

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Estructuración molecular de insectos asociados a papas silvestres y
cultivadas en cultivos de la zona centro de la sierra del Ecuador**

**Disertación previa a la obtención del título de Licenciado
en Ciencias Biológicas**

CHRISTIAN D. SAMANIEGO DÁVILA

Quito, 2010

AGRADECIMIENTOS

Primeramente quiero agradecer a mis padres Danilo y Alexandra por el apoyo brindado todos estos años de carrera y la paciencia de todos estos años de vida. A mis hermanos Pamela y Esteban por enseñarme el verdadero valor de la familia. A mis abuelos, por sus consejos de vida y responsabilidad y sobre todo el cariño brindado. Al resto de mi familia por estar junto a mi en todos los momentos de la vida.

A mis compañeros de carrera con quienes se ha compartido experiencias inolvidables durante todos los años de carrera.

Mi sincero agradecimiento a las instituciones y personas que colaboraron en la realización de este trabajo, al Lic. Jalil Maiguashca por su valioso aporte en esta investigación al brindar sus conocimientos de laboratorio. Al laboratorio de Entomología Molecular de la PUCE y al IRD por el apoyo financiero e institucional. Al Dr. Stépháne Dupas por compartir sus valiosos conocimientos y por su guía durante estos dos años de investigación. Al Dr. Rommel Montúfar por su valiosa colaboración desde el inicio de esta investigación y por habernos permitido utilizar el laboratorio de Genética Molecular. Al Msc. Álvaro Barragán por la revisión y comentarios de los manuscritos. A la Lic. Belén Liger por su colaboración en la realización de los mapas. A Miguel Subía por su ayuda en la identificación de los trips. A Tania Muñoz por su gran aporte a los gráficos de este estudio y sobre todo por estar siempre a mi lado. Al Ms. Juan Pablo Carrera por su amistad y su apoyo desde antes de iniciar la carrera.

Finalmente agradezco a todos mis amigos del barrio, Andrés, Enrique, Pablo, Javier, Diego, Gustavo, Santiago y Juan José. Por su valiosa amistad desde siempre. y mis amigos del Abraxas, Santi, Lenin, Diego y Samir por la diversión de todos los fines de semana y amistad durante todos estos años.

TABLA DE CONTENIDOS

1. RESUMEN.....	1
2. ABSTRACT.....	3
3. INTRODUCCIÓN.....	5
3.1 Generalidades del cultivo de papa en ecuador y sus depredadores.....	5
3.2 Aspectos moleculares de insectos asociados a plantas de importancia económica.....	9
3.3 Objetivos.....	13
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
4.1. Muestreo.....	15
4.2. Extracción de ADN.....	15
4.3. Amplificación de ADN.....	16
4.3.1. Selección de primers.....	16
4.3.2. Reacción en cadena de polimerasa.....	16
4.4. Control de ADN	16
4.5 Purificación de ADN	17
4.6. Secuenciamiento automático.....	17
4.7. Alineamiento de secuencias.....	17
4.8. Análisis de distancias moleculares.....	18
4.9. Análisis de inferencias bayesianas.....	18
4.10. Regresión sobre los vectores propios filogeneticos.....	19
4.11. Definición de unidades operacionales taxonómicas moleculares (MOTU)....	19
4.12. Indicadores de variabilidad genética.....	20
4.13 Distancia media geográfica y rango geográfico.....	20

4.14 Factores de estructuración genética.....	20
5. RESULTADOS.....	22
5.1. Muestreo, extracciones PCR y secuenciamiento automático.....	22
5.1 Árboles filogenéticos	23
5.2.1.1.Lepidóptera.....	23
5.2.2. <i>Epitrix</i> spp.....	23
5.2.3. Thripidae.....	24
5.1.1.4. Aphididae.....	24
5.3. Inercia Filogenética.....	24
5.4. Distancias Moleculares.....	25
5.5. Ubicación de Unidades Taxonómicas en Árbol filogenético.....	25
5.5.1. Lepidóptera	25
5.5.2. <i>Epitrix</i> spp.....	26
5.5.3 Thripidae.....	26
5.6 . Rango Geográfico, diversidad haplotípica y nucleotídica.....	27
5.7. AMOVA.....	27
6. DISCUSIÓN.....	29
7. LITERATURA CITADA.....	36
8. FIGURAS.....	47
9. TABLAS.....	63
10. ANEXOS.....	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Mapa general de localidades del área de estudio.....	48	61
Figura 2	Mapa de localidades de la provincia de Pichincha	49	63
Figura 3	Mapa de Localidades de la provincia de Cotopