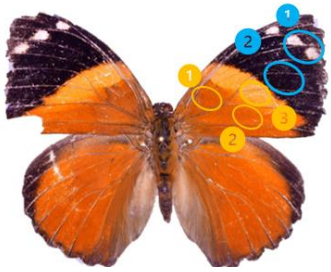
Siguiendo la técnica de ablandamiento de ejemplares descrita por Márquez-Luna (2005), los organismos se colocaron en cámaras húmedas para su posterior montaje con alfiler entomológico con la técnica descrita por Borror *et al*. (1992). La identificación taxonómica se realizó y corroboró mediante el uso de las guías de identificación de De la Maza (1987), Garwood & Lehman (2005), Glassberg (2017), Luis-Martínez *et. al*. (2003) Warren *et. al*. (2012) y la comparación con el listado de especies de mariposas de Malinalco descrito por Hernandéz-Mejia (2008).

6.6 Evaluación de la coloración

6.6.1 Toma de mediciones de color

Se realizaron mediciones de reflectancia de las variables colorimétricas: brillo, saturación y tono de la superficie alar con un espectrofotómetro Avantes (AvaSpec-2048L) dentro del rango del espectro electromagnético ultravioleta-visible (300-700 nm). Se utilizó un blanco difuso Avantes y la oscuridad total para la estandarización de referencia. Una sonda de fibra óptica con una luz de xenón (AvaLigth-XE) se montó en un soporte universal a una distancia de 3 mm de la superficie contacto de la muestra con un ángulo de 90°dentro de una caja de aislamiento para evitar la interferencia de la luz exterior. En cada especie se seleccionaron para la medición zonas alares en el ala derecha superior dorsal, que abarcaban el color principal del ala (representado como color de fondo "cf") y el resto de los colores presentes en el ala con una menor superficie alar (considerados como parches de color, asignándoles un número "p1, p2, p3…"). Se realizaron tres mediciones de cada color por zona alar en 1mm de diámetro (3 repeticiones). Sólo para las zonas alares identificadas como "cf" se seleccionaron tres áreas diferentes que representaran todo el color de fondo presente en el ala, siendo las repeticiones realizadas. Para aquellas mariposas que presentaban colores distintos en el ala derecha inferior dorsal, también se seleccionaron zonas alares de medición, como se muestra en la tabla 4. Posteriormente los datos fueron extraídos con el software AvaSoft 8.1. en archivos Excel independientes.

Tabla 4. Zonas alares seleccionadas para mediciones de reflectancia en mariposas ninfálidas de Malinalco, Estado de México. Las zonas establecidas como color de fondo se muestran con sus respectivas repeticiones. Fotografías tomadas por la autora.

Zonas alares de medición			
Especies		**Especies**	
Anthanassa nebulosa		*Junonia coenia*	
Chlosyne janais		*Morpho polyphemus*	
Danaus gilippus		*Siproeta stelenes*	
Dione juno		*Smyrna blomfildia*	
Heliconius charithonia			

**Números: color de fondo "cf" (amarillo) y N parches con distintos colores (azul)

6.6.2 Procesamiento de datos y obtención de variables colorimétricas

La organización y el procesamiento de los datos de reflectancia se realizó en el Software R studio mediante la paquetería PAVO (Maia *et al*., 2013). El procesamiento incluyó la obtención del promedio de las repeticiones para cada zona alar medida y el suavizado de curvas de reflectancia para eliminar el ruido. A partir de estos valores, se obtuvieron las variables de colorimétricas para cada zona alar de cada especie de mariposa: tono (longitud de onda máxima que otorga el tipo de color, por ejemplo, naranja o azul), saturación (riqueza o intensidad del color en comparación con la luz blanca), brillo (la suma de los valores de reflectancia a lo largo del rango espectral de 300 a 700 nm) (Maia *et al*., 2013; Montgomerie, 2006).

6.7 Análisis estadísticos

Para evaluar el efecto de la condición ambiental de cada sitio sobre los componentes de la coloración alar, se emplearon modelos lineales mixtos (LMM). Las variables colorimétricas se analizaron de forma independiente. Para explorar patrones generales, las mediciones se integraron por tipo de color en cinco grupos artificiales: rojo, blanco, negro, verde y amarillo. El brillo y la saturación se transformaron mediante raíz cuadrada para mejorar la normalidad de los residuos y estabilizar la varianza. El tono se excluyó del análisis debido a que presentó valores de longitud de onda dominante cercanos a 700 nm en todas las especies, por lo que no permitió establecer comparaciones entre los sitios.

Para cada variable se ajustó un modelo que incluyó el sitio, el grupo de color y su interacción como efectos fijos. La especie y la identidad del individuo anidada dentro de la especie se incorporaron como efectos aleatorios. La interacción entre el sitio y el grupo de color permitió evaluar si las diferencias entre sitios dependían del color analizado.

Los parámetros del modelo se estimaron mediante máxima verosimilitud restringida (REML) y el Criterio de Información de Akaike (AIC) (Zuur *et al*., 2010; Bates *et al*., 2015). La significancia de los efectos fijos se evaluó mediante un análisis de ANOVA tipo III mediante el método de Satterthwaite. Los residuos del modelo y el ajuste general se verificaron utilizando el paquete DHARMa (Hartig, 2021). Los modelos se ajustaron con la paquetería lme4 y lmerTest en R (R Core Team, 2022) mientras que las representaciones gráficas se elaboraron con ggeffects (Lüdecke, 2018) y ggplot2 (Wickham, 2016).

7 RESULTADOS

Los resultados se presentan en el siguiente orden: (1) Determinación del grado de perturbación y selección de sitios de estudio (2) especies identificadas y compartidas entre los sitios y (3) comparación del efecto de las condiciones ambientales en la coloración alar de las mariposas entre los sitios de estudio seleccionados.

7.1 Determinación del grado de perturbación y selección de sitios

7.1.1 Análisis de tendencias temporales (espacial)

En las figuras 4 y 5 se muestra la distribución espacial del análisis de tendencia temporal registrado durante el período 2000-2020 para cada variable analizada mediante el test de Mann-Kendall. En escala de colores se señalan las zonas que presentan cambios en su tendencia ($P<0.05$), y en negro las zonas que se han mantenido sin cambios a lo largo del tiempo ($P>0.05$).

Los valores de significancia del NDVI y LAI para Malinalco, durante el período 2000-2020, evidencian una alta homogeneidad espacial en la cobertura vegetal. Las figuras 4 a y b muestran las zonas con aumento o disminución en la condición de la vegetación, observándose una distribución espacial semejante. Los valores del NDVI (figura 4 a) para las zonas con tendencia positiva estadísticamente significativas (representados en tonos verdes) abarcan 246.30 km^2 de la superficie de Malinalco. De manera similar, para la variable LAI (figura 4 b) las zonas con tendencia positiva (representados en tonos verde-azul) cubren 213.75 km^2. Estos resultados sugieren que el territorio mantiene una alta productividad de biomasa vegetal y, por lo tanto, de actividad fotosintética, lo que refleja una cobertura vegetal estable en gran parte del municipio.

Por otro lado, las zonas con tendencia significativamente negativa en los valores de NDVI (representados en tono café-rojo) abarcan 9.25 km^2 (figura 4 a) mientras que para LAI (representados en tono amarillo-naranja) 31.75 km^2 de su superficie (figura 4 b). En ambas variables, los pixeles con tendencia negativa se concentran en áreas geográficas similares que corresponden a las localidades de El Platanar, Jalmolonga, La loma y La Ladrillera, caracterizados por la presencia de asentamientos humanos e intensa actividad agrícola y pecuaria (Hernández-Mejia *et al*., 2008). En cuanto a las áreas que no presentan significancia estadística (marcadas en pixeles negros) coinciden en zonas muy similares de Malinalco, para ambas variables y representan zonas que se han mantenido sin cambios importantes en la productividad y cobertura vegetal en los 20 años analizados.

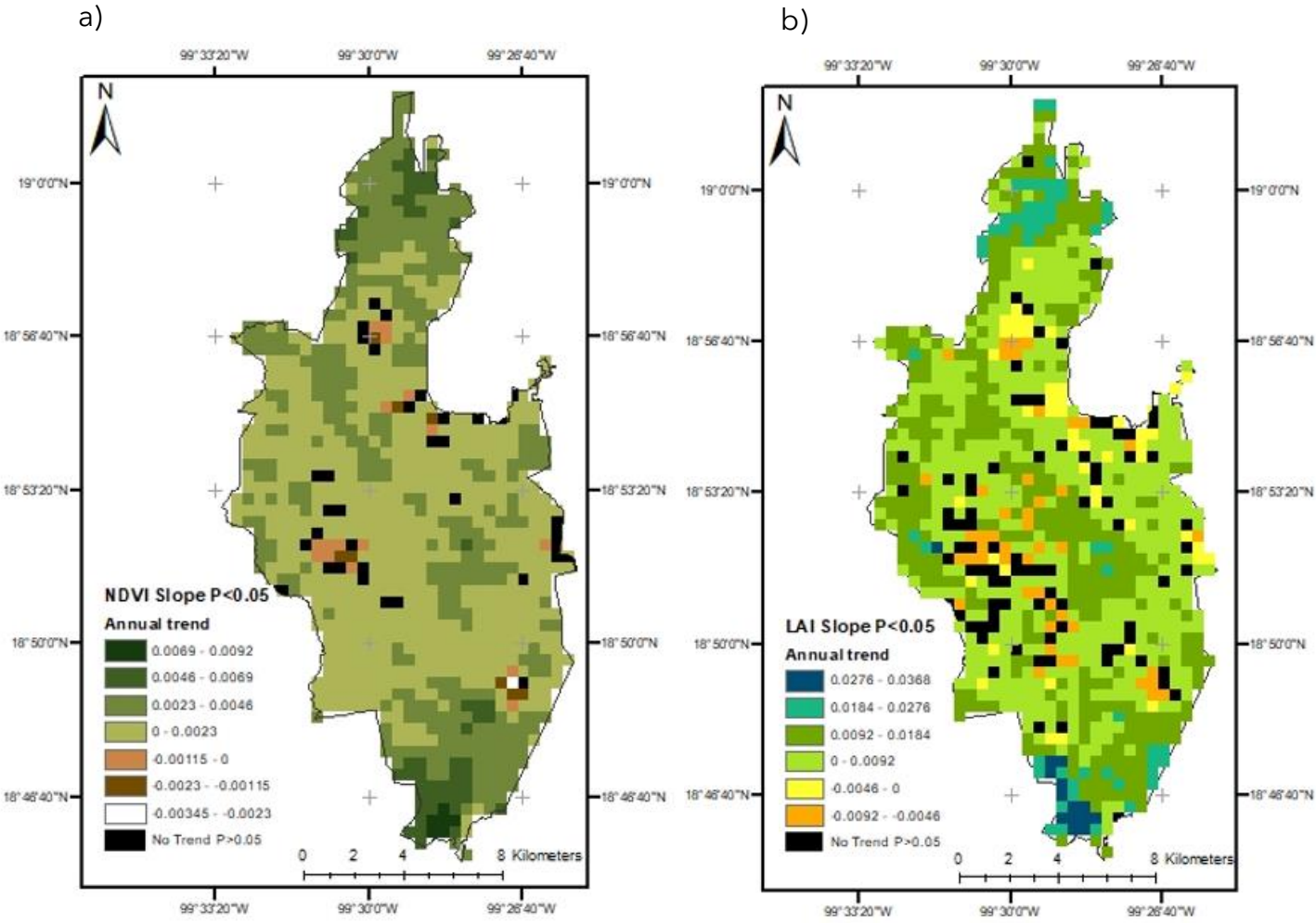


Figura 4. Distribución espacial de tendencia temporal anual para las series de vegetación a) NDVI y b) LAI de Malinalco, Estado de México. Los píxeles en negro muestran una tendencia no significativa estadísticamente (P>0.05), mientras que los píxeles en escala de colores son aquellos con tendencias significativas en el test de Mann Kendall (P<0.05).

El mapa correspondiente al análisis temporal para la variable LST (figura 5), muestra que 49 km^2 (representados en tonos rojos) presentan valores significativos de tendencia positiva, donde la temperatura aumentó considerablemente. Contrario a lo que se esperaba, estas zonas no coinciden con la cabecera municipal, pero sí con localidades donde se realiza actividad agrícola y pecuaria intensa como Jalmolonga, Colonia Juárez, Tepehuajes y El Platanar. En contraste, 181 km^2 (en tonos azules) reflejan valores de tendencia negativa, abarcando la mayor parte del territorio de Malinalco. Escasas áreas del municipio se muestran sin cambios aparentes en los 20 años del análisis (representados en negro).

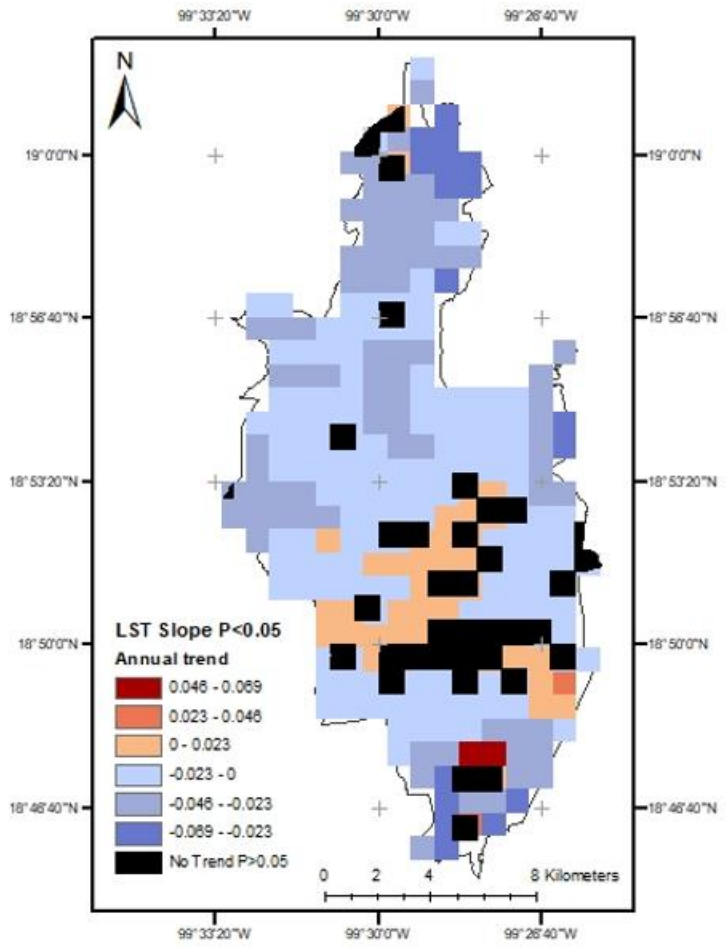


Figura 5. Distribución espacial de tendencia temporal anual para la serie LST de Malinalco, Estado de México. Los píxeles en negro tuvieron una tendencia no significativa estadísticamente (P>0.05); mientras que los píxeles en escala de colores obtuvieron tendencias significativas en el test de Mann-Kendall (P<0.05).

7.2 Análisis multicriterio y selección de sitios de estudio

Con la información generada en el análisis de tendencia temporal espacial y la incorporación de criterios geográfico-ecológicos, se construyó el análisis multicriterio, para la selección de los sitios de estudio. Los resultados representados en la figura seis, muestran 11 zonas potenciales para el trabajo de campo, de las cuales 9 son consideradas sitios perturbados (en tono magenta) y 2 sitios conservados (en tono azul).

Los sitios detectados como perturbados se encuentran ubicados en las zonas de mayor densidad poblacional, entre ellos la cabecera municipal (Malinalco) y las localidades de San Simón el Alto, La Ladrillera, Chalma, Puente Caporal, Jalmolonga, Tepehuajes, El Platanar y San Andrés Nicolas Bravo. Esto coincide con los descrito por Martínez-De la Cruz (2005), Hernández-Mejía (2008) y Pavón

(2020) para las características de conservación de las diferentes localidades que conforman en municipio.

Se realizaron visitas de reconocimiento para identificar la presencia de mariposas ninfálidas y se seleccionaron dos sitios adecuados para el trabajo de campo, ubicados en las localidades de Las Truchas (sitio perturbado) y San Pedro Chichicasco (sitio conservado) (Figura 7 y 8).

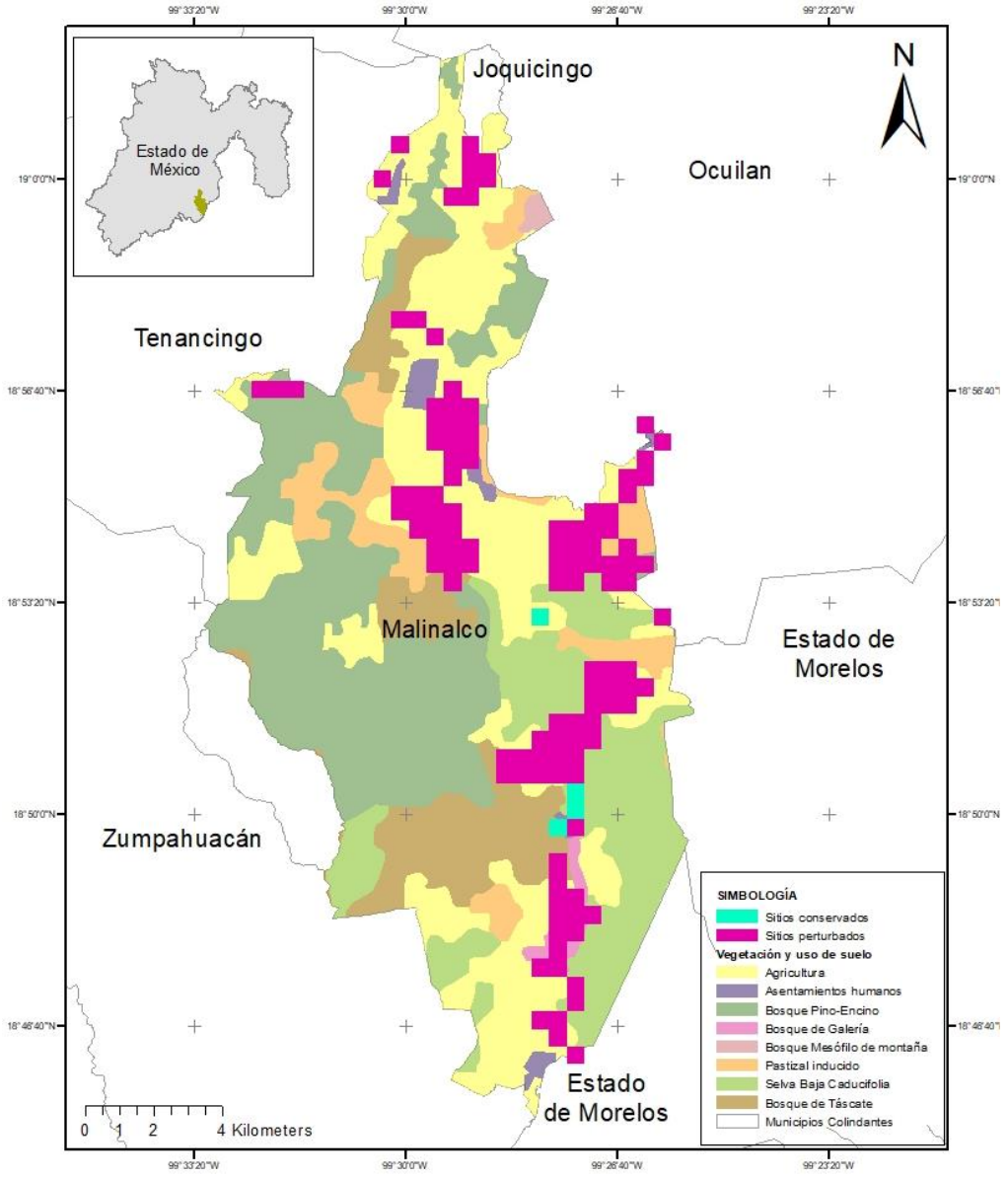


Figura 6. Distribución de zonas potenciales para el trabajo de campo, en conjunto con el criterio de tipo de vegetación y uso de suelo para Malinalco, Estado de México (INEGI, 2018) resultado del análisis multicriterio.

Ambos sitios cumplieron con los criterios de selección establecidos. A continuación, se describen sus características geográfico-ecológicas:

Las Truchas: coordenadas 18°50'34" N 99°27'38" O altitud: 1650 m (figura 7). Sitio conformado por un patrón de fragmentos secuenciales de vegetación que incluyen, remanentes de Selva Baja Caducifolia, presencia de vegetación ruderal, con especies como: *Tropaeolum majus*, *Ricinus communis, Ipomea sp*., *Leonotis nepetifolia* (Aguilera-Gómez & Rivas-Manzano, 2006; Martínez-De La Cruz *et al.*, 2015) y campos de cultivos destinados al pastizal inducido para uso pecuario y la agricultura de riego (figura 8) para el cultivo de: caña (*Saccharum offi cinarum*), maíz (*Zea mays*), y huertos de: guayabo (*Psidium guajava*), limón (*Citrus limon*) y plátano (*Musa paradisiaca*). Adicionalmente la zona cuenta con asentamientos humanos por la construcción de residenciales, invernaderos y la presencia de centros recreativos acuáticos con intensa actividad turística.

El río San Miguel cruza esta zona y se extrae agua del mismo para el riego de los cultivos.

San Pedro Chichicasco: coordenadas 18°55'89''N 99°29'83''O altitud: 1280 m (figura 7). Presenta abundantes áreas de Selva Baja Caducifolia conservada, con las especies: *Acacia sp., Bursera sp. Ceiba sp.*, *Thevetia peruviana*. Presenta algunos asentamientos humanos, así como algunos cultivos de maíz *(Zea mays*), zapote blanco (*Casimiroa edilus*), mango (*Magnifera sp*.) y agave (*Agave sp*.) en la mayoría de los casos para consumo familiar (Aguilera-Gómez & Rivas-Manzano, 2006) (figura 8).

El río Ocuilan cruza esta zona.

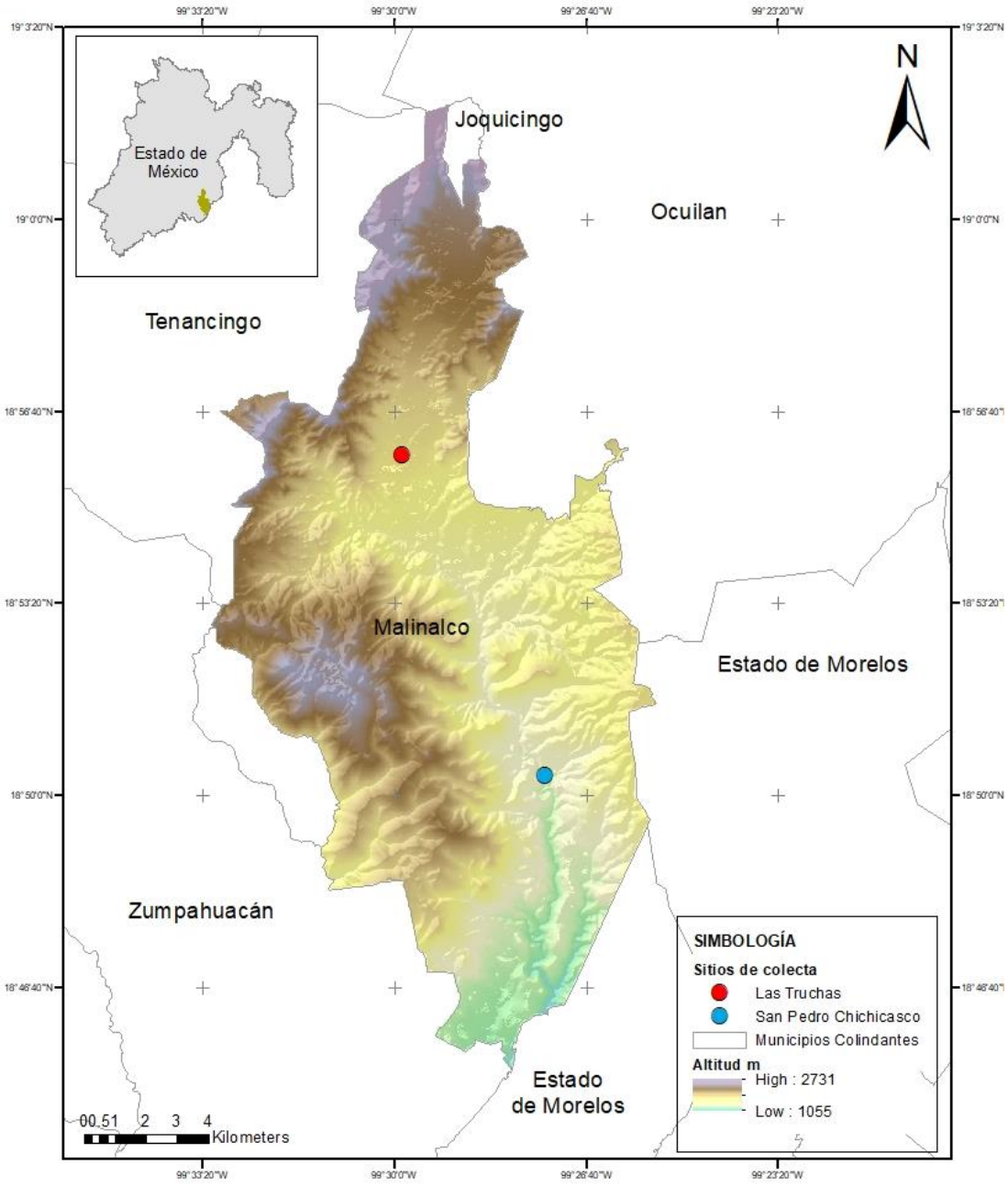


Figura 7. Localización geográfica y altitudinal de los sitios de estudio en Malinalco, Estado de México (INEGI, 2013).

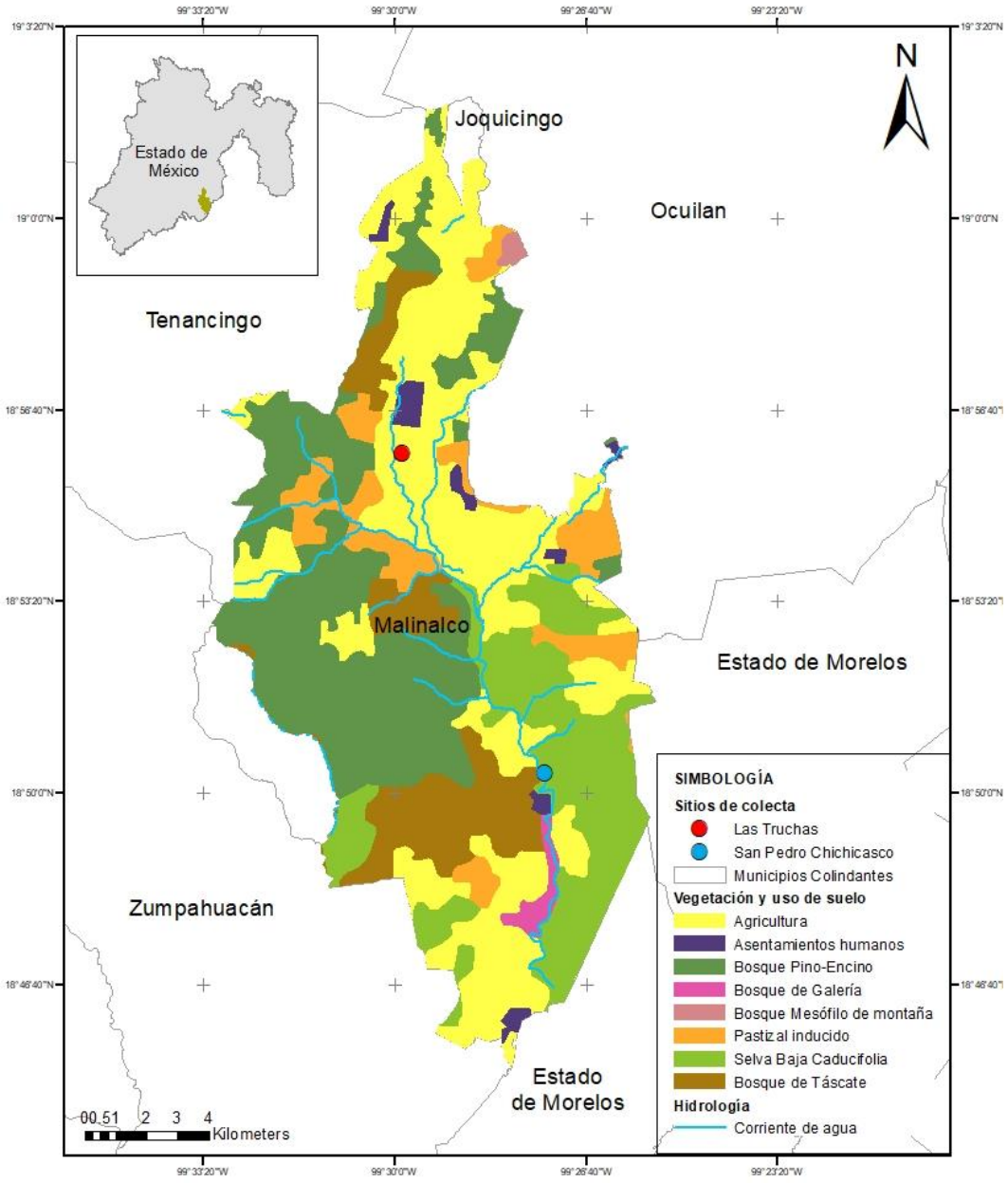


Figura 8. Mapa de uso de suelo y vegetación, y principales corrientes de agua que cruzan los sitios de estudio en Malinalco, Estado de México (Casas-Andreu, G.,1997; INEGI, 2018).

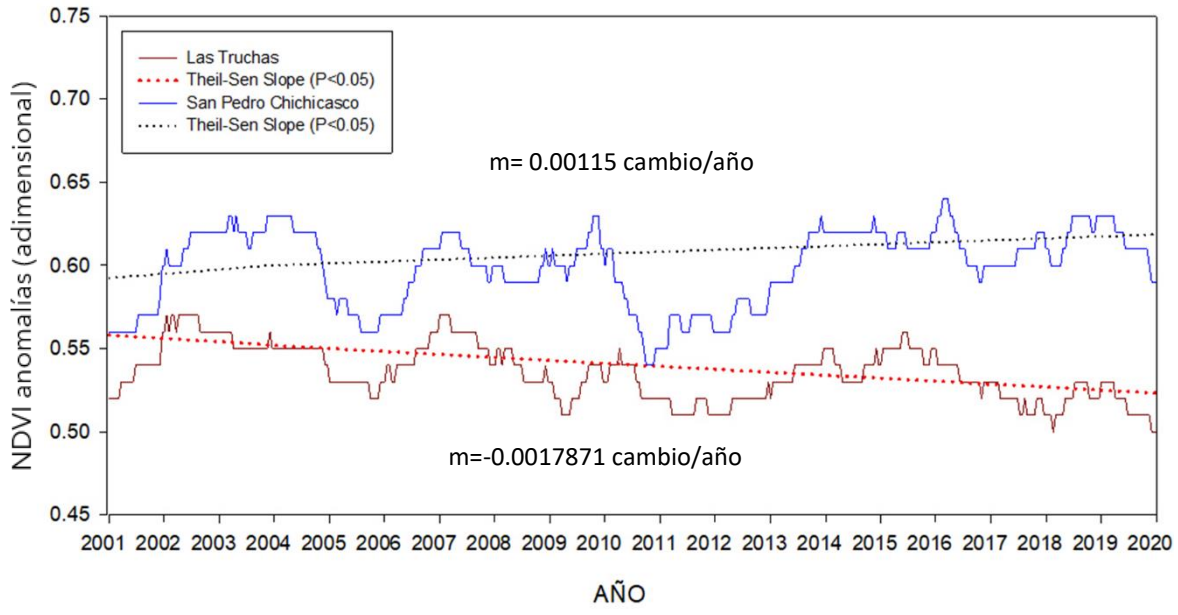
Posterior a la selección de los sitios de estudio, se obtuvo la regresión no lineal Theil-sen de las series temporales NDVI, LAI y LST (figura 9 a, b y c) y la razón de cambio en el tiempo para cada uno (tabla 4). Las Truchas mostró un patrón similar de disminución de la pendiente en el tiempo ($P<0.05$) para cada variable analizada, observándose un período de descenso de las condiciones del sitio a partir de los años 2004-2005. Asimismo, la razón de cambio dentro del período analizado tiene valores negativos para cada variable: NDVI (-0.035), LAI (-0.092

m^2/m^2) y LST (-0.55°C) (tabla 4). Por el contrario, San Pedro Chichicasco muestra tendencias neutras sin cambios aparentes en el tiempo en sentido general de las series LAI y LST (sin tendencia) (figura 9 b, c), a excepción del NDVI (Figura 9 a) que presenta una tendencia creciente ($P<0.05$), con un valor de cambio de 0.023 durante los 20 años analizados (tabla 5).

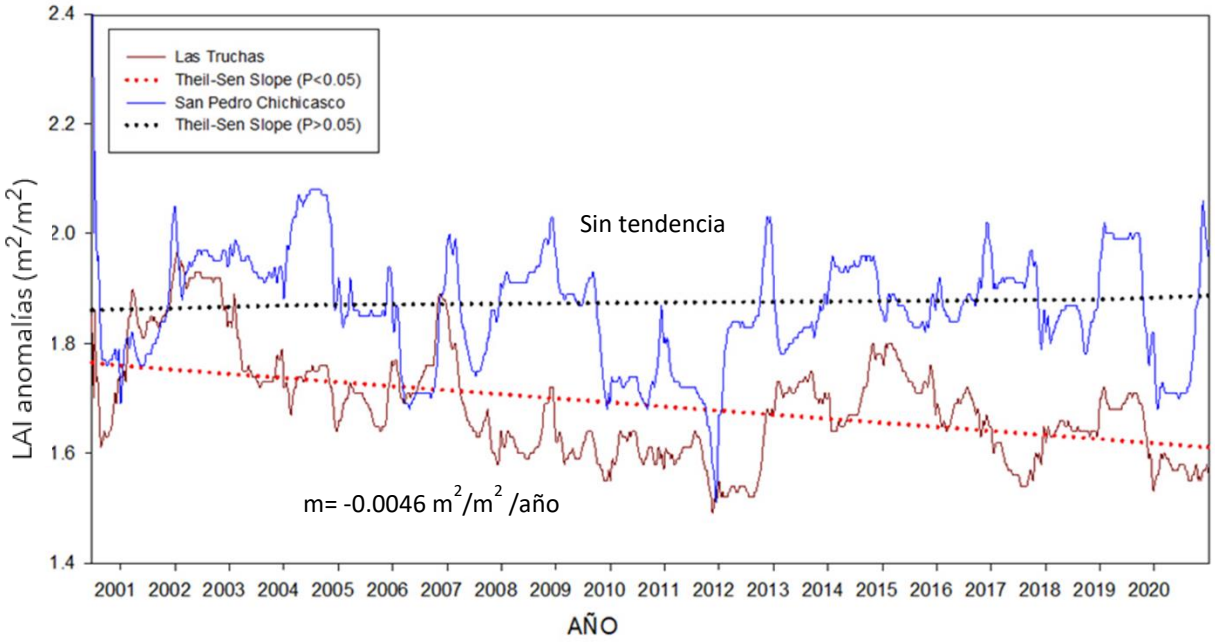
Estos resultados sugieren que el tipo de manejo y la presencia de modificaciones antropogénicas en el hábitat pueden afectar significativamente su condición. En este sentido, actividades como la deforestación, el cambio de uso de suelo para la agricultura y la intensa actividad turística presente en Las Truchas han impactado negativamente en la calidad y cantidad de cobertura vegetal, lo que indica un entorno perturbado (figura 9 a, b y c). Asimismo, a pesar de que se esperaba un aumento en la temperatura debido a la disminución de la cubierta vegetal, el sitio mostró una sorprendente disminución en la temperatura (tabla 5). En contraste, en San Pedro Chichicasco, un sitio donde son escasos los asentamientos humanos y hay limitada actividad agrícola, la ausencia de cambios en la tendencia a lo largo de los 20 años analizados sugiere que el ecosistema no ha experimentado alteraciones significativas en sus patrones de temperatura, y por el contrario la cobertura y productividad vegetal ha mejorado, lo cual es indicativo de un entorno relativamente estable y conservado.

Particularmente en nuestro estudio, el uso de sistemas de teledetección permitió una caracterización remota precisa de las condiciones de los sitios, proporcionando valores cuantitativos de forma rápida y eficiente, lo que facilitó una evaluación objetiva del estado de conservación de ambos entornos.

a)



b)



c)

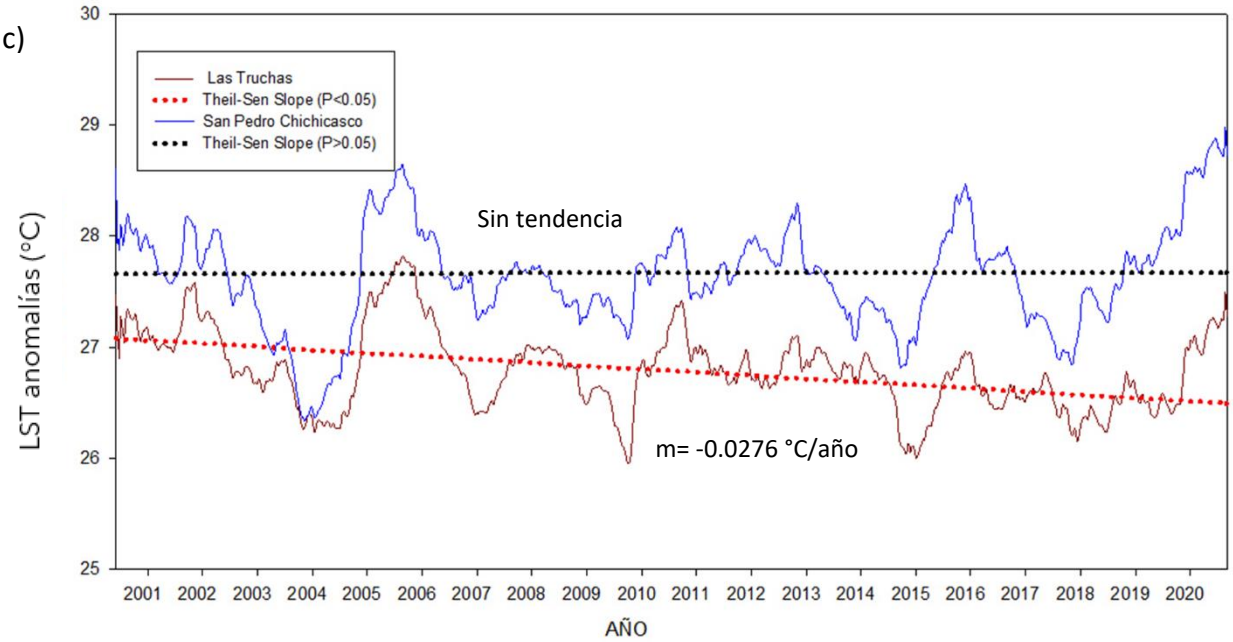


Figura 9. Tendencia anual Theil-Sen de las series de tiempo (2000-2020) a) NDVI, b) LST c) LAI para las localidades Las Truchas y San Pedro Chichicasco en Malinalco, Estado de México.

Tabla 5. Razón de cambio en el período 2000-2020 para cada variable analizada en Malinalco, Estado de México.

Sitios	NDVI	LAI	LST
Las Truchas	-0.035	-0.015 m^2/m^2	-0.55 °C
San Pedro Chichicasco	0.023	No trend	No trend

7.3 Especies identificadas y compartidas entre los sitios de colecta

Se completaron 24 muestreos, con un esfuerzo de muestreo de 192 horas/persona y 504 horas/trampa. La determinación taxonómica de los organismos mediante el uso de fotografías y ejemplares montados permitió identificar 38 especies de mariposas ninfálidas de 29 géneros y 4 subfamilias (Danainae, Heliconiinae, Morphinae y Satyrinae), que representan el 69% de las especies registradas de mariposas ninfálidas para el municipio de Malinalco (55 *spp*) por Hernández-Mejía (2008). Con base en el análisis de los datos de colecta y la revisión de la literatura, se obtuvieron tres nuevos registros de distribución para el municipio: *Hamadryas amphinome* (Hübner, 1806), *Myscelia ethusa* (Doyère , 1840) y *Smyrna blomfildia* (Fabricius, 1781*)*.

El sitio con mayor riqueza de especies fue San Pedro Chichicasco con 31 especies (84.2% del total), mientras que el sitio Las Truchas presento una riqueza de 22 especies (57.8% del total). De las especies identificadas, 15 estuvieron presentes en ambos sitios (compartidas), de las cuales se seleccionaron 9 cuyo número de individuos colectados fue suficiente para incorporar en el análisis del color (180 organismos). A continuación, se presenta el listado de especies para cada sitio, identificando las especies compartidas entre los mismos, distinguiendo aquellas que se emplearon en este estudio para el análisis de color (figura 10), debido a que por consideraciones éticas y ecológicas no se incorporaron en el estudio todas las especies presentes.

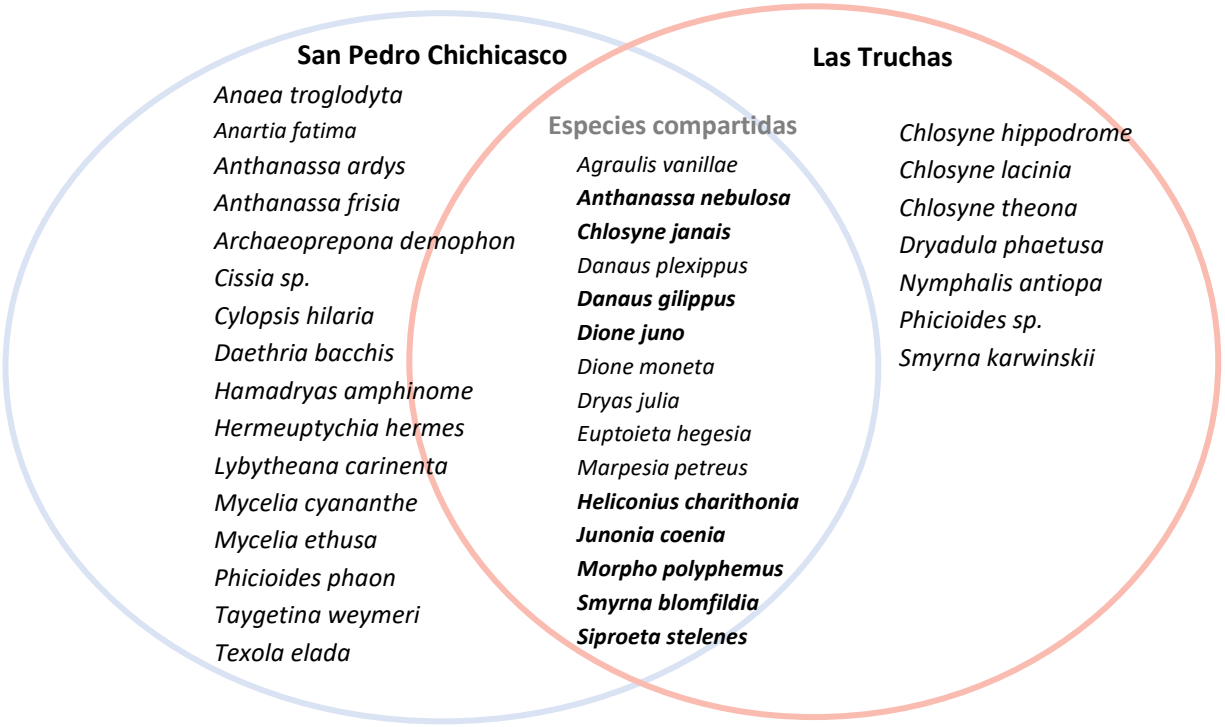


Figura 10. Diagrama de Venn de las especies identificadas durante el trabajo de campo para cada sitio de estudio en el Municipio de Malinalco, Estado de México. Se especifican las especies compartidas entre los mismos y se resaltan en negritas las especies incluidas en este estudio para el análisis de color.

7.4 Evaluación de la coloración alar

De acuerdo con los resultados del análisis de Modelos Lineales de Efectos Mixtos no se detectó interacción significativa entre el sitio y el color para el brillo ($F = 0,419$, $p = 0,52$) ni para la saturación ($F = 0,41$, $p = 0,79$). De igual manera, no se observó un efecto principal significativo del sitio ni en el brillo ($F = 0,34$, $p = 0,25$) ni en la saturación ($F = 0,34$, $p = 0,55$; Tabla 6 y 7). Estos resultados indican una variación mínima entre poblaciones para ambas variables de color (Fig. 11 y 12).

Para evaluar los efectos aleatorios asociados a la estructura jerárquica de los datos (individuos anidados dentro de especies), se calculó el coeficiente de correlación intraclase (CCI) para estimar la proporción de la varianza total en las variables dependientes (brillo y saturación) atribuible a las diferencias a nivel de grupo. Los resultados mostraron una baja variación intraespecífica tanto para el brillo como para la saturación (apéndice: tabla 8 y 9). En contraste, la varianza explicada entre especies fue moderada para ambos rasgos: brillo (ICC = 24,1%) y saturación (ICC = 60,2%).

Tabla 6. Análisis de varianza tipo III con el método de Satterthwaite, para LMM de brillo.

Predictor	Sum Sp	Mean Sq	NumDF	DenDF	F value	Pr(>F)
Sitio	0.0008322	0.008322	1	412	0.3407	0.250
Color	28.81	7.204	4	416.6	294.9	6.592e-64
Sitio:Color	0.04095	0.01024	4	411.9	0.4191	0.524

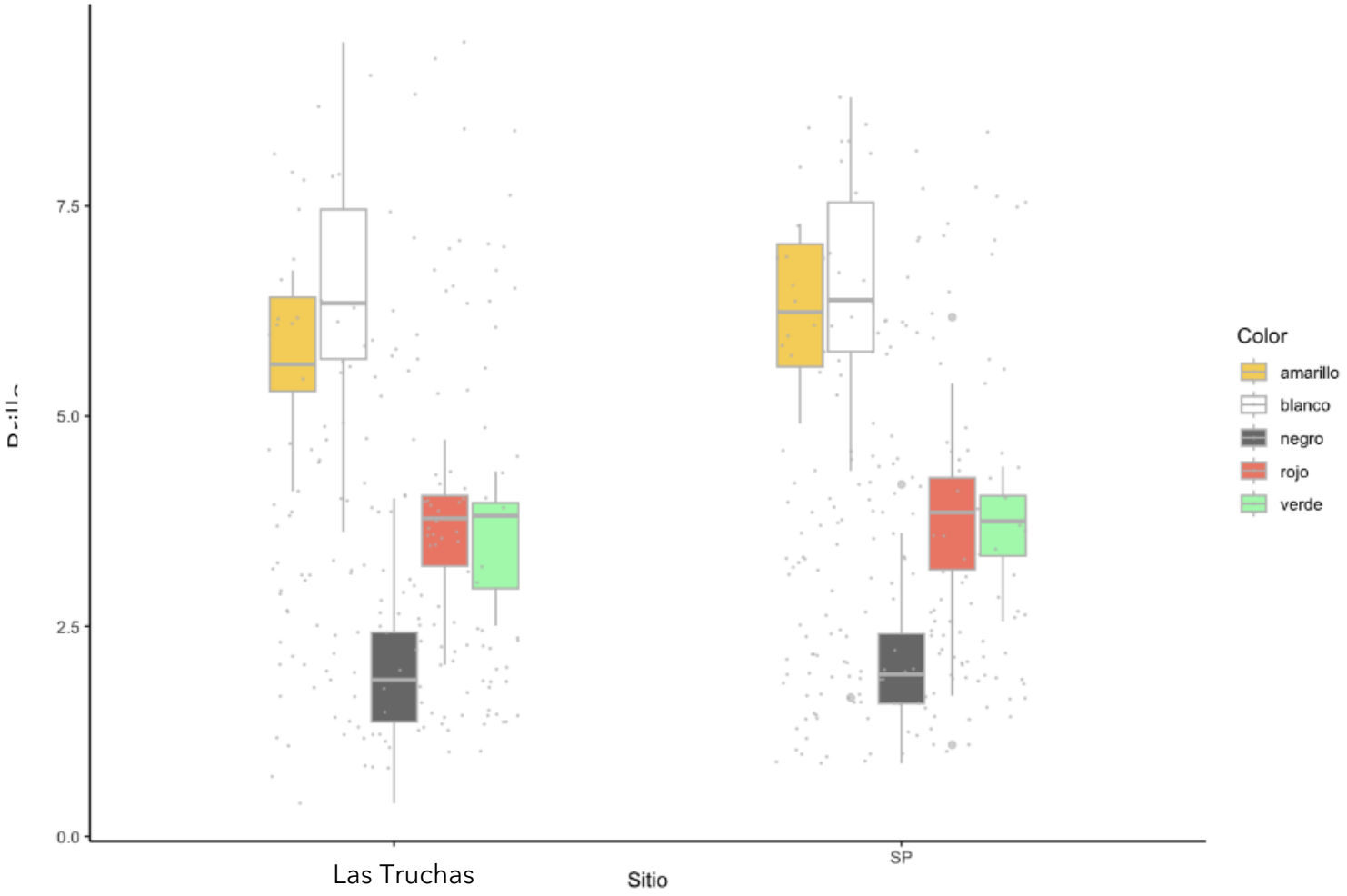


Figura 11. Efecto de la condición ambiental de los sitios San Pedro Chichicasco y Las Truchas en el brillo del color alar de las mariposas ninfálidas.

Tabla 7. Análisis de varianza tipo III con el método de Satterthwaite, para LMM de saturación.

Predictor	Sum Sp	Mean Sq	NumDF	DenDF	F value	Pr(>F)
Sitio	0.0008322	0.008322	1	412	0.3407	0.559
Color	28.81	7.204	4	416.6	294.9	4.821e-120
Sitio:Color	0.04095	0.01024	4	411.9	0.4191	0.794

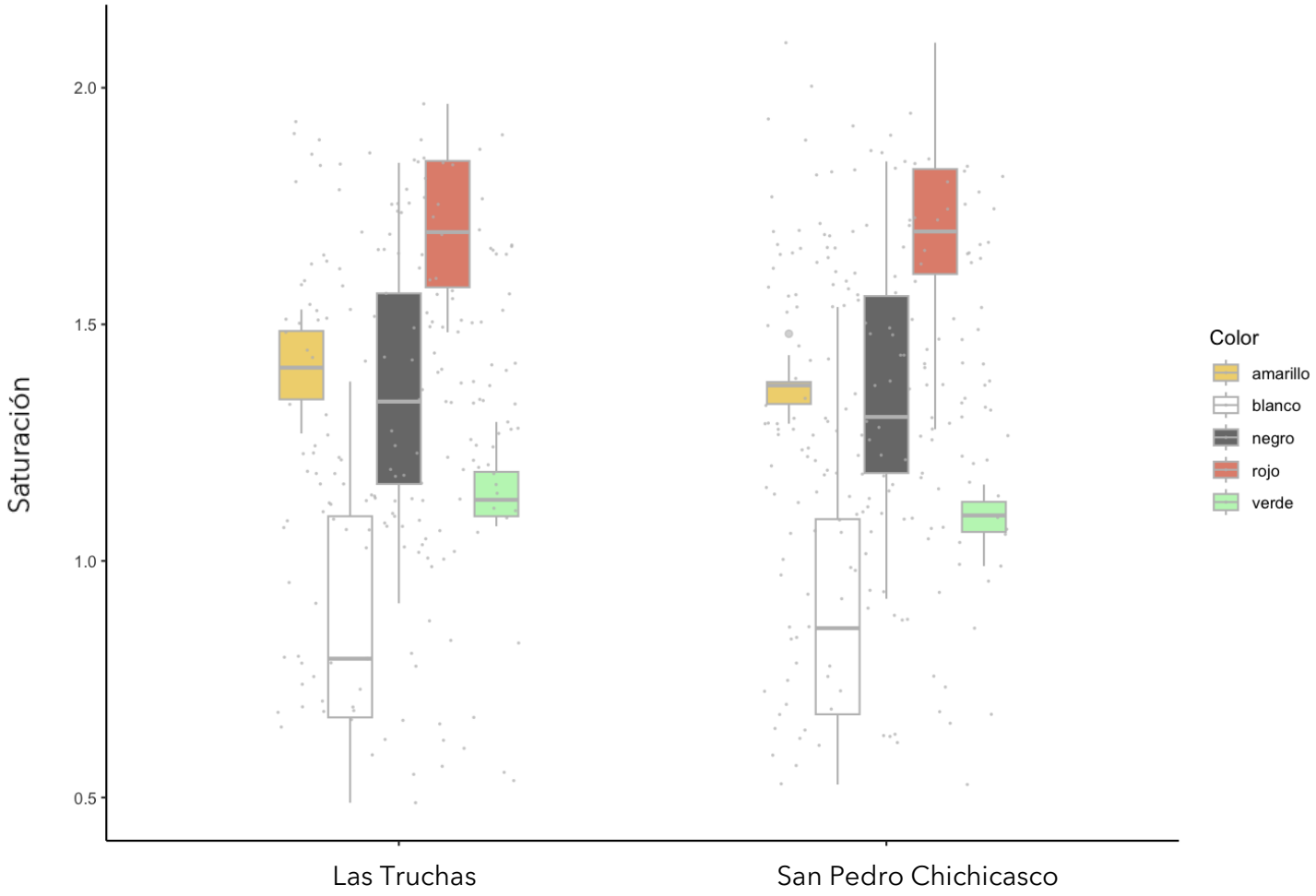


Figura 12. Efecto de la condición ambiental de los sitios San Pedro Chichicasco y Las Truchas en la saturación del color alar de las mariposas ninfálidas.

8 DISCUSIÓN

La coloración alar de las mariposas desempeña un papel importante en varios procesos a lo largo de su historia de vida. Su desarrollo y funcionalidad tienen una estrecha relación con las características bióticas y abióticas del hábitat, haciéndolo un rasgo susceptible a variaciones ante cambios ambientales. Derivado de estudios previos, se hipotetizó que, las variables que conforman la coloración alar (brillo, tono y saturación) serían susceptibles a variaciones en hábitats perturbados, debido a modificaciones antropogénicas en la comunidad vegetal y el ambiente térmico. No obstante, de acuerdo con nuestros resultados, las variables de brillo y saturación no mostraron diferencias significativas entre las mariposas del sitio perturbado (Las Truchas) y aquellas provenientes del sitio conservado (San Pedro Chichicasco). A pesar de las diferencias ambientales identificadas entre los sitios evaluados, los colores de las mariposas parecen mostrar una respuesta similar. Este hallazgo sugiere que otros factores, en nuestros sitios de estudio, podrían permitir el mantenimiento de los colores alares en las especies analizadas.

Determinar la relación entre la perturbación antropogénica y las características del hábitat representa un desafío, debido a los distintos factores ambientales correlacionados que moldean el hábitat, generando una dinámica compleja, en la que los cambios de una variable conducen a cambios en otras variables a lo largo del tiempo, como en el caso de factores climáticos (Alcaraz-Segura *et al.*, 2010; De *et al*., 2024; Turner & Gardner, 2015b). Además, en sitios sujetos a perturbaciones antropogénicas, las variaciones espaciales están vinculadas al tipo de modificación que se realizó, su intensidad y continuidad en el espacio, en conjunto con los elementos del hábitat, dando lugar a patrones espaciales diversos y complejos. Posteriormente estos patrones determinarán la condición de los elementos residuales en el hábitat, como parches de vegetación nativa o variedad de ambientes térmicos y su capacidad para proveer los recursos esenciales para los organismos que se mantienen en el sitio (Alcaraz-Segura *et al.*, 2010; Levanoni *et al*., 2011; Vega-Araya & Alvarado-Barrantes, 2019).

En nuestro estudio, el uso de técnicas de teledetección resultó ser una herramienta eficaz para analizar de forma precisa, económica y en un menor tiempo de procesamiento la condición ambiental general de un área geográfica grande y determinar sitios de estudio con base a criterios cuantitativos de la condición del hábitat. Su uso facilitó la obtención de variables biofísicas (NDVI, LAI y LST) relacionadas con el suministro de recursos relevantes para el desarrollo de la coloración alar, cuya dinámica y correlación puede variar significativamente a lo largo del tiempo y espacio, como es el caso del NDVI y el LAI los cuales usualmente se usan en conjunto para obtener información sobre

la cantidad de biomasa vegetal fotosintéticamente activa, que se traduce en vitalidad y productividad de un ecosistema (Levanoni, Vega-Araya & Alvarado Barrantes, 2019). Particularmente, ambos están relacionados con la disponibilidad de recursos hídricos y la variabilidad de la temperatura ambiental (De *et al*., 2024; Oltra-Carrió *et al*., 2010). Este enfoque representa el primer esfuerzo por caracterizar la condición ambiental del municipio de Malinalco utilizando esta metodología empleada.

La representación espacial del análisis de tendencia temporal mostró que Malinalco ha mantenido de forma general una condición ambiental estable. Para las variables de NDVI y LAI las tendencias espacio-temporales fueron positivas en el 45% de los pixeles analizados, mientras que las tendencias espaciales para la LST se mantuvieron sin cambios o con valores negativos en gran parte del territorio. Aunque en nuestro estudio no realizamos una correlación de series temporales para entender la interacción entre las variables analizadas, sí observamos un patrón de correlación similar entre las variables similar a lo que se ha descrito en otros trabajos (Oltra-Carrió *et al*., 2010). En particular, las zonas que incrementaron en el tiempo los valores de NDVI y LAI coincidieron con áreas cuyos valores de la LST fueron negativos o se mantuvieron sin cambios representativos. Estas áreas corresponden en su mayoría con superficie territorial de Malinalco que forma parte de las áreas naturales protegidas como el Parque Natural de Recreación Popular "Nahuatlaca-Matlazinca" y el Área Natural Protegida Tenancingo, Malinalco y Zumpahuacán. Por lo tanto, el uso de suelo con mayor importancia es el forestal, representando aproximadamente el 54% de su territorio de acuerdo con lo descrito en el Plan de Desarrollo Municipal de Malinalco (2019). En este sentido, la capacidad que tiene la vegetación para disipar el calor a través de la sombra que proporciona y una menor evapotranspiración, podrían estar contribuyendo a la estabilidad térmica en estas zonas (De *et al*., 2024; Oltra-Carrió *et al*., 2010).

No obstante, en el municipio persisten zonas puntuales sometidas a alta modificación antropogénica cuyos valores de NDVI y LAI disminuyeron significativamente coincidiendo con áreas de mayor densidad de población humana, actividades agrícolas intensivas y tendencias positivas en los valores de LST. Se ha documentado que, en áreas perturbadas, el aumento continuo de la temperatura se asocia a la perdida de cobertura vegetal y tendencias negativas de los valores de NDVI, lo que se denomina como "pardeamiento de la vegetación", posiblemente intensificado por el estrés hídrico derivado de la conversión de zonas boscosas a superficies impermeables (i.e zonas urbanas) derivando en un menor porcentaje de humedad ambiental y un clima progresivamente más cálido (De *et al*., 2024). La demanda turística de bienes raíces, en la mayoría de estas zonas, impulsa cambios de uso de suelo para la

construcción de condominios, resorts e incrementa la demanda de alimentos e insumos artesanales, intensificando prácticas como la tala selectiva o la agricultura de riego para cubrir la demanda. En este sentido, la conversión de áreas boscosas a superficies impermeables, como sucede con la urbanización, evita la amortiguación natural de la temperatura, ocasionando su aumento (Oltra-Carrió *et al*., 2010).

El sustento anterior junto con la base de datos generada a partir del análisis espacial a escala municipal y los resultados del análisis multicriterio, permitieron identificar la elección de sitios potenciales de estudio que cumplían con los criterios necesarios: presencia de mariposas ninfálidas (González-Valdivia *et al*., 2016; Hernández-Mejía *et al*., 2008; Pozo *et al*., 2008) y condiciones ambientales contrastantes. No obstante, observamos que las tendencias obtenidas tanto positivas como negativas de cada sitio no sólo pueden atribuirse a la dinámica ecológica y climática presente; también reflejan el efecto del contexto socioeconómico humano que impacta en el tipo de manejo, uso y cobertura de suelo. Al respecto, San Pedro Chichicasco ha mantenido una condición ambiental estable de acuerdo con los resultados de tendencia temporal cuyos valores fueron positivos observándose una mejora continua en su cobertura y productividad a lo largo del tiempo, acompañada de valores de temperatura estables. El sitio se caracteriza por estar rodeado de áreas extensas de selva baja caducifolia, bosque de táscate, escasos asentamiento humanos y zonas para la agricultura cuya extensión no se ha modificado, en gran medida por el tipo de manejo de los cultivos que no requieren una siembra constante, además de estar sujetos a la temporalidad climática: como el agave, el mango y el zapote blanco, por lo que el sitio se ha mantenido sin modificaciones importantes a lo largo del tiempo. Lo anterior ha permitido conservar una estratificación vegetal compleja, integrada tanto por los cultivos como por vegetación nativa, permitiendo gran heterogeneidad ambiental, así como una diversidad de ambientes térmicos, visuales y de plantas hospederas, utilizados por variedad de mariposas, con distintas necesidades ecológicas dependientes de su coloración. Además, el turismo de aventura y el ecoturismo practicado en los últimos años ha promovido la preservación de la estética natural y un impacto positivo en la conservación del entorno por parte de sus habitantes (Pavón, 2020).

En contraste, Las Truchas presentó una tendencia negativa constante desde los años 2004-2005 en todas las variables analizadas. Contrario al aumento inherente de temperatura que esperábamos ante la pérdida de cobertura vegetal y la urbanización en el sitio, la temperatura ha experimentado una disminución constante. Este resultado, a primera vista opuesto al tipo de relación que se esperaría en estas condiciones, podría explicarse por el tipo de

conformación, manejo, y el uso de suelo que se realiza del sitio, así como el desarrollo social y económico en Malinalco. En 1993 el establecimiento del Club de Golf Malinalco y la construcción de la carretera Malinalco-Toluca y Chalma-Malinalco permitió contar con una mayor accesibilidad, posteriormente, su incorporación al programa Pueblos Mágicos en el año 2010 debido a su gran riqueza cultural e histórica, intensifico la actividad turística y la llegada de población con mayores ingresos en busca de segundas residencias o para la construcción de condominios o fraccionamientos, como lo comenta Valverde (2017) procesos que paulatinamente han transformado la conformación espacial y el manejo de los recursos en el municipio. Entre los años 2007-2017, la demanda de alimentos se duplicó debido al crecimiento demográfico en el municipio (Plan de Desarrollo Municipal de Malinalco, 2019). Las zonas destinadas a la agricultura como Las Truchas no habían aumentado ni disminuido sus áreas de cultivo; sin embargo, las prácticas agrícolas sufrieron un cambio considerable, para cubrir la demanda de alimentos pasando de agricultura temporal a riego. Esta transición implicó una pérdida constante de la cobertura vegetal por la conversión constante del suelo, mayor desperdicio de agua y el uso intensivo de agroquímicos. Sin embargo, los parches de vegetación nativa y los caminos circundantes con hileras de árboles que persisten han impedido su extensión. Actualmente la zona está conformada por un mosaico que incluye áreas de cultivo, múltiples invernaderos, zonas residenciales con amplios jardines, centros acuáticos y parches de vegetación nativa circundados por el río San Miguel y manantiales. En este sentido, la presencia de agua superficial constante y la evapotranspiración de las plantas, favorece la productividad de biomasa vegetal, especialmente en áreas de cultivo, jardines e invernaderos, lo cual podría estar contribuyendo a disipar el calor, regular el microclima y poner a disponibilidad diferentes microhábitats. Una relación similar ha sido descrita por De y col. (2024) donde en regiones cuya topografía favorece la práctica agrícola, el suelo aluvial y la presencia constante de agua superficial ha provocado la disminución en los valores de LST. Por tanto, la dinámica de uso de suelo en Las Truchas puede ser responsable de tales relaciones.

En este sentido, si bien los cambios térmicos registrados en Las Truchas no fueron extremos (con una disminución aproximada de 0.5 °C por debajo del promedio anual en los últimos 20 años), resulta relevante considerar que incluso variaciones graduales podrían tener implicaciones biológicas a largo plazo. La mayoría de los estudios que reportan cambios en el brillo de las alas debido a procesos de melanización han sido realizados bajo condiciones experimentales extremas con tratamientos de choque térmico (Otaki & Yamamoto, 2004; Otaki, 2008). Nuestros resultados no arrojaron modificaciones por efecto de la temperatura, por tanto, es poco probable que un efecto evidente se manifieste a

corto plazo en los organismos de este hábitat. No obstante, existe evidencia de que la exposición continua a temperaturas frías, como las que podrían derivarse del cambio de distribución inducido por el calentamiento global, puede generar modificaciones en el patrón de coloración (Otaki *et al*., 2010). En consecuencia, sugerimos que un análisis retrospectivo empleando ejemplares almacenados en la colección entomológica de Malinalco podría ofrecer información valiosa sobre posibles cambios paulatinos en estas poblaciones.

Sitios con una estructura espacial homogénea tienden a simplificarse, lo que reduce la disponibilidad de recursos y favorece la expansión de las perturbaciones (Dalrymple *et al*., 2018; Turner & Gardner, 2015b) Sin embargo, el estado actual de Las Truchas parece mantener una estructura espacial compleja que permite la existencia de zonas de amortiguación ambiental frente a la perturbación. Aunque Las Truchas ha sufrido procesos de transformación, el mosaico resultante ha conservado cierta complejidad funcional semejante a la de San Pedro Chichicasco. Asimismo, observamos que su ubicación espacial en el análisis de tendencia muestra proximidad vecinal con zonas que presentan mejoras en cobertura y productividad vegetal. De acuerdo con el modelo de disturbio intermedio propuesto por Joseph Connell en 1978, los disturbios que permiten la recuperación secuencial de la vegetación, cuya intensidad y frecuencia son intermedias, favorecen una mayor variedad de especies en comparación con ambientes cuyos cambios son drásticos y continuos conduciendo a la desaparición de organismos. Por lo tanto, se puede asumir como lo sugieren González- Valdivia (2016) y Soga & Koike, (2012) que una conformación heterogénea que permite la existencia de microhábitats, ambientes térmicos, conectividad interna y movilidad de los organismos entre sus diferentes unidades en un paisaje antropizado, puede favorecer el desplazamiento de mariposas y favoreciendo su acceso a los recursos.

Lo anterior es particularmente importante ya que la respuesta de las mariposas ante los cambios puede ser muy variable dependiendo de las características ecofisiológicas, tolerancias y especificidad del hábitat, de cada especie (Whitworth *et al*., 2018; Forsberg *et al*., 2020). Por ejemplo, en términos taxonómicos, varios estudios evidencian el impacto negativo que ocasiona la modificación humana, disminuyendo significativamente la diversidad (González-Valdivia *et al*., 2016; Meléndez-Jaramillo *et al*., 2021; Soga & Koike, 2012), no obstante, también hay reportes con resultados opuestos (Forsberg *et al*., 2020; Whitworth *et al*., 2018) incluso en diferentes épocas del año (seca y lluviosa) en un mismo sitio (Hamer *et al*., 2005; Willott *et al*., 2000. La preferencia y especialización de sus requerimientos ecológicos tiene una profunda relación en su predisposición al cambio, así como su presencia o desaparición (Pin, 2007; Spaniol *et al*., 2019). Al respecto, en términos de especialización, se ha

descrito que la modificación del hábitat incluso puede beneficiar a especies de mariposas generalistas, pero afectar negativamente a las mariposas especializadas, las cuales tienden a desaparecer (Soga *et al*., 2015). Por ejemplo, la mariposa *Smyrna blomfildia* considerada como generalista de amplia y abundante presencia ha sido observada indistintamente en paisajes sometidos a la modificación humana conformados por matrices agropecuarias y bosque tropical secundario (González-Valdivia *et al*., 2016). Mientras que la mariposa *Archaeoprepona demophon* considerada como especie con requerimientos especialistas y bioindicadora de sitios conservados, se asocia estrictamente a sitios en penumbra del interior del bosque (Orta *et al*., 2022). En nuestro caso, ambas especies fueron observadas en las mismas condiciones respectivamente.

En el presente estudio no se incorporaron medidas de abundancia que pudieran darnos información sobre la dominancia de especies, debido a consideraciones éticas de colecta. No obstante, observamos qué a nivel taxonómico la composición de especies y grado de especialización es diferente en cada sitio. De las 38 especies identificadas, San Pedro Chichicasco presenta 31 *spp de* las cuales el 51% tienen presencia exclusiva en este sitio. En contraste con Las Truchas que presentó 22 *spp,* con apenas 30% de exclusividad. En San Pedro, varias especies exclusivas fueron observadas en microhábitats específicos donde los procesos fisiológicos y de señalización relacionados al color parecen ser más eficaces (González-Valdivia *et al*., 2016; Spaniol *et al*., 2020) como sucede con: *Archaeprepona demophon Myscelia ethusa y M. cyananthe* que fueron observadas en zonas rocosas, sombreadas y húmedas conformadas por una compleja estructura vegetal, donde su patrón ventral críptico les permite camuflarse con el entorno. La ausencia de estas especies en el sitio perturbado sugiere que este carece de los elementos necesarios para sostener su permanencia.

No obstante, un porcentaje importante de las especies identificadas e incluidas en el análisis de color (39%) como: *Agraulis vanillae, Cholsyne janais, Dione juno, D. gilippus, Dryas julia, Heliconius charithonia, Morpho polyphemus, Siproeta stelenes y Smyrna blomfildia*, estuvieron presentes indistintamente en ambos sitios. Al respecto, Orta (2022) menciona que una especie puede encontrarse en ambientes contrastantes ambientalmente siempre que se mantengan los recursos esenciales para su nicho ecológico, como características climáticas, presencia de plantas hospederas, temperatura, humedad o remanentes de hábitat conservado o perturbado. Por ejemplo, especies con patrones de color predominantemente negros (i.e *Heliconius charithonia, Siproeta stelenes* y *Smyrna blomfildia)* prevalecían en zonas de penumbra del dosel, mientras que aquellas con colores más claros rojos y cafés (i.e *Anthanassa nebulosa, Danaus gilippus* y *Junonia coenia*) se mantenían en áreas abiertas, como claros de

bosque, cultivos, pastizal o sobre los caminos. Estas características ambientales estuvieron presentes en ambos sitios, y coinciden con lo reportado en la literatura sobre requerimientos ambientales de las especies (De la Maza & Soberón, 1998; González-Valdivia *et al*., 2016; Spaniol *et al*., 2020). Al analizar el grado de especialización de dichas especies, son consideradas en su mayoría generalistas que suelen adaptarse fácilmente a los cambios gracias a su tolerancia ecológica.

Estas observaciones son particularmente importantes ya que varios autores (Attiwilli *et al*., 2021; Pin, 2007; Spaniol *et al*., 2019; Vandewalle *et al*., 2010), señalan que la respuesta de los organismos al cambio es la consecuencia de cómo los rasgos funcionales de cada especie les permiten adaptarse y responder a los factores bióticos y abióticos después de la perturbación. La preferencia y especialización de sus requerimientos ecológicos tiene una profunda relación en su predisposición al cambio, así como su presencia o desaparición (Pin, 2007; Spaniol *et al*., 2019). Esta respuesta puede ser detectada a través de características funcionales de los organismos (ej. en aspectos morfológicos, fisiológicos o conductuales), los cuales dependen en gran medida de las necesidades ecológicas de cada especie en relación con el ambiente en el que se han desarrollado y adaptado (Vandewalle *et al*., 2010).

Las mariposas incluidas en el análisis de color mostraron una amplia diversidad en las propiedades del color en sus alas sin un patrón de coloración común que permitiera agruparlas y asociarlas con funciones específicas, como estrategias antidepredatorias o señales sexuales, como lo sugiere Pin (2007) y Spaniol (2019). Esta observación contrasta con el estudio de Spaniol (2020) donde todas las especies compartían patrones de color destinados a la señalización antidepredatoria y cuya presencia mantuvo una tendencia constante en áreas muy delimitadas con características específicas que beneficiaba la funcionalidad de la señal (i.e el camuflaje fue la estrategia predominante en áreas abiertas de sucesión temprana) relacionándose a su vez con las variaciones colorimétricas detectadas. En dicho estudio, la predominancia de estos patrones alares refleja una adaptación compartida para la supervivencia, en un ecosistema abundante en depredadores donde las variaciones de luz y color de fondo otorgados por la compleja estructura vegetal de la selva son determinantes para la transmisión y percepción de la señal (Dalrymple *et al*., 2018; Delhey & Peters, 2017; Koneru & Caro, 2020). Por consiguiente, el color es una característica que puede estar recibiendo mayores presiones por la alteración de la cubierta vegetal. Es probable que nuestras especies no estén sujetas a las mismas presiones selectivas observadas en el estudio de Spaniol (2020), ya que la diversidad en los patrones de coloración sugiere una menor dependencia hacia estrategias de señalización antidepredatoria. Ninguna de las variables analizadas presentó

cambios significativos entre los grupos de color al compararlas entre sitios, tampoco dentro de las mismas especies, ya que la proporción de variabilidad explicada fue escasa (ver apéndice tabla 8 y 9).

Los resultados obtenidos podrían estar relacionados con la heterogeneidad estructural de los sitios de estudio y con el grado de especialización en el uso de recursos por parte de las mariposas presentes. La capacidad de estos organismos para aprovechar los recursos disponibles depende en gran medida de su estrecha relación con las plantas hospederas. Varios autores (Orta et al., 2022; Soga *et al.,* 2015; Szyszko-Pogórska *et al*., 2023) destacan que la alimentación es un factor determinante en la especialización, ya que muchas mariposas dependen estrictamente de ciertas plantas para completar su desarrollo. Asimismo, la disponibilidad de pigmentos derivados de estas plantas representa una limitación para la expresión óptima de la coloración alar (Dalrymple *et al*., 2018; Johnson *et al*., 2014).

En las especies analizadas se registró un predominio de mariposas polífagas y oligófagas, que se alimentan de diversas plantas de una o de distintas familias y suelen considerarse especies generalistas (Orta *et al*., 2022; Vargas-Fernández *et al*., 1999). En el sitio Las Truchas, estas especies representaron el 59 % del total identificado (Tabla 5). Este patrón sugiere que, a pesar de la reducción en la cobertura vegetal observada en el sitio (figura 9 a y b), la conformación del paisaje, el uso del suelo y el manejo del área podrían estar favoreciendo la conservación de parches de vegetación con características similares a las de San Pedro Chichicasco, que funcionan como zonas de compensación ecológica. El sitio está integrado por parches de vegetación nativa, corredores de vegetación natural circundantes a los balnearios, invernaderos con plantas ornamentales y viviendas con jardines abundantes en plantas nectaríferas y hospederas que se conectan entre sí. Estos remanentes podrían estar proporcionando el suministro de nutrientes y pigmentos necesarios en la expresión de la coloración alar, permitiendo así su permanencia en el sitio.

Es importante resaltar que los momentos cruciales para el desarrollo del color alar, acontecen en fases del ciclo de vida con poca o nula movilidad (larva y pupa) (Johnson *et al*., 2014; Van Der Burg & Red, 2021), por lo que la falta de variación en el color alar difícilmente se deba a la permeabilidad de especies entre los sitios que permitiera ocupar los mismos recursos, si el desarrollo del color ocurre antes de la etapa adulta donde hay dispersión. Se procuró que la distancia entre sitios fuese lo suficientemente grande (10 km) para minimizar el efecto de la dispersión de especies (Soga *et al*., 2015; Torres-Martínez, 2021) y no se incluyeron especies con hábitos migratorios cuya distribución es muy amplia como es el caso de *Anaea troglodyta, Danaus plexippus y Euptoieta hegesia* (Orta *et al*., 2022).

Nuestros hallazgos respaldan el beneficio de mantener la heterogeneidad en el hábitat, en áreas sometidas a la modificación humana. Una gestión diversificada, con un manejo moderado y conectividad entre sus distintas áreas, puede sustentar (en términos taxonómicos) una variedad de especies (Soga & Koike, 2012). En este sentido, se destaca que incluso un sitio perturbado, puede albergar una composición rica en especies y proveer los recursos ambientales necesarios para que las mariposas desarrollen adecuadamente su coloración alar. Esta condición sugiere que, mientras la perturbación no sobrepase ciertos umbrales críticos, puede mantenerse la funcionalidad del hábitat, al mantener la variabilidad de microhábitats, el suministro de nutrientes, la disponibilidad de plantas hospederas que son, importantes para la expresión de los rasgos fenotípicos. La relación rasgo-ambiente observada, sugiere el dominio de especies generalistas en ambientes perturbados, debido su capacidad para utilizar una amplia variedad de recursos. Esta adaptabilidad les permite prosperar en áreas con factores climáticos variables y facilita la adquisición de nutrientes necesarios para el desarrollo de la coloración, incluso en condiciones de estrés ambiental. Esto podría explicar su dominancia en ambos sitios y la falta de variación en su coloración alar. Al respecto, algunos autores consideran que el incremento de la perturbación ambiental beneficia a las especies generalistas al registrar su aumento a medida que el hábitat se modifica (Molina-Martínez & León-Cortés, 2006; Orta *et al*., 2022; Soga & Koike, 2015; Szyszko-Pogórska *et al*., 2023). Al parecer, estas características funcionan como un filtro ecológico, seleccionando especies con mayor plasticidad ecológica que pueden sobrevivir y adaptarse a los cambios en el entorno. Consideramos que la incorporación de otras variables funcionales, como la longitud alar y la biomasa, en un análisis posterior podría indicar la estabilidad del hábitat o alternativas para identificar nuevas fuentes de variación (Pignataro *et al*., 2023; Spaniol *et al*., 2019). Destacamos que la inclusión de variables funcionales, como el color y la información que aportan las técnicas de teledetección, informan no sólo sobre si la estructura y condición del hábitat mantiene una composición taxonómica estable, sino también si es funcional para los requerimientos de los organismos, convirtiéndose en una herramienta eficaz en el área de la conservación, coadyuvando con la detección de la representatividad del hábitat para los organismos.

Finalmente, es importante mencionar algunas consideraciones metodológicas que pudieran enriquecer y ampliar en un futuro el conocimiento para nuestro modelo de estudio. Ya que varias especies tenían presencia escasa en los sitios, no se incluyeron todas las especies identificadas debido a dos factores principales: la especialización de sustratos y el gremio alimentario, limitando con ello su localización y colecta. La eficacia de las técnicas de colecta varió entre los sitios, debido a la preferencia del gremio alimentario. Las trampas de cebo

funcionaron mejor en San Pedro Chichicasco por su preferencia hacia una dieta acimófaga, mientras que, en Las Truchas, las redes fueron más eficaces por su preferencia nectarívora. Estas consideraciones metodológicas no fueron descritas anteriormente para México en bosques tropicales hasta el trabajo de Orta en el 2022. Por lo tanto, sugerimos que próximos estudios que contemplen al color como variable, o incluso análisis de riqueza y diversidad, incluyan una metodología de captura adecuada que garantice la incorporación de todo el conjunto de especies.

En cuanto al uso de técnicas de teledetección, al trabajar con mariposas, la información sobre elementos importantes de su nicho ecológico requiere de una alta capacidad de resolución espacial y espectral para clasificar y detectar con precisión los elementos del entorno. Bajas resoluciones propician que los datos de reflectancia se mezclen y se promedien como parte del agrupamiento espacial, comprometiendo la clasificación de los datos (Essens & Hernández-Stefanoni, 2013; Levanoni *et al*., 2011). Por tanto, sugerimos que en trabajos futuros la resolución satelital empleada permita mayor capacidad de penetración para detectar la heterogeneidad u homogeneidad espacial presente.

9 CONCLUSIONES

- Las condiciones ambientales del hábitat de San Pedro Chichicasco y Las Truchas no tuvieron un efecto significativo en las características que conforman el color en las mariposas ninfálidas analizadas.
- El tipo de conformación del hábitat y el manejo diversificado que se realiza en el sitio perturbado (Las Truchas), permite el mantenimiento de microhábitats con condiciones microclimáticas y recursos similares a los observados en el sitio conservado (San Pedro Chichicasco), los cuales pueden ser utilizados por especies con requerimientos generalistas, cuya capacidad de ocupar distintos sustratos, fuentes de alimento y mayor tolerancia ecológica, les permite subsistir en ambientes modificados y el desarrollo óptimo de su color.
- Dentro de las especies estudiadas y compartidas entre los sitios hubo un claro predominio por organismos generalistas de acuerdo con su especificidad alimentaria, lo que explicaría la falta de variación en los valores de brillo y saturación para ambos sitios.
- El tipo de conformación y manejo de un hábitat sometido a estrés ambiental determina su capacidad para ofrecer recursos y es por lo tanto, un factor clave para la estabilidad del desarrollo del color en las poblaciones de mariposas.
- El color es uno de muchos rasgos que pueden ser susceptibles a cambios ambientales; sin embargo, nuestros resultados resaltan la importancia de conservar espacios de vegetación nativa dentro de hábitats sometidos a la modificación humana, que funcionen como áreas de amortiguación ecológica y brinden disponibilidad de recursos necesarios para el desarrollo del color de las especies presentes.

10 REFERENCIAS

Aguilera-Gómez, L., & Rivas-Manzano, I. V. (2006). Vegetación y flora de Malinalco y su región. In *Malinalco y sus contornos a traves de los tiempos* (pp. 25–34).

Alcaraz-Segura, D., Chuvieco, E., Epstein, H. E., Kasischke, E. S., & Trishchenko, A. (2010). Debating the greening vs. browning of the North American boreal forest: Differences between satellite datasets. *Global Change Biology*, *16*(2), 760–770. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.01956.x

Andrade-C, M. G. (1998). Utilización De Las Mariposas Como Bioindicadoras Del Tipo de Habitat y Su Biodiversidad. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.*, *22(84)*(0370–3908), 407–421.

Badejo, O., Skaldina, O., Gilev, A., & Sorvari, J. (2020). Benefits of insect colours: a review from social insect studies. *Oecologia*, *194*(1–2), 27–40. https://doi.org/10.1007/s00442-020-04738-1

Bravo Peña, L. C., Castellanos Villegas, A., Alatorre Cejudo, L. C., & Torres Olave, M. E. (2013). Tendencias temporales del Índice Mejorado de la Vegetación (EVI) en cinco coberturas naturales del Occidente, Norte Y Noroeste de México durante el periodo 2000-2013. *Laboratorio Nacional de Geoprocesamiento de Información Fitosanitaria (Langif.Uaslp.Mx)*, *January*, 1–6. http://langif.uaslp.mx/selper/documentos/CD_SELPER_2013/MEMORIAS_SELPER_PDF/Monitoreo/ID_015.pdf

Cannarozzo, M., Noto, L. V., & Viola, F. (2006). Spatial distribution of rainfall trends in Sicily (1921-2000). *Physics and Chemistry of the Earth*, *31*(18), 1201–1211. https://doi.org/10.1016/j.pce.2006.03.022

Cardoso, P., Barton, P. S., Birkhofer, K., Chichorro, F., Deacon, C., Fartmann, T., Fukushima, C. S., Gaigher, R., Habel, J. C., Hallmann, C. A., Hill, M. J., Hochkirch, A., Kwak, M. L., Mammola, S., Ari Noriega, J., Orfinger, A. B., Pedraza, F., Pryke, J. S., Roque, F. O., … Samways, M. J. (2020). Scientists' warning to humanity on insect extinctions. *Biological Conservation*, *242*(February). https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108426

Caro, T., Sherratt, T. N., & Stevens, M. (2016). The ecology of multiple colour defences. *Evolutionary Ecology*, *30*(5), 797–809. https://doi.org/10.1007/s10682-016-9854-3

Checa, M. F., Donoso, D. A., Rodriguez, J., Levy, E., Warren, A., & Willmott, K. (2019). Combining sampling techniques aids monitoring of tropical butterflies. *Insect Conservation and Diversity*, *12*(4), 362–372. https://doi.org/10.1111/icad.12328

Clusella-Trullas, S., & Nielsen, M. (2020). The evolution of insect body coloration under changing climates. *Current Opinion in Insect Science*, *41*, 25–32. https://doi.org/10.1016/j.cois.2020.05.007

Côte, J., Boniface, A., Blanchet, S., Hendry, A. P., Gasparini, J., & Jacquin, L. (2018). Melanin-based coloration and host–parasite interactions under global change. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *285*(1879). https://doi.org/10.1098/rspb.2018.0285

Cruz, D. D. C., Curbelo, E. A., Ferrer, Y., & Ávila, D. D. (2020). Variaciones espaciales y temporales en el Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada en Cuba. *Ecosistemas*, *29*(1), 1–12. http://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/1885

Cuthill, I. C., Allen, W. L., Arbuckle, K., Caspers, B., Chaplin, G., Hauber, M. E., Hill, G. E., Jablonski, N. G., Jiggins, C. D., Kelber, A., Mappes, J., Marshall, J., Merrill, R., Osorio, D., Prum, R., Roberts, N. W., Roulin, A., Rowland, H. M., Sherratt, T. N., … Caro, T. (2017). The biology of color. *Science*, *357*(6350). https://doi.org/10.1126/science.aan0221

Dalrymple, R. L., Flores-Moreno, H., Kemp, D. J., White, T. E., Laffan, S. W., Hemmings, F. A., Hitchcock, T. D., & Moles, A. T. (2018). Abiotic and biotic predictors of macroecological patterns in bird and butterfly coloration. *Ecological Monographs*, *88*(2), 204–224. https://doi.org/10.1002/ecm.1287

Davis, A. K. (2014). Intraspecific variation in wing colour is related to larval energy reserves in monarch butterflies (Danaus plexippus). *Physiological Entomology*, *39*(3), 247–253. https://doi.org/10.1111/phen.12069

Davis, A. K., Herkenhoff, B., Vu, C., Barriga, P. A., & Hassanalian, M. (2023). How the monarch got its spots: Long-distance migration selects for larger white spots on monarch butterfly wings. *PLoS ONE*, *18*(6 June), 1–18. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0286921

Davis, A. K., Smith, F. M., & Ballew, A. M. (2020). A poor substitute for the real thing: Captive-reared monarch butterflies are weaker, paler and have less elongated wings than wild migrants. *Biology Letters*, *16*(4). https://doi.org/10.1098/rsbl.2019.0922

De, A., Sahani, N., Datta, A., & Maitra, A. (2024). Spatiotemporal analysis of different vegetation indices and relation to meteorological parameters over a tropical urban location and its surroundings. *Atmosfera*, *38*, 911–934. https://doi.org/10.20937/ATM.53297

De La Maza, R., & Soberón, J. (1998). Morphological grouping of Mexican butterflies in relation to habitat association. *Biodiversity and Conservation*, *7*(7), 927–944. https://doi.org/10.1023/A:1008877304630

Delhey, K., & Peters, A. (2017). Conservation implications of anthropogenic impacts on visual communication and camouflage. *Conservation Biology*, *31*(1), 30–39. https://doi.org/10.1111/cobi.12834

Dell'aglio, D. D., Stevens, M., & Jiggins, C. D. (2016). Avoidance of an aposematically coloured butterfly by wild birds in a tropical forest. *Ecological Entomology*, *41*(5), 627–632. https://doi.org/10.1111/een.12335

Dell'Aglio, D. D., Troscianko, J., McMillan, W. O., Stevens, M., & Jiggins, C. D. (2018). The appearance of mimetic Heliconius butterflies to predators and conspecifics. *Evolution*, *72*(10), 2156–2166. https://doi.org/10.1111/evo.13583

Dubovskiy, I. M., Whitten, M. M. A., Kryukov, V. Y., Yaroslavtseva, O. N., Grizanova, E. V., Greig, C., Mukherjee, K., Vilcinskas, A., Mitkovets, P. V., Glupov, V. V., & Butt, T. M. (2013). More than a colour change: Insect melanism, disease resistance and fecundity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *280*(1763). https://doi.org/10.1098/rspb.2013.0584

Ellers, J., & Boggs, C. L. (2003). The evolution of wing color: Male mate choice opposes adaptive wing color divergence in Colias butterflies. *Evolution*, *57*(5), 1100–1106. https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00319.x

Ellers, J., & Boggs, C. L. (2004). Functional ecological implications of intraspecific differences in wing melanization in Colias butterflies. *Biological Journal of the Linnean Society*, *82*(1), 79–87. https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2004.00319.x

Endler, J. A. (1990). On the measurement and classification of colour in studies of animal colour patterns. *Biological Journal of the Linnean Society*, *41*(4), 315–352. https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1990.tb00839.x

Endler, J. A. (1993). The color of ligth in forest and its implications. *Source: Ecological Monographs*, *63*(1), 1–27.

Essens, T., & Hernández-Stefanoni, J. L. (2013). Mapping Lepidoptera and plant alpha-diversity across a heterogeneous tropical dry forest using field and remotely sensed data with spatial interpolation. *Journal of Insect Conservation*, *17*(4), 725–736. https://doi.org/10.1007/s10841-013-9556-x

Fahrig, L. (2013). Rethinking patch size and isolation effects: The habitat amount hypothesis. *Journal of Biogeography*, *40*(9), 1649–1663. https://doi.org/10.1111/jbi.12130

Figon, F., & Casas, J. (2018). Morphological and Physiological Colour Changes in the Animal Kingdom. *Encyclopedia of Life Sciences*, *August*, 1–11. https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0028065

Forsberg, F., Barfod, A. S., Francisco, A. J., & Ribeiro, M. C. (2020). Fruit feeding

butterflies as indicator taxon, pitfalls and concerns demonstrated in the Atlantic Forest. *Ecological Indicators*, *111*(June 2019), 105986. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105986

Freitas, L., André, V., Agra, I., Cristiano, P. S., Oliveira Carreira, Jessie, J. Y., Bandini Ribeiro, D., Alves Melo, D. H., Batista Rosa, A. H., Marini-Filho, O. J., Mattos Accacio, G., & Uehara-Prado, M. (2014). Studies with butterfly bait traps: An overview. *Revista Colombiana de Entomología*, *40*(2), 203–212.

García Condado, S. (2016). *Generación de Variables Medioambientales mediantes Interpolación GIS* (Issue August). Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes.

Giner, C., Martínez, B., Gilabert, M. A., & Alcaraz-Segura, D. (2012). Trends in vegetation greenness and gross primary production in Spain (2000-2009) | Tendencias en el verdor de la vegetación y en la producción primaria bruta de las áreas forestales en la España peninsular (2000-2009). *Revista de Teledeteccion*, *38*, 51–64.

Gonzales, D., Hempel de Ibarra, N., & Anderson, K. (2022). Remote Sensing of Floral Resources for Pollinators – New Horizons From Satellites to Drones. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *10*(May), 1–16. https://doi.org/10.3389/fevo.2022.869751

González-Valdivia, N. A., Pozo, C., Ochoa-Gaona, S., Ferguson, B. G., Cambranis, E., Lara, O., Pérez-Hernández, I., Ponce-Mendoza, A., & Kampichler, C. (2016). Nymphalidae frugívoras (Lepidoptera: Papilionoidea) asociadas a un ecomosaico agropecuario y de bosque tropical lluvioso en un paisaje del sureste de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, *87*(2), 451–464. https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.04.003

Greenspoon, P. B., & Spencer, H. G. (2021). Avoiding extinction under nonlinear environmental change: models of evolutionary rescue with plasticity. *Biology Letters*, *17*(12). https://doi.org/10.1098/rsbl.2021.0459

Grunst, M. L., Grunst, A. S., Pinxten, R., Bervoets, L., & Eens, M. (2020). Carotenoid- but not melanin-based plumage coloration is negatively related to metal exposure and proximity to the road in an urban songbird. *Environmental Pollution*, *256*, 113473. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113473

Hambler, C., Henderson, P. A., & Speight, M. R. (2011). Extinction rates, extinction-prone habitats, and indicator groups in Britain and at larger scales. *Biological Conservation*, *144*(2), 713–721. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2010.09.004

Hart, S. J., & Veblen, T. T. (2015). Detection of spruce beetle-induced tree mortality using high- and medium-resolution remotely sensed imagery. *Remote Sensing of Environment*, *168*, 134–145.

https://doi.org/10.1016/j.rse.2015.06.015

Hernández-Mejía, C., Vargas-Fernández, I., Luis-Martínez, A., & Llorente-Bousquets, J. (2008). Distribución de las mariposas diurnas (Lepidoptera: Hesperioidea y papilionoidea) del estado de méxico, México. *Revista de Biologia Tropical*, *56*(3), 1309–1341. https://doi.org/10.15517/rbt.v56i3.5712

Hulley, G. C., Ghent, D., Göttsche, F. M., Guillevic, P. C., Mildrexler, D. J., & Coll, C. (2019). Land Surface Temperature. In *Taking the Temperature of the Earth*. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814458-9.00003-4

INEGI. (2009). *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos Tlaquiltenango , Morelos Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos*.

Iwata, M., Ohno, Y., & Otaki, J. M. (2014). Real-time in vivo imaging of butterfly wing development: Revealing the cellular dynamics of the pupal wing tissue. *PLoS ONE*, *9*(2). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089500

Johnson, H., Solensky, M. J., Satterfield, D. A., & Davis, A. K. (2014). Does skipping a meal matter to a butterfly's appearance? Effects of larval food stress on wing morphology and color in monarch butterflies. *PLoS ONE*, *9*(4), 1–9. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093492

Kemp, D. J., & Rutowski, R. L. (2011). The Role of Coloration in Mate Choice and Sexual Interactions in Butterflies. In *Advances in the Study of Behavior* (1st ed., Vol. 43). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380896-7.00002-2

Kerr, J. T., Southwood, T. R. E., & Cihlar, J. (2001). Remotely sensed habitat diversity predicts butterfly species richness and community similarity in Canada. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*(20), 11365–11370. https://doi.org/10.1073/pnas.201398398

Koneru, M., & Caro, T. (2022). Animal Coloration in the Anthropocene. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *10*(April), 1–18. https://doi.org/10.3389/fevo.2022.857317

Kotze, D. J., Lowe, E. C., MacIvor, J. S., Ossola, A., Norton, B. A., Hochuli, D. F., Mata, L., Moretti, M., Gagné, S. A., Handa, I. T., Jones, T. M., Threlfall, C. G., & Hahs, A. K. (2022). Urban forest invertebrates: how they shape and respond to the urban environment. *Urban Ecosystems*, *25*(6), 1589–1609. https://doi.org/10.1007/s11252-022-01240-9

Lassau, S. A., & Hochuli, D. F. (2008). Testing predictions of beetle community patterns derived empirically using remote sensing. *Diversity and Distributions*, *14*(1), 138–147. https://doi.org/10.1111/j.1472-

4642.2007.00438.x

Levanoni, O., Levin, N., Pe'er, G., Turbé, A., & Kark, S. (2011). Can we predict butterfly diversity along an elevation gradient from space? *Ecography*, *34*(3), 372–383. https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2010.06460.x

Llorente-Bousquets, J., Vargas-Fernández, I., Luis-Martínez, A., Trujano-Ortega, M., Hernández-Mejía, B. C., & Warren, A. D. (2014). Biodiversity of lepidoptera in Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, *85*(SUPPL.). https://doi.org/10.7550/rmb.31830

Luoto, M., Kuussaari, M., & Toivonen, T. (2002). Modelling butterfly distribution based on remote sensing data. *Journal of Biogeography*, *29*(8), 1027–1037.

Maia, R., Eliason, C. M., Bitton, P., Doucet, M., & Matthew, D. (2013). Organization of Spectral Data. *Methods in Ecology and Evolution*, *4*, 906–913. https://doi.org/10.1111/2041-210X.1206

Manson, R., & Jardel, P. E. (2009). Perturbaciones y desastres naturales: impactos sobre las ecorregiones, la biodiversidad y el bienestar socioeconómico. In *Conabio: Vol. II* (pp. 131–184).

Martínez-De La Cruz, I., Vibrans, H., Lozada-Pérez, L., Romero-Manzanares, A., Aguilera-Gómez, L. I., & Rivas-Manzano, I. V. (2015). Plantas ruderales del área urbana de Malinalco, estado de México, México. *Botanical Sciences*, *93*(4), 907–919. https://doi.org/10.17129/botsci.213

Meadows, M. G., Roudybush, T. E., & McGraw, K. J. (2012). Dietary protein level affects iridescent coloration in Anna's hummingbirds, Calypte anna. *Journal of Experimental Biology*, *215*(16), 2742–2750. https://doi.org/10.1242/jeb.069351

Meléndez-Jaramillo, E., Cantú-Ayala, C. M., Treviño-Garza, E. J., Sánchez-Reyes, U. J., & Herrera-Fernández, B. (2021). Composition and diversity of butterflies (Lepidoptera, papilionoidea) along an atmospheric pollution gradient in the monterrey metropolitan area, mexico. *ZooKeys*, *2021*(1037), 73–103. https://doi.org/10.3897/zookeys.1037.66001

Merilaita, S., Scott-Samuel, N. E., & Cuthill, I. C. (2017). How camouflage works. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *372*(1724). https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0341

Molina-Martínez, A., & León-Cortés, J. L. (2006). Movilidad y especialización ecológica como variables que afectan la abundancia y distribución de lepidópteros papilionidos en el sumidero, Chiapas, México. *Acta Zoológica Mexicana (N.S.)*, *22*(3), 29–52. https://doi.org/10.21829/azm.2006.2232022

Montgomerie, R. (2006). Analyzing colors. In *Bird coloration* (Vol. 1, pp. 90–147).

Nagendra, H., Lucas, R., Honrado, J. P., Jongman, R. H. G., Tarantino, C., Adamo,

M., & Mairota, P. (2013). Remote sensing for conservation monitoring: Assessing protected areas, habitat extent, habitat condition, species diversity, and threats. *Ecological Indicators*, *33*, 45–59. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.09.014

Nightingale, J. M., Esaias, W. E., Wolfe, R. E., Nickeson, J. E., & Ma, P. L. A. (2008). Assessing honey bee equilibrium range and forage supply using satelite-derived phenology. *International Geoscience and Remote Sensing Symposium (IGARSS)*, *3*(1), 1–4. https://doi.org/10.1109/IGARSS.2008.4779460

Orta, C. S., Reyes-agüero, J. A., Luis-Martínez, M. A., Muñoz-Robles, C. A., & Méndez C, H. (2022). *Mariposas bioindicadoras ecológicas en México . Artículo de revisión Ecological bioindicator butterflies in Mexico . Review article*. 1–33.

Otaki, J. M. (2008). Physiologically induced color-pattern changes in butterfly wings: Mechanistic and evolutionary implications. *Journal of Insect Physiology*, *54*(7), 1099–1112. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2008.05.006

Otaki, J. M., & Yamamoto, H. (2004). Species-specific color-pattern modifications of butterfly wings. *Development Growth and Differentiation*, *46*(1), 1–14. https://doi.org/10.1111/j.1440-169X.2004.00721.x

Peneaux, C., Hansbro, P. M., & Griffin, A. S. (2021). The potential utility of carotenoid-based coloration as a biomonitor of environmental change. *Ibis*, *163*(1), 20–37. https://doi.org/10.1111/ibi.12866

Pinheiro, C. E. G., Freitas, A. V. L., Campos, V. C., DeVries, P. J., & Penz, C. M. (2016). Both Palatable and Unpalatable Butterflies Use Bright Colors to Signal Difficulty of Capture to Predators. *Neotropical Entomology*, *45*(2), 107–113. https://doi.org/10.1007/s13744-015-0359-5

Pisek, J., & Chen, J. M. (2007). Comparison and validation of MODIS and VEGETATION global LAI products over four BigFoot sites in North America. *Remote Sensing of Environment*, *109*(1), 81–94. https://doi.org/10.1016/j.rse.2006.12.004

Pöyry, J., Böttcher, K., Fronzek, S., Gobron, N., Leinonen, R., Metsämäki, S., & Virkkala, R. (2018). Predictive power of remote sensing versus temperature-derived variables in modelling phenology of herbivorous insects. *Remote Sensing in Ecology and Conservation*, *4*(2), 113–126. https://doi.org/10.1002/rse2.56

Pozo, C., Luis-Martínez, A., Llorente-Bousquets, J., Salas-Suárez, N., Maya-Martínez, A., Vargas-Fernández, I., & Warren, A. D. (2008). Seasonality and phenology of the butterflies (Lepidoptera: Papilionoidea and Hesperioidea) of Mexico's Calakmul Region. *Florida Entomologist*, *91*(3), 407–422.

https://doi.org/10.1653/0015-4040(2008)91[407:SAPOTB]2.0.CO;2

Rhodes, M. W., Bennie, H. J., Spalding, A., Ffrench-Constant, R. H., & D., M. I. M. (2021). Recent advances in the remote sensing of insects. *Biological Reviews*, *97*(1), 343–360. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/brv.12802

Rossato, D. O., Kaminski, L. A., Iserhard, C. A., & Duarte, L. (2018). More Than Colours: An Eco-Evolutionary Framework for Wing Shape Diversity in Butterflies. In *Advances in Insect Physiology* (1st ed., Vol. 54). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/bs.aiip.2017.11.003

Rzedowski, J. (2006). Vegetación de México. 1ra. Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. In *Taxon* (Vol. 31, Issue 4). http://www.jstor.org/stable/1219727?origin=crossref

Sánchez-Bayo, F., & Wyckhuys, K. A. G. (2019). Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers. *Biological Conservation*, *232*(September 2018), 8–27. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.01.020

Schirmer, S. C., Gawryszewski, F. M., Cardoso, M. Z., & Pessoa, D. M. A. (2023). Melanism and color saturation of butterfly assemblages: A comparison between a tropical rainforest and a xeric white forest. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *11*. https://doi.org/10.3389/fevo.2023.932755

Senf, C., Seidl, R., & Hostert, P. (2017). Remote sensing of forest insect disturbances: Current state and future directions. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, *60*(April), 49–60. https://doi.org/10.1016/j.jag.2017.04.004

Shawkey, M. D., Morehouse, N. I., & Vukusic, P. (2009). A protean palette: Colour materials and mixing in birds and butterflies. *Journal of the Royal Society Interface*, *6*(SUPPL. 2). https://doi.org/10.1098/rsif.2008.0459.focus

Soga, M., Kawahara, T., Fukuyama, K., Sayama, K., Kato, T., Shimomura, M., Itoh, T., Yoshida, T., & Ozaki, K. (2015). Landscape versus local factors shaping butterfly communities in fragmented landscapes: Does host plant diversity matter? *Journal of Insect Conservation*, *19*(4), 781–790. https://doi.org/10.1007/s10841-015-9799-9

Soga, M., & Koike, S. (2012). Relative Importance of Quantity, Quality and Isolation of Patches for Butterfly Diversity in Fragmented Urban Forests. *Ecological Research*, *27*(2), 265–271. https://doi.org/10.1007/s11284-011-0896-2

Sotelo Ruíz, E. D., González Hernández, A., Cruz Bello, G., Moreno Sánchez, F., & Cruz Cárdenas, G. (2019). Los Suelos Del Estado De México Y Su Actualización a La Base Referencial Mundial Del Recurso Suelo 2006. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, *2*(8), 71–84. https://doi.org/10.29298/rmcf.v2i8.538

Spaniol, R. L., Duarte, L. da S., Mendonça, M. de S., & Iserhard, C. A. (2019). Combining functional traits and phylogeny to disentangling Amazonian butterfly assemblages on anthropogenic gradients. *Ecosphere*, *10*(8). https://doi.org/10.1002/ecs2.2837

Spaniol, R. L., Mendonça, M. de S., Hartz, S. M., Iserhard, C. A., & Stevens, M. (2020). Discolouring the Amazon Rainforest: how deforestation is affecting butterfly coloration. *Biodiversity and Conservation*, *29*(9–10), 2821–2838. https://doi.org/10.1007/s10531-020-01999-3

Spruce, J. P., Sader, S., Ryan, R. E., Smoot, J., Kuper, P., Ross, K., Prados, D., Russell, J., Gasser, G., McKellip, R., & Hargrove, W. (2011). Assessment of MODIS NDVI time series data products for detecting forest defoliation by gypsy moth outbreaks. *Remote Sensing of Environment*, *115*(2), 427–437. https://doi.org/10.1016/j.rse.2010.09.013

Stavenga, D. G., Leertouwer, H. L., & Wilts, B. D. (2014). Coloration principles of nymphaline butterflies - Thin films, melanin, ommochromes and wing scale stacking. *Journal of Experimental Biology*, *217*(12), 2171–2180. https://doi.org/10.1242/jeb.098673

Tigreros, N., Sass, E. M., & Lewis, S. M. (2013). Sex-specific response to nutrient limitation and its effects on female mating success in a gift-giving butterfly. *Evolutionary Ecology*, *27*(6), 1145–1158. https://doi.org/10.1007/s10682-013-9647-x

Turner, M. G., & Gardner, R. H. (2015a). Landscape ecology in theory and practice: Pattern and process, second edition. In *Landscape Ecology in Theory and Practice: Pattern and Process*. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2794-4

Turner, M. G., & Gardner, R. H. (2015b). Landscape ecology in theory and practice: Pattern and process, second edition. In *Landscape Ecology in Theory and Practice: Pattern and Process* (Issue 1985). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2794-4

Tzortzakaki, O., Kati, V., Panitsa, M., Tzanatos, E., & Giokas, S. (2019). Butterfly diversity along the urbanization gradient in a densely-built Mediterranean city: Land cover is more decisive than resources in structuring communities. *Landscape and Urban Planning*, *183*(May 2018), 79–87. https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2018.11.007

Van Der Burg, K. R., & Reed, R. D. (2021). Seasonal plasticity: how do butterfly wing pattern traits evolve environmental responsiveness? *Current Opinion in Genetics and Development*, *69*(Figure 1), 82–87. https://doi.org/10.1016/j.gde.2021.02.009

Vandewalle, M., de Bello, F., Berg, M. P., Bolger, T., Dolédec, S., Dubs, F., Feld, C. K., Harrington, R., Harrison, P. A., Lavorel, S., da Silva, P. M., Moretti, M.,

Niemelä, J., Santos, P., Sattler, T., Sousa, J. P., Sykes, M. T., Vanbergen, A. J., & Woodcock, B. A. (2010). Functional traits as indicators of biodiversity response to land use changes across ecosystems and organisms. *Biodiversity and Conservation*, *19*(10), 2921–2947. https://doi.org/10.1007/s10531-010-9798-9

Vega-Araya, M., & Alvarado-Barrantes, R. (2019). Análisis de las series de tiempo de variables biofísicas para cuatro ecorregiones de Guanacaste, Costa Rica. *Revista de Ciencias Ambientales*, *53*(2), 60–96. https://doi.org/10.15359/rca.53-2.4

Verbesselt, J., Zeileis, A., & Herold, M. (2012). Near real-time disturbance detection using satellite image time series. *Remote Sensing of Environment*, *123*, 98–108. https://doi.org/10.1016/j.rse.2012.02.022

Warren, A. D., Davis, K. J., Grishin, N. V., Pelham, J. P., & Stangeland, E. M. (2012). *Interactive listing of American butterflies*. http://butterfliesofamerica.com

Whitworth, A., Pillco Huarcaya, R., Gonzalez Mercado, H., Braunholtz, L. D., & MacLeod, R. (2018). Food for thought. Rainforest carrion-feeding butterflies are more sensitive indicators of disturbance history than fruit feeders. *Biological Conservation*, *217*(August 2017), 383–390. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.11.030

Wijnen, B., Leertouwer, H. L., & Stavenga, D. G. (2007). Colors and pterin pigmentation of pierid butterfly wings. *Journal of Insect Physiology*, *53*(12), 1206–1217. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2007.06.016

Zeuss, D., Brandl, R., Brändle, M., Rahbek, C., & Brunzel, S. (2014). Global warming favours light-coloured insects in Europe. *Nature Communications*, *5*(May 2013). https://doi.org/10.1038/ncomms4874

11 APÉNDICE

Tabla 8. Coeficientes de variación para los efectos aleatorios de la variable brillo.

Factor del modelo	Estimados	Std. Error	T value	Pr(>|t|)
SitioSP	0.60	0.37	1.61	0.10
Color blanco	0.61	0.33	1.83	0.06
Color negro	-3.99	0.31	-12.66	<2e-16
Color rojo	-2.16	0.34	-6.35	6.66e-10
Color verde	-2.54	0.43	-5.81	1.34e-08
SitioSP:Colorblanco	-0.71	0.40	-1.75	0.08
SitioSP:Colornegro	-0.56	0.39	-1.42	0.15
SitioSP:Colorrojo	-0.57	0.41	-1.38	0.16
SitioSP:Colorverde	-0.47	0.53	-0.89	0.37

Tabla 9. Coeficientes de variación para los efectos aleatorios de la variable saturación.

Factor del modelo	Estimados	Std. Error	T value	Pr(>|t|)
SitioSP	-0.04	0.06	-0.57	0.56
Color blanco	-0.19	0.06	-2.92	0.003
Color negro	0.19	0.06	3.15	0.001
Color rojo	0.60	0.06	9.10	<2e-16
Color verde	-0.22	0.08	-2.66	0.008
SitioSP:Colorblanco	0.06	0.07	0.82	0.41
SitioSP:Colornegro	0.05	0.07	0.68	0.49
SitioSP:Colorrojo	0.04	0.07	0.57	0.56
SitioSP:Colorverde	-0.02	0.09	-0.20	0.83

12 ANEXOS

Gmail Mariluz Anaya <mariluzav5@gmail.com>

Confirmation of your submission to Ecology - ECY26-0325

1 mensaje

ESA Publications Office <onbehalfof@manuscriptcentral.com> 10 de marzo de 2026 a las 12:26 p.m.
Responder a: esajournals@esa.org
Para: mariluzav5@gmail.com
CC: mariluzav5@gmail.com, camastachil@uaemex.mx, lmacotelac90@gmail.com, liliana.dalbaaltamirano@naturalis.nl, psn@uaemex.mx, mdruizg@uaemex.mx

This is an automatically generated system message. Any questions or responses should be sent directly to [esajournals@esa.org].

10-Mar-2026

Dear Mrs. Anaya-Villegas,

Your manuscript entitled "Persistence of wing coloration in nymphalid butterflies across contrasting environmental conditions" has been successfully submitted to Ecology. The following individuals are listed as coauthors: Anaya-Villegas, Mariluz; Mastachi-Loza, Carlos A; Macotela, Luis ; D'Alba, Liliana ; Sánchez-Nava, Petra ; Ruiz-Gómez, María de Lourdes

The contact author will be notified if there are any issues that need to be addressed prior to sending the manuscript to the Editor-in-Chief for consideration for possible publication in Ecology.

Co-authors: Please contact the journal's editorial staff as soon as possible if you disagree with being listed as a coauthor for this manuscript.

Your manuscript ID for your paper is ECY26-0325. Please mention this manuscript ID in all future correspondence. If there are any changes in your contact information, please log in to ScholarOne Manuscripts at https://mc.manuscriptcentral.com/ecology and edit your user information as appropriate.

You can view the status of your manuscript in your Author Center after logging in to https://mc.manuscriptcentral.com/ecology. Please note: If the manuscript has been unsubmitted and sent back to the contact author for required changes, it will only appear in their Author Center. Coauthors will not find an unsubmitted manuscript in their personal Author Center. If the manuscript is not present for you, please check with the contact author. For an explanation of the steps in the peer review process, see: https://esajournals.onlinelibrary.wiley.com/hub/journal/19399170/author-guidelines#peer-review-process.

Please note: Images (e.g., photographs, icons, silhouettes, illustrative artwork) cannot be included in your article if their licensing is more restrictive than the open-access licensing options that are available for Ecology. Journal publication includes the option to change the license to open access even after the initial publication is released. We strongly discourage the use of such images in figures in the main article and in appendices beyond the data necessary to report your findings. Use of images includes licensing implications that require additional verification before their use can be approved, and this slows the peer review and publication processes. If graphics beyond the data points are necessary, we suggest using only images created by authors of the paper, images fully in the public domain, or images created by an individual who has provided their permission for use in the paper and has affirmed their understanding that open access is a publication license option that may be applied to their material upon publication in this work. If using images, attribution and image source information must be provided in each figure caption. It is the author's responsibility to seek such permission and to follow any attribution requirements placed on the images from the source. Please do not send any revised material (figures, manuscript, or appendix) at this time. Staff will contact you at the appropriate time for these materials.

Thank you for submitting your manuscript to Ecology.

Sincerely,

The ESA Publications Office

WILEY ECOLOGY

Persistence of wing coloration in nymphalid butterflies across contrasting environmental conditions

Journal:	*Ecology*
Manuscript ID	Draft
Wiley - Manuscript type:	Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Anaya-Villegas, Mariluz; Universidad Autónoma del Estado de México Facultad de Ciencias, Laboratorio de Ecología y Conducta Mastachi-Loza, Carlos A; Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Interamericano de Tecnología y Ciencias del Agua Macotela, Luis ; Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Ciencias D'Alba, Liliana ; Naturalis Biodiversity Center, Naturalis Biodiversity Center Sánchez-Nava, Petra ; Universidad Autónoma del Estado de México, Laboratorio de Sistemas Biosustentables. Facultad de Ciencias Ruiz-Gómez, María de Lourdes ; Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Ciencias
Substantive Area:	Conservation < Population Ecology < Substantive Area, Disturbance < Community Ecology < Substantive Area, Remote Sensing < Methodology < Substantive Area
Organism:	Moths, Butterflies < Insects < Arthropods < Invertebrates < Animals
Habitat:	Deciduous Forest < Subtropical Zone < Terrestrial < Habitat
Geographic Area:	Mexico < North America < Geographic Area
Key words/phrases:	Butterflies, environmental condition, functional traits, remote sensing, wing coloration
Abstract:	Wing coloration in butterflies is a functional trait closely linked to both, biotic and abiotic habitat conditions and may therefore be sensitive to environmental disturbance. In this study, we evaluated the effect of habitat disturbance associated with land-use change driven by agricultural expansion and human settlement development on wing color properties, in two populations of nymphalid butterflies from central Mexico. We propose that butterflies from a disturbed site, would exhibit higher wing brightness and lower saturation compared to individuals from a conserved site. The study sites were characterized using a spatial multicriteria analysis, integrating long-term trends in vegetation condition and surface temperature derived from remote sensing. Specifically, we incorporated the Normalized Difference Vegetation Index, the Leaf Area Index, and the Land Surface Temperature to discriminate between a

	conserved and a disturbed site. Wing brightness and saturation were quantified through spectrophotometry in species shared between sites. Contrary to our initial hypothesis, despite clear environmental contrasts identified through spatial analyses, wing brightness and saturation did not differ significantly between sites. These results indicate that wing coloration remained stable across populations inhabiting distinct habitat conditions under the disturbance gradient evaluated. The disturbed site exhibited a heterogeneous mosaic of land use, including remnant patches of native vegetation, which likely contributed to maintaining microclimatic conditions and resource availability, comparable to those of the conserved site. The persistence of these vegetation patches appears to support the maintenance of functionally relevant traits, such as wing coloration, even within anthropogenically modified landscapes. Overall, our findings suggest that habitat configuration and the retention of native vegetation, within human-modified environments, may buffer the effects of disturbance on ecologically important traits, underscoring the role of structural heterogeneity in sustaining functional stability in tropical ecosystems.

SCHOLARONE™
Manuscripts

Ecological Society of America

Article

Persistence of wing coloration in nymphalid butterflies across contrasting environmental conditions

Mariluz Anaya-Villegas[1], Carlos Alberto Mastachi-Loza[2], Luis Macotela[3], Liliana D'Alba[4], Petra Sánchez-Nava[5], María de Lourdes Ruiz-Gómez[1*]

[1]Laboratorio de Ecología y Conducta, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Literario No. 100, Colonia Centro, CP 50000, Toluca, Estado de México, México.

[2]Instituto Interamericano de Tecnología y Ciencias del Agua, Universidad Autónoma del Estado de México, Carretera Toluca—Atlacomulco km 14.5, Toluca 50200, México.

[3] Laboratorio de Neurobiología de la Adicción y Plasticidad Cerebral, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México.

[4]Naturalis Biodiversity Center, Leiden 2333, Netherlands.[5] Laboratorio de Sistemas Biosustentables. Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México. El Cerrillo Piedra Blancas, Toluca 50295, Estado de México

Corresponding author:

María de Lourdes Ruiz-Gómez (mdruizg@uaemex.mx)

Open Research Statement

The data and R scripts supporting this study have not yet been deposited in a public repository, as the manuscript is currently under review. Upon acceptance, all processed datasets and analytical code necessary to reproduce the results will be permanently archived in Dryad and made publicly available at the time of publication. The data can be provided to the handling editor for verification during the review process if requested.

For Review Only

Key words: Butterflies; environmental condition; functional traits; remote sensing; wing coloration

For Review Only

ABSTRACT

Wing coloration in butterflies is a functional trait closely linked to both, biotic and abiotic habitat conditions and may therefore be sensitive to environmental disturbance. In this study, we evaluated the effect of habitat disturbance associated with land-use change driven by agricultural expansion and human settlement development on wing color properties, in two populations of nymphalid butterflies from central Mexico. We propose that butterflies from a disturbed site, would exhibit higher wing brightness and lower saturation compared to individuals from a conserved site. The study sites were characterized using a spatial multicriteria analysis, integrating long-term trends in vegetation condition and surface temperature derived from remote sensing. Specifically, we incorporated the Normalized Difference Vegetation Index, the Leaf Area Index, and the Land Surface Temperature to discriminate between a conserved and a disturbed site. Wing brightness and saturation were quantified through spectrophotometry in species shared between sites. Contrary to our initial hypothesis, despite clear environmental contrasts identified through spatial analyses, wing brightness and saturation did not differ significantly between sites. These results indicate that wing coloration remained stable across populations inhabiting distinct habitat conditions under the disturbance gradient evaluated. The disturbed site exhibited a heterogeneous mosaic of land use, including remnant patches of native vegetation, which likely contributed to maintaining microclimatic conditions and resource availability, comparable to those of the conserved site. The persistence of these vegetation patches appears to support the maintenance of functionally relevant traits, such as wing coloration, even within anthropogenically modified landscapes. Overall, our findings suggest that habitat configuration and the retention of native vegetation, within human-modified environments, may buffer the effects of disturbance on ecologically important traits, underscoring the role of structural heterogeneity in sustaining functional stability in tropical ecosystems.

For Review Only

INTRODUCTION

Anthropogenic disturbance is one of the main drivers of global environmental change. Activities such as deforestation, urban and agricultural expansion, and overexploitation of natural resources; transform the structure and composition of ecosystems, reduce resource availability, and modify the microenvironmental conditions that sustain biodiversity (Turner & Gardner, 2015). These alterations generate fragmented and homogeneous landscapes, with reduced structural complexity and impoverished biological communities (Haddad et al., 2015). Among the most sensitive organisms to anthropogenic changes are butterflies; whose dependence on stable thermal, light, and vegetation conditions, makes them excellent indicators of habitat quality (Hambler et al., 2011; Kotze et al., 2022).

Butterflies exhibit diverse responses to environmental modification; such variation depends on their diet, dispersal capacity, phenology, and ecological specialization (Forsberg et al., 2020; Whitworth et al., 2018). Consequently, understanding the dynamics of functional traits—like wing color patterns and chromatic properties—provides a more comprehensive approach for assessing biological responses to habitat disturbance (Spaniol et al., 2020). Wing coloration encompasses multiple ecological and adaptive functions, including thermoregulation, intra- and interspecific communication, anti-predatory defense, and microbial and ultraviolet protection (Caro et al., 2016; Cuthill et al., 2017; Kemp & Rutowski, 2011; Spaniol et al., 2019). Since these functions often interact, any alteration in coloration may have broad physiological and ecological consequences (Dubovskiy et al., 2013; Koneru & Caro, 2022).

The expression of coloration in butterflies, depends on the interaction between biological and environmental factors throughout development. During larval and pupal stages, food quality and temperature determine pigment deposition, the formation of nanoscale structures, and the spatial configuration of the patterns that give rise to the final color (Johnson et al., 2014; Van der Burg & Reed, 2021). In adults, the structural heterogeneity of the habitat, such as canopy density and vertical vegetation arrangement, regulates the functional efficiency of color by influencing body temperature, signal visibility, and ecological interactions (Clusella-Trullas & Nielsen, 2020; Dalrymple et al., 2018; Merilaita et al., 2017). Thus, human-modified environments can

For Review Only

simultaneously influence the developmental processes underlying coloration, its expression in adult individuals and the ways in which it is perceived by others.

Numerous studies have shown that human activities, including deforestation, urbanization, and land-use change, modify habitat structure, microclimatic conditions, and resource availability, generating fragmented and homogeneous environments with low biological diversity (Turner & Gardner, 2015; Cardoso et al., 2020). For butterflies, such modifications reduce species richness and abundance (Meléndez-Jaramillo et al., 2021; González-Valdivia et al., 2016), and produce differential responses between specialists and generalists. These differences are due to varying tolerance thresholds linked to the functional traits of the organisms (Orta et al., 2022; Vandewalle et al., 2010). Spaniol et al. (2019) proposed that wing coloration is a key functional trait that allows organisms to cope with disturbance and maintain their ecological performance. In this sense, experimental evidence in butterflies indicates that food quality and temperature, during larval and pupal development, directly influence wing color patterns and their chromatic properties, particularly saturation and brightness (Kemp & Rutowski, 2011; Tigreros et al., 2013; Davis et al., 2020; Otaki & Yamamoto, 2004; Kertész et al., 2017; Johnson et al., 2014).

In Mexico, tropical forests harbor high biological diversity due to the variability of resources and ecological niches (Rzedowski, 2006). These ecosystems are highly species-rich and display remarkable phenotypic diversity, making them among the most butterfly-rich systems in the country (Llorente-Bousquets et al., 2014). The municipality of Malinalco, in central Mexico, still preserves extensive areas of tropical dry forest; however, agricultural intensification, urban expansion, and tourism have significantly transformed the landscape structure over the last three decades (Hernández-Mejía et al., 2008). Nevertheless, Malinalco maintains a high butterfly diversity and a particularly rich assemblage of nymphalid butterflies, a family characterized by high ecological sensitivity and a marked variation in wing color patterns across habitats (Freitas et al., 2014; Spaniol et al., 2019). Therefore, the area constitutes an ideal setting to determine the effect of habitat disturbance on wing coloration in butterflies of the family Nymphalidae in two sites that represent distinct environmental conditions in Malinalco. We propose that butterflies from the disturbed site will exhibit higher wing brightness and lower

For Review Only

color saturation than those from the conserved site, in response to differences in habitat structure and microenvironmental conditions.

MATERIAL AND METHODS

Study area

The study was carried out in Malinalco, State of Mexico (19°01'58"-18°45'18" N and 99°35'24"-99°25'34" W). The region presents a physiographic heterogeneity that favors the presence of various types of vegetation, including tropical dry forest and temperate forest gallery along the water courses. The predominant climate is subhumid temperate. The mean annual temperature is 21°C and the average precipitation is 1125.7 mm (Hernández-Mejía et al., 2008). The predominant vegetation is Low Deciduous Forest with the most common tree species being *Ficus petiolaris*, *Bursera morelensis*, *B. pinnata*, *Lysiloma acapulcensis*, *Erythrina spp.*, *Eysenhardtia polystachya therebinthinaceus*, *Ceiba aesculifolia*, *Ipomoea murucoides*, *Pseudobombax ellipticum*, and *Thevetia peruviana*. Cacti from the genera *Stenocereus spp.*, *Mammillaria spp.*, and *Opuntia spp.* are also present, interspersed among the dominant vegetation (Aguilera-Gómez y Rivas-Manzano, 2006; Martínez-De la Cruz et al., 2015).

The predominant anthropogenic activities in the area include forestry, agriculture, and livestock farming, which together account for 76.2% land use of the municipal territory. Additionally, the construction of human settlements and recreational centers aimed at tourism represent 5.12% of the municipal area (Hernández-Mejía et al., 2008; Rzedowski, 2006).

Environmental condition assessment and site selection

We used remote sensing tools because they provide an efficient and cost-effective approach to relate biophysical indicators of habitat condition to functional traits of sensitive organisms; those indicators include the Normalized Difference Vegetation Index (NDVI), Leaf Area Index (LAI), and Land Surface Temperature (LST) (Spruce et al., 2011; Essens & Hernández-Stefanoni, 2013; Levanoni et al., 2011). Spectral satellite data enabled the continuous characterization of

For Review Only

environmental conditions and the evaluation of their influence on organisms across spatial and temporal scales (Alcaraz-Segura et al., 2010; Essens & Hernández-Stefanoni, 2013).

Environmental condition was assessed with a multicriteria spatial analysis, combining long-term biophysical trends with environmental and logistical criteria. To capture changes in vegetation condition and surface thermal dynamics, we used MODIS time series spanning from 2000 to 2020: NDVI (MOD13A1; 500 m; 16-day composites), LAI (MOD15A2H; 500 m; 8-day composites) and land surface temperature (LST; MOD11A2; 1 km; 8-day composites). These variables are widely employed as indicators of habitat degradation, and their variation is directly linked to ecological conditions that influence wing-color functionality in butterflies (Dalrymple et al., 2018; Spaniol et al., 2020).

All-time series were pre-processed in TerrSet 18.3. Missing values were corrected through spatial (3 × 3 window) and temporal (median) interpolation; seasonal patterns were removed using a monthly moving-average filter. We applied the Theil–Sen estimator to detect monotonic trends and used the Mann–Kendall test ($\alpha = 0.05$) to evaluate their significance. Pixels with significant positive or negative slopes were classified as disturbed; those without significant trends were sorted out as non-disturbed.

To refine site selection, we incorporated additional environmental layers related to accessibility, hydrology, vegetation type and land use (INEGI, 2009; CONABIO, 2018). A weight was assigned to each variable, according to their ecological relevance and practical importance, and all layers were combined using a weighted linear overlay to generate a continuous disturbance-suitability surface. The map was then reclassified into two categories, disturbed and conserved, and one representative site was chosen from each category.

We validated the two selected sites by extracting the long-term trends of NDVI, LAI, and LST, and by calculating their respective rates of change. That allowed us to ensure that the sites represented contrasting and ecologically relevant environmental conditions for the study. Similarly, in-site surveys were conducted to verify the presence of nymphalid butterflies, and to identify the taxa shared between locations.

For Review Only

190 **Data sampling**

191 A total of 24 three-day field expeditions (12 per site) were conducted during the dry season
192 (March–June 2022). At each site, six Van Someren–Rydon traps were placed, spaced 30 meters,
193 at heights from 1.5 to 3.0 meters above the ground; installed in places with no direct sunlight.
194 Traps remained exposed in daylight, they were revised every two hours 2 to renew the bait, and
195 to collect and identify the trapped butterflies. We used standard bait composed of plantain and
196 unrefined cane sugar, pineapple was used as an attractant. In some cases, seasonal fruits such as
197 orange, guava, and melon were also included. To have representatives of all butterfly species
198 present, three people equipped with entomological nets conducted an active sampling, capturing
199 fruit-feeding butterflies observed around the traps. An additional active sampling, following the
200 methodology described by Checa et al. (2019), was also carried out in various microhabitats
201 throughout the selected sites, particularly where a large incidence of butterflies was sighted.

202 Ten individuals of each of the species, shared between sites, were collected and included
203 for color analyses. The collected organisms were identified using specialized literature (De la
204 Maza, 1987; Lamas, 2004; Warren et al., 2012), and by comparison with the butterfly species
205 checklist of Malinalco described by Hernández-Mejía (2008).

206

207 **Color measurements**

208 Wing surface reflectance measurements were conducted using a spectrophotometer (AvaSpec-
209 2048L) within the ultraviolet-visible electromagnetic spectrum range (300–700 nm). A diffuse
210 spectralon WS-2 white standard (Avantes Inc., Broomfield) and complete darkness were used for
211 reference standardization. An optical fiber probe with a xenon light source (AvaLight-XE) was
212 mounted on a universal holder at a 3 mm distance from the sample surface, positioned at a 90°
213 angle inside an isolation box, to prevent interference of external light.

214 Color measurements were taken on the dorsal surface of the right forewing of each
215 individual. The predominant wing color, considered as the background color (BC), was
216 measured at three different points. The distinct color patches present on the wing were also

For Review Only

measured in triplicate, using a circular area of at least 1 mm of diameter. Finally, the data were extracted using the software AvaSoft 8.1 and saved in separate Excel files.

Reflectance data were organized and processed in RStudio using the package PAVO (Maia et al., 2013). Replicate measurements were averaged for each sampled wing region, and reflectance curves were smoothed to reduce noise. From these spectra, color variables were calculated for each wing region and species, including hue (wavelength of maximum reflectance), saturation (spectral purity relative to white light), and brightness (sum of reflectance values across 300–700 nm), following Maia et al. (2013) and Montgomerie (2006). For achromatic colors, i.e. white and black, only brightness was assessed.

Statistical Analysis

To evaluate how site disturbance influenced wing coloration, we used linear mixed-effects models (LMMs). Colorimetric variables were analyzed independently. To explore general patterns across colors, we grouped all measurements corresponding to the same color into a single dataset. Five artificial color groups were defined: red, white, black, green, and yellow. Prior to analysis, all variables were subjected to a quadratic transformation to improve normality and stabilize the variance.

We fitted two sets of models to examine the effect of site on brightness and saturation, respectively. In both sets of models, site and color group were included as fixed factors, while species and individual identity (ID) were modeled as random effects.

Each model included a colorimetric variable (brightness or saturation) as the response variable, site and color group as fixed predictors, and species and individual as random intercepts. We assumed a Gamma error distribution with a log link function for brightness and an identity link function for saturation. The best-fitting models were selected based on Akaike's Information Criterion (AIC) values (Zuur et al., 2010; Bates et al., 2015).

Model parameters were estimated using restricted maximum likelihood (REML), and the significance of fixed effects was assessed through Satterthwaite's variance test. Model residuals and overall fit were checked using scaled residuals with the DHARMa package (Hartig, 2021).

For Review Only

All models were fitted using *glmmTMB* (Brooks et al., 2017) in R (R Core Team, 2022; RStudio Team, 2023). Plots were produced with the packages *ggeffects* (Lüdecke, 2018) and *ggplot2* (Wickham, 2016).

RESULTS

Spatial classification of environmental disturbance

The multicriteria analysis revealed clear spatial contrasts in environmental conditions across Malinalco, allowing the identification of disturbed and conserved areas within the municipality. Disturbed zones were concentrated in regions with high human influence—areas associated with agriculture, settlements, and tourist infrastructure—whereas conserved zones occurred in continuous tracts of tropical dry forest. From this classification, two sites were selected to represent contrasting environmental conditions: Las Truchas (disturbed) and San Pedro Chichicasco (conserved) (Figure 1).

Long-term biophysical trajectories of the selected sites

Long-term trend analyses (2000–2020) of biophysical traits, showed marked divergence between locations. At Las Truchas, NDVI and LAI exhibited significant negative trends (NDVI: –0.035; LAI: –0.015 m^2/m^2; $P < 0.05$), indicating a sustained decline in vegetation productivity and canopy structure (Figure 2A and B). LST also decreased over the period (–0.55 °C), reflecting altered surface thermal conditions linked to land-use change. Together, these temporal patterns confirmed a progressive environmental degradation at this site (Figure 2C).

Specifically, reduction in NDVI and LAI reflect losses in vegetation cover and canopy structure, while an increment in LST indicates surface heating associated with vegetation removal or land-use conversion. It is known that those changes can alter microclimates, resource availability and the thermal environments relevant to color expression and thermoregulation (Dalrymple et al., 2018; Koneru & Caro, 2022).

For Review Only

By contrast, San Pedro Chichicasco displayed stable long-term trajectories for LAI and LST (Figure 2B and C), while NDVI increased significantly over time (+0.023; $P < 0.05$), reflecting improvements in vegetation cover and productivity (Figure 2A). The absence of negative biophysical trends, along with the persistence of conserved tropical dry forest in the surrounding landscape, supports the classification as a conserved site.

These contrasting trends, validate our selection of Las Truchas and San Pedro Chichicasco, as representatives of a disturbed and a conserved site respectively, suitable to fulfil the aims of this study.

Species richness and shared taxa between sites

A total of 24 sampling events were conducted, resulting in an effort of 192 person-hours and 504 trap-hours per site. Based on taxonomic identification using specialized literature, we recorded 38 nymphalid butterfly species belonging to 29 genera and four subfamilies (Danainae, Heliconiinae, Morphinae and Satyrinae). This assemblage represents 69% of the total nymphalid fauna documented for Malinalco (55 spp.; Hernández-Mejía et al., 2008). Moreover, three species—*Hamadryas amphinome* (Hübner, 1806), *Myscelia ethusa* (Doyère, 1840) and *Smyrna blomfildia* (Fabricius, 1781)—constitute new local records.

Species richness differed between sites. San Pedro Chichicasco harbored 31 species (81.6% of the total sample), whereas 22 species (57.9%) were recorded in Las Truchas. Both sites shared 15 species; however, only nine were included in the color analyses because they were the most abundant, representing a total of 180 individuals. Species selection followed a relative-abundance criterion, prioritizing those represented by at least six individuals for the quantification of wing-color variables (saturation and brightness). The methodology used to quantify color properties followed Dalrymple et al. (2015). A Venn diagram summarizes the proportion of shared and non-shared species between sites (Figure 3).

Wing coloration There was no significant effect between sites in color properties (brightness, $F = 0.419$, $P = 0.25$ and saturation, $F = 0.34$, $P = 0.55$; Table 1). Likewise, no significant site ×

For Review Only

299 colour interaction was detected for brightness (F = 0.419, P = 0.52) or saturation (F = 0.41, P =
300 0.79); These results indicate minimum differences in wing-colour variables between site´s
301 assemblages (Figure 4A and B).

302 To evaluate the hierarchical structure of phenotypic variation, we quantified the Intraclass
303 Correlation Coefficient (ICC), partitioning the variance attributable to individuals nested within
304 species. Within-species variance for both brightness and saturation was low (Appendix S1: Table
305 1, Table 2), suggesting high consistency among conspecifics. In contrast, inter-species-level
306 variance was moderate for both color traits—brightness (ICC = 24.1%) and saturation (ICC =
307 60.2%)—indicating that interspecific differences contribute substantially to the overall color
308 composition.

309

310 **DISCUSSION**

311 **Summary of findings**

312 Wing coloration in butterflies constitutes a functional trait closely linked to both biotic and
313 abiotic habitat conditions and has therefore been proposed as being sensitive to environmental
314 change. Based on previous studies, we proposed that the variables describing wing coloration
315 (brightness, hue, and saturation) would show different responses to habitat modification;
316 specifically, we predicted that butterflies from the disturbed site would exhibit higher wing
317 brightness and lower color saturation than those from the conserved site. However, our results
318 showed that neither brightness nor saturation differed significantly between butterflies from the
319 disturbed site (Las Truchas) and the conserved site (San Pedro Chichicasco). This indicates that,
320 despite the environmental differences detected through the multicriteria analysis and spatio-
321 temporal trend analyses, butterflies´ wing coloration was similar between shared species across
322 sites.

323

324 **Spatial classification of environmental disturbance**

For Review Only

Assessing the effects of anthropogenic disturbance on habitat characteristics is complex, due to the interaction of multiple correlated environmental variables, that shape habitat dynamics across space and time (Alcaraz-Segura et al., 2010; Turner & Gardner, 2015b; De et al., 2024). The magnitude, type, and continuity of these disturbances generate heterogeneous landscapes that condition the structure and functionality of remnant habitat elements, ultimately determining their capacity to sustain essential resources for organisms. In this study, the use of remote sensing techniques allowed us to objectively characterize and classify the general environmental condition of Malinalco, using biophysical variables (NDVI, LAI, and LST) closely related to vegetation productivity, water availability, and thermal dynamics—factors that are key to the development and biological functionality of wing coloration in butterflies.

Our analyses showed that in Las Truchas, there was a sustained decline in vegetation indices since 2004–2005, indicative of a progressive loss of vegetation cover. Contrary to expectations, LST displayed a gradual decrease over the same period. This pattern may be explained by the particular land-use configuration of the site, characterized by a heterogeneous mosaic that includes patches of native vegetation, linear arboreal elements, cultivated fields, and a constant availability of surface water (springs, crops, greenhouses, residential gardens, and aquatic recreational facilities). Together, these features may promote a microclimatic regulation that may attenuate the expected thermal increase, as has been documented in agricultural systems with alluvial soils and continuous irrigation (De et al., 2024).

In contrast, San Pedro Chichicasco has maintained stable environmental conditions, with sustained increases in vegetation cover and productivity, accompanied by thermal stability. The presence of extensive areas of native vegetation and low-intensity agricultural practices has allowed the preservation of a complex vertical structure and high environmental heterogeneity, favouring the availability of multiple microhabitats and resources for species with different ecological requirements.

Although a slight decrease in surface temperature over the last 20 years (~0.5 °C) was recorded at the disturbed site, no differences in wing coloration were detected between sites. This suggests that the magnitude of the observed thermal variation may be insufficient to induce detectable chromatic modifications in the short term. Experimental studies show that temperature

For Review Only

can affect butterfly wing coloration; however, these effects generally occur under substantially stronger thermal stress. For example, in other butterflies like *Polyommatus icarus*, pupae exposed to prolonged cooling at 5 °C for up to 62 days, exhibited measurable alterations in pigmentary and structural coloration (Kertész et al., 2017). Such treatments represent thermal deviations far beyond the typical developmental conditions for butterflies, commonly reported around 20–30 °C. Likewise, pronounced modifications in wing color patterns have been documented primarily under abrupt thermal shocks or extreme experimental manipulations applied during sensitive developmental stages (Otaki & Yamamoto, 2004; Otaki, 2008). Therefore, the relatively small temperature change detected in this study likely falls below the physiological thresholds required to generate measurable phenotypic responses in wing coloration.

Finally, although Las Truchas has undergone substantial transformation, its relatively complex man-made spatial structure, and the presence of natural and artificial environmental buffering zones, may be contributing to the maintenance of functional conditions comparable to those of the conserved site. According to the intermediate disturbance hypothesis (Connell, 1978), such heterogeneous configurations can favour organism persistence by maintaining connectivity, thermal diversity, and access to resources across different life stages within anthropogenic landscapes (González-Valdivia, 2016; Soga & Koike, 2012; Szyszko-Pogórska et al., 2023).

Ecological implications

Butterfly responses to anthropogenic disturbance are highly variable and depend on their ecophysiological traits, environmental tolerances, and degree of ecological specialization (Whitworth et al., 2018; Forsberg et al., 2020). While numerous studies have documented reductions in diversity associated with habitat modification (González-Valdivia et al., 2016; Meléndez-Jaramillo et al., 2021; Tzortzakaki et al., 2019), neutral or even positive responses have also been reported, which may vary temporally within the same site (Hamer et al., 2005; Forsberg et al., 2020). These contrasting outcomes are closely linked to the degree of ecological specialization, which determines the predisposition of species to persist or disappear under

For Review Only

383 changing environmental conditions (Koneru & Caro et al., 2022; Spaniol et al., 2019). Consistent
384 with this framework, we observed that generalist species, such as *Smyrna blomfildia*, occurred in
385 the modified landscape in Las Truchas, whereas specialist species and bioindicators of
386 conservation, such as *Archaeoprepona demophon* (González-Valdivia et al., 2016; Orta et al.,
387 2022), were restricted to San Pedro Chichicasco, as the forest environment was characterized by
388 shaded conditions.

389 Although abundance estimates were not incorporated to avoid collecting or manipulating
390 individuals beyond those required for color measurements, clear differences in taxonomic
391 composition and the degree of specialization were detected between sites. San Pedro Chichicasco
392 exhibited higher species richness and a greater proportion of exclusive species. Such results are
393 highly associated with microhabitats characterized by high structural complexity, humidity, and
394 shade, where physiological processes and color-related signalling presumedly operate more
395 efficiently (Dalrymple et al., 2018; Spaniol et al., 2020; Schirmer et al., 2023). In contrast, a
396 substantial proportion of shared species occurred, suggesting greater ecological tolerance and an
397 ability to persist across environmentally contrasting conditions, provided that essential niche
398 resources are maintained, including suitable microclimatic conditions, host plant availability, and
399 structurally functional habitat remnants (Orta et al., 2022), even if those conditions are
400 artificially established.

401 From a functional perspective, the persistence of wing coloration could be closely linked
402 to the maintenance of fundamental ecological requirements. When modified environments retain
403 appropriate microclimatic conditions, sufficient trophic resources, host plants, and a habitat
404 structure that allow effective space use; the physiological processes involved in the development
405 and maintenance of color traits can remain stable (Dalrymple et al., 2018). In butterflies, many of
406 these processes occur during the larval and pupal stages, when pigment acquisition through diet
407 and the formation of wing scale structures take place under the influence of environmental and
408 hormonal regulation (Johnson et al., 2014; Van der Burg & Reed, 2021). Consequently, if these
409 developmental conditions remain relatively stable, the chromatic properties expressed in adults
410 may persist even in moderately disturbed habitats. In this context, the absence of detectable
411 differences in chromatic properties between sites suggests that, despite anthropogenic
412 disturbance, ecological thresholds necessary to induce measurable changes in wing coloration

For Review Only

have not been exceeded. Both environments continue to provide the key elements required for the functional expression of color, at least for species with higher ecological tolerance. This finding reinforces the notion that disturbance does not act uniformly on functional traits; rather, its effects depend on the capacity of habitats to retain the critical components that sustain them.

In agreement with this interpretation, the species included in the color analysis exhibited a wide diversity of wing color patterns and properties, with no common chromatic pattern associated with specific functions such as antipredator or sexual signaling. Accordingly, no significant differences in brightness or saturation were detected among sites, color groups, or species. This result contrasts with the findings of Spaniol et al. (2020), where functional similarity in color patterns reflected shared selective pressures in ecosystems with high structural complexity and strong predation pressure. In our system, the diversity of chromatic strategies suggests a lower dependence on specific visual signals, which may explain the lack of detectable color responses to environmental disturbance.

Overall, our results highlight the importance of habitat heterogeneity in anthropogenic landscapes. At Las Truchas, assemblages were dominated by generalist species (see Venn diagram), whose high ecological tolerance and capacity to exploit a wide range of resources, appear to be favored by a landscape configuration that, nevertheless, maintains functionally connected vegetation patches. Such management conditions may allow the conservation of ecological functionality and the stable development of functional traits, including wing coloration, provided that disturbance does not exceed critical thresholds. Integrating functional traits with remote sensing tools therefore represents a valuable approach for assessing not only taxonomic stability, but also the ecological functionality of habitats subjected to human modification.

CONCLUSIONS

Our results indicate that contrasting environmental conditions between San Pedro Chichicasco and Las Truchas did not have a significant effect on wing coloration traits in the nymphalid

For Review Only

butterflies investigated. No differences in brightness or saturation were detected between sites, indicating that wing coloration remained stable under the disturbance gradient evaluated.

Las Truchas exhibited a heterogeneous mosaic of land uses with remnant native vegetation patches, and both sites maintained comparable microhabitat conditions. Generalist species predominated in the assemblage and showed stable wing coloration across sites. The persistence of native vegetation patches within modified landscapes appears to play a key role in maintaining functional traits, such as wing coloration, in butterfly populations.

ACKNOWLEDGEMEINTS

We are grateful to the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) for the scholarship to MAV (CVU-1132540). We are also thankful to the Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales for granting the permission to collect animals (09/K5-0491/02/22). Finally, we extend our gratitude to Mario Sandoval Molina and a few biology students for their field assistance.

AUTHORS CONTRIBUTION

MAV, MLRG, LDA and CAML conceived the initial project design, MAV and LM conducted fieldwork, MAV conducted the entomological work, MAV and CAML conducted the remote sensing, MAV, LDA and LM carried out statistical analyses, MAV, LM and MLRG wrote the original manuscript, MAV, MLRG, LM, PSN and CAML review and editing original manuscript.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

For Review Only

Alcaraz-Segura, D., E. Chuvieco, H. E. Epstein, E. S. Kasischke, and A. Trishchenko. 2010. "Debating the greening vs. browning of the North American boreal forest: Differences between satellite datasets." Global Change Biology 16: 760–770. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.01956.x.

Cardoso, P., P. S. Barton, K. Birkhofer, F. Chichorro, C. Deacon, T. Fartmann, C. S. Fukushima, R. Gaigher, J. C. Habel, C. A. Hallmann, M. J. Hill, A. Hochkirch, M. L. Kwak, S. Mammola, J. A. Noriega, A. B. Orfinger, F. Pedraza, J. S. Pryke, F. O. Roque, and M. J. Samways. 2020. "Scientists' warning to humanity on insect extinctions." Biological Conservation 242: 108426. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108426.

Caro, T., T. N. Sherratt, and M. Stevens. 2016. "The ecology of multiple colour defences." Evolutionary Ecology 30: 797–809. https://doi.org/10.1007/s10682-016-9854-3.

Checa, M. F., D. A. Donoso, J. Rodriguez, E. Levy, A. Warren, and K. Willmott. 2019. "Combining sampling techniques aids monitoring of tropical butterflies." Insect Conservation and Diversity 12: 362–372. https://doi.org/10.1111/icad.12328.

Clusella-Trullas, S., and M. Nielsen. 2020. "The evolution of insect body coloration under changing climates." Current Opinion in Insect Science 41: 25–32. https://doi.org/10.1016/j.cois.2020.05.007.

Cuthill, I. C., W. L. Allen, K. Arbuckle, B. Caspers, G. Chaplin, M. E. Hauber, G. E. Hill, N. G. Jablonski, C. D. Jiggins, A. Kelber, J. Mappes, J. Marshall, R. Merrill, D. Osorio, R. Prum, N. W. Roberts, A. Roulin, H. M. Rowland, T. N. Sherratt, and T. Caro. 2017. "The biology of colour." Science 357: eaan0221. https://doi.org/10.1126/science.aan0221.

Dalrymple, R. L., H. Flores-Moreno, D. J. Kemp, T. E. White, S. W. Laffan, F. A. Hemmings, T. D. Hitchcock, and A. T. Moles. 2018. "Abiotic and biotic predictors of macroecological patterns in bird and butterfly coloration." Ecological Monographs 88: 204–224. https://doi.org/10.1002/ecm.1287.

Davis, A. K., F. M. Smith, and A. M. Ballew. 2020. "A poor substitute for the real thing: Captive-reared monarch butterflies are weaker, paler and have less elongated wings than wild migrants." Biology Letters 16: 20190922. https://doi.org/10.1098/rsbl.2019.0922.

De la Maza, R., and J. Soberón. 1998. "Morphological grouping of Mexican butterflies in relation to habitat association." Biodiversity and Conservation 7: 927–944. https://doi.org/10.1023/A:1008877304630.

Dubovskiy, I. M., M. M. A. Whitten, V. Y. Kryukov, O. N. Yaroslavtseva, E. V. Grizanova, C. Greig, K. Mukherjee, A. Vilcinskas, P. V. Mitkovets, V. V. Glupov, and T. M. Butt. 2013. "More than a colour change: Insect melanism, disease resistance and fecundity." Proceedings of the Royal Society B 280: 20130584. https://doi.org/10.1098/rspb.2013.0584.

For Review Only

Essens, T., and J. L. Hernández-Stefanoni. 2013. "Mapping Lepidoptera and plant alpha-diversity across a heterogeneous tropical dry forest using field and remotely sensed data with spatial interpolation." Journal of Insect Conservation 17: 725–736. https://doi.org/10.1007/s10841-013-9556-x.

Forsberg, F., A. S. Barfod, A. J. Francisco, and M. C. Ribeiro. 2020. "Fruit-feeding butterflies as indicator taxa: Pitfalls and concerns demonstrated in the Atlantic Forest." Ecological Indicators 111: 105986. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105986.

González-Valdivia, N. A., C. Pozo, S. Ochoa-Gaona, B. G. Ferguson, E. Cambranis, O. Lara, I. Pérez-Hernández, A. Ponce-Mendoza, and C. Kampichler. 2016. "Nymphalidae frugívoras asociadas a un ecomosaico agropecuario y de bosque tropical lluvioso en el sureste de México." Revista Mexicana de Biodiversidad 87: 451–464. https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.04.003.

Hambler, C., P. A. Henderson, and M. R. Speight. 2011. "Extinction rates, extinction-prone habitats, and indicator groups." Biological Conservation 144: 713–721. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2010.09.004.

Hernández-Mejía, C., I. Vargas-Fernández, A. Luis-Martínez, and J. Llorente-Bousquets. 2008. "Distribución de las mariposas diurnas del Estado de México." Revista de Biología Tropical 56: 1309–1341. https://doi.org/10.15517/rbt.v56i3.5712.

Johnson, H., M. J. Solensky, D. A. Satterfield, and A. K. Davis. 2014. "Effects of larval food stress on wing morphology and colour in monarch butterflies." PLoS ONE 9: e93492. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093492.

Kemp, D. J., and R. L. Rutowski. 2011. "The role of coloration in mate choice and sexual interactions in butterflies." Pages 55–92 in Advances in the Study of Behavior 43. Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380896-7.00002-2.

Kertész, K., G. Piszter, Z. E. Horváth, Z. Bálint, and L. P. Biró. 2017. "Changes in structural and pigmentary colours in response to cold stress in butterflies." Scientific Reports 7: 1–12. https://doi.org/10.1038/s41598-017-01273-7.

Koneru, M., and T. Caro. 2022. "Animal coloration in the Anthropocene." Frontiers in Ecology and Evolution 10: 857317. https://doi.org/10.3389/fevo.2022.857317.

Levanoni, O., N. Levin, G. Pe'er, A. Turbé, and S. Kark. 2011. "Predicting butterfly diversity along an elevation gradient from space." Ecography 34: 372–383. https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2010.06460.x.

Llorente-Bousquets, J., I. Vargas-Fernández, A. Luis-Martínez, M. Trujano-Ortega, B. C. Hernández-Mejía, and A. D. Warren. 2014. "Biodiversity of Lepidoptera in Mexico." Revista Mexicana de Biodiversidad 85: S353–S371. https://doi.org/10.7550/rmb.31830.

For Review Only

Meléndez-Jaramillo, E., C. M. Cantú-Ayala, E. J. Treviño-Garza, U. J. Sánchez-Reyes, and B. Herrera-Fernández. 2021. "Butterfly diversity along an atmospheric pollution gradient." ZooKeys 1037: 73–103. https://doi.org/10.3897/zookeys.1037.66001.

Merilaita, S., N. E. Scott-Samuel, and I. C. Cuthill. 2017. "How camouflage works." Philosophical Transactions of the Royal Society B 372: 20160341. https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0341.

Orta, C. S., J. A. Reyes-Agüero, M. A. Luis-Martínez, C. A. Muñoz-Robles, and H. Méndez-C. 2022. "Ecological bioindicator butterflies in Mexico: A review." Journal of Insect Conservation 26: 1–20.

Otaki, J. M. 2008. "Physiologically induced colour-pattern changes in butterfly wings." Journal of Insect Physiology 54: 1099–1112. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2008.05.006.

Otaki, J. M., A. Hiyama, M. Iwata, and T. Kudo. 2010. "Phenotypic plasticity in a range-margin butterfly population." BMC Evolutionary Biology 10: 252. https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-252.

Otaki, J. M., and H. Yamamoto. 2004. "Species-specific colour-pattern modifications of butterfly wings." Development, Growth & Differentiation 46: 1–14. https://doi.org/10.1111/j.1440-169X.2004.00721.x.

Schirmer, S. C., F. M. Gawryszewski, M. Z. Cardoso, and D. M. A. Pessoa. 2023. "Melanism and colour saturation of butterfly assemblages." Frontiers in Ecology and Evolution 11: 932755. https://doi.org/10.3389/fevo.2023.932755.

Soga, M., and S. Koike. 2012. "Patch quantity, quality and isolation for butterfly diversity." Ecological Research 27: 265–271. https://doi.org/10.1007/s11284-011-0896-2.

Soga, M., and S. Koike. 2015. "Land-use change and insect biodiversity." Biological Conservation 191: 557–566. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.08.012.

Spaniol, R. L., L. S. Duarte, M. S. Mendonça, and C. A. Iserhard. 2019. "Functional traits and phylogeny of Amazonian butterflies." Ecosphere 10: e02837. https://doi.org/10.1002/ecs2.2837.

Spaniol, R. L., M. S. Mendonça, S. M. Hartz, C. A. Iserhard, and M. Stevens. 2020. "Discolouring the Amazon rainforest." Biodiversity and Conservation 29: 2821–2838. https://doi.org/10.1007/s10531-020-01999-3.

Spruce, J. P., S. Sader, R. E. Ryan, J. Smoot, P. Kuper, K. Ross, D. Prados, J. Russell, G. Gasser, R. McKellip, and W. Hargrove. 2011. "Assessment of MODIS NDVI time series data products." Remote Sensing of Environment 115: 427–437. https://doi.org/10.1016/j.rse.2010.09.013.

For Review Only

Tigreros, N., E. M. Sass, and S. M. Lewis. 2013. "Sex-specific responses to nutrient limitation in butterflies." Evolutionary Ecology 27: 1145–1158. https://doi.org/10.1007/s10682-013-9647-x.

Turner, M. G., and R. H. Gardner. 2015. Landscape ecology in theory and practice: Pattern and process. Second edition. Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2794-4.

Van der Burg, K. R., and R. D. Reed. 2021. "Seasonal plasticity in butterfly wing patterns." Current Opinion in Genetics & Development 69: 82–87. https://doi.org/10.1016/j.gde.2021.02.009.

Vandewalle, M., F. de Bello, M. P. Berg, T. Bolger, S. Dolédec, F. Dubs, C. K. Feld, R. Harrington, P. A. Harrison, S. Lavorel, P. M. Silva, M. Moretti, J. Niemelä, P. Santos, T. Sattler, J. P. Sousa, M. T. Sykes, A. J. Vanbergen, and B. A. Woodcock. 2010. "Functional traits as indicators of biodiversity response to land-use change." Biodiversity and Conservation 19: 2921–2947. https://doi.org/10.1007/s10531-010-9798-9.

Warren, A. D., K. J. Davis, N. V. Grishin, J. P. Pelham, and E. M. Stangeland. 2012. "Interactive listing of American butterflies." http://butterfliesofamerica.com.

Whitworth, A., R. Pillco Huarcaya, H. Gonzalez Mercado, L. D. Braunholtz, and R. MacLeod. 2018. "Rainforest carrion-feeding butterflies as indicators of disturbance." Biological Conservation 217: 383–390. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.11.030

For Review Only

595

596

597 **TABLES**

Predictor	Sum Sp	Mean Sq	NumDF	DenDF	F value	Pr(>F)
Brightness						
Site	0.0008322	0.008322	1	412	0.3407	0.250
Colour	28.81	7.204	4	416.6	294.9	6.592e-64
Site:Colour	0.04095	0.01024	4	411.9	0.4191	0.524
Saturation						
Site	0.0008322	0.008322	1	412	0.3407	0.559
Colour	28.81	7.204	4	416.6	294.9	4.821e-120
Site:Colour	0.04095	0.01024	4	411.9	0.4191	0.794

598 **Table 1:** Type III analysis of variance using the Satterthwaite method, for saturation and

599 brightness LMM.

600

601

602

603

604

605

606

607

608

For Review Only

609

610

611

612

613

614

615

616

617 **FIGURE LEGENDS**

618 **Figure 1.** Spatial classification of disturbed (magenta) and preserved (blue) sites, obtained
619 through multicriteria analysis. The sites selected for nymphalid butterfly sampling, in Malinalco,
620 State of México, are indicated: Las Truchas (disturbed site) and San Pedro Chichicasco
621 (preserved site). The map includes vegetation distribution, land use, and the hydrographic
622 network.

623

624 **Figure 2**. Theil-Sen annual trend of the time series (2000-2020) a) NDVI, b) LAI c) LST for the
625 sites Las Truchas and San Pedro Chichicasco in central México.

626

For Review Only

627 **Figure 3**. Venn diagram of the butterfly species identified at the preserved and disturbed study
628 sites, in Malinalco, State of México. Species exclusive to each site and those shared are shown.
629 Species highlighted in bold correspond to those included in the wing coloration analysis.

630

631 **Figure 4.** Effect of environmental condition on wing color brightness (a) and saturation (b) in
632 nymphalid butterflies from two sites of Malinalco State of México. LT; Las Truchas, SP; San
633 Pedro Chichicasco.

634

635

636

For Review Only

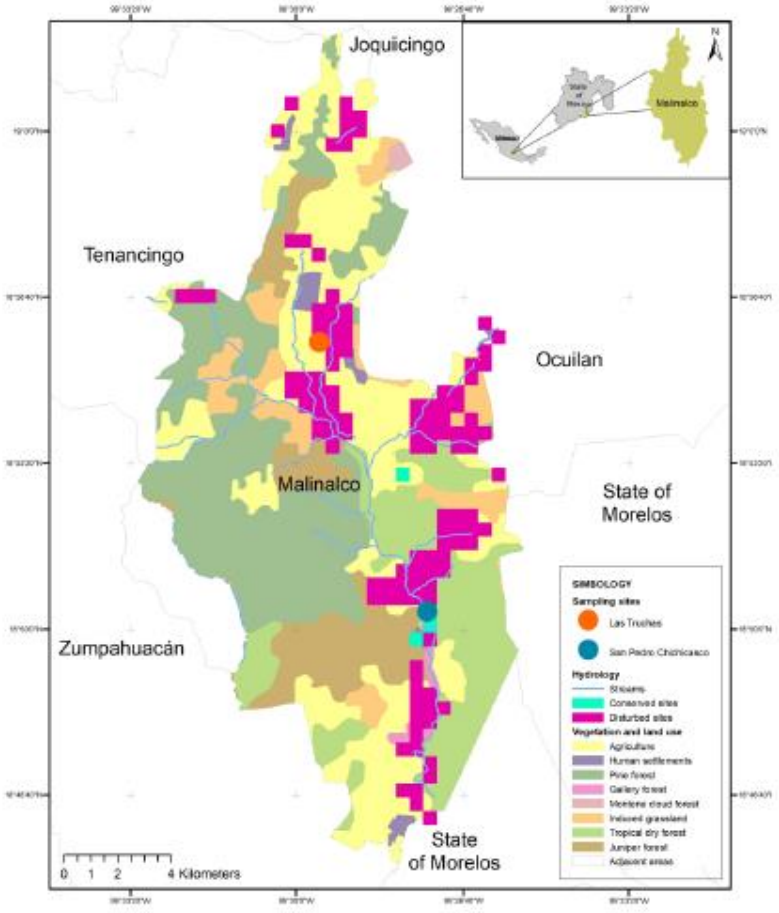


Figure 1. Spatial classification of disturbed (magenta) and preserved (blue) sites, obtained through multicriteria analysis. The sites selected for nymphalid butterfly sampling, in Malinalco, State of México, are indicated: Las Truchas (disturbed site) and San Pedro Chichicasco (preserved site). The map includes vegetation distribution, land use, and the hydrographic network.

215x279mm (300 x 300 DPI)

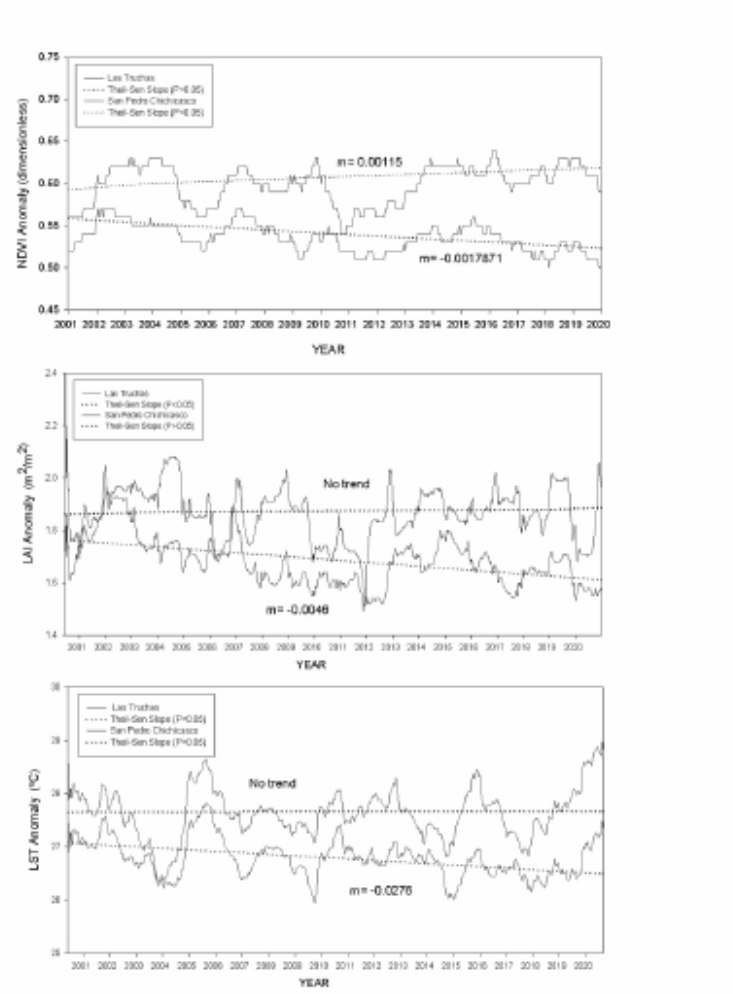


Figure 2. Theil-Sen annual trend of the time series (2000-2020) a) NDVI, b) LAI c) LST for the sites Las Truchas and San Pedro Chichicasco in central México.

209x296mm (150 x 150 DPI)

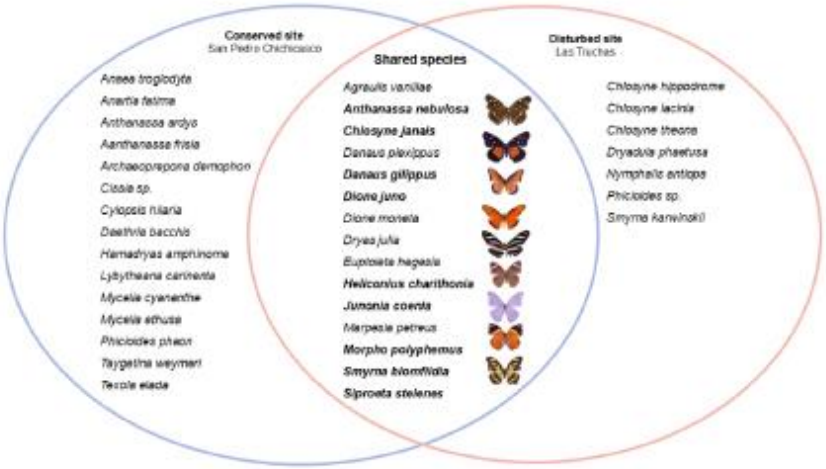


Figure 3. Venn diagram of the butterfly species identified at the preserved and disturbed study sites, in Malinalco, State of México. Species exclusive to each site and those shared are shown. Species highlighted in bold correspond to those included in the wing coloration analysis.

338x190mm (96 x 96 DPI)

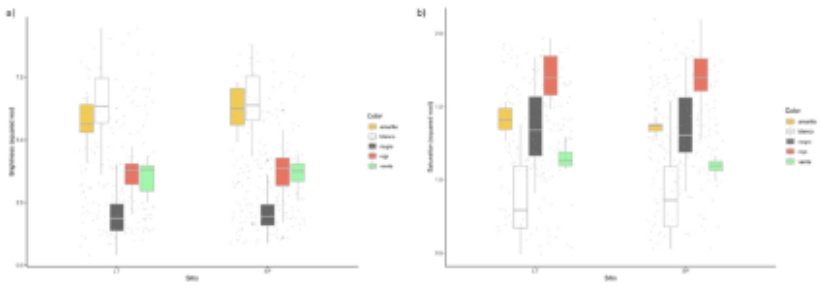


Figure 4. Effect of environmental condition on wing color brightness (a) and saturation (b) in nymphalid butterflies from two sites of Malinalco State of México. LT; Las Truchas, SP; San Pedro Chichicasco.

338x190mm (96 x 96 DPI)

Table 1: Coefficients of variation for random effects associated with wing brightness.

Model factor	Estimate	Std. Error	T value	Pr(>|t|)
Site SP	0.60	0.37	1.61	0.10
White color	0.61	0.33	1.83	0.06
Black color	-3.99	0.31	-12.66	<2e-16
Red color	-2.16	0.34	-6.35	6.66e-10
Green color	-2.54	0.43	-5.81	1.34e-08
Site SP: White color	-0.71	0.40	-1.75	0.08
Site SP: Black color	-0.56	0.39	-1.42	0.15
Site SP: Red color	-0.57	0.41	-1.38	0.16
Site SP: Green	-0.47	0.53	-0.89	0.37

Table 2: Coefficients of variation for random effects associated with wing saturation.

Model factor	Estimate	Std. Error	T value	Pr(>|t|)
Site SP	-0.04	0.06	-0.57	0.56
White color	-0.19	0.06	-2.92	0.003
Black color	0.19	0.06	3.15	0.001
Red color	0.60	0.06	9.10	<2e-16
Green color	-0.22	0.08	-2.66	0.008
Site SP: White color	0.06	0.07	0.82	0.41
Site SP: Black color	0.05	0.07	0.68	0.49
Site SP: Red color	0.04	0.07	0.57	0.56
Site SP: Green color	-0.02	0.09	-0.20	0.83

For Review Only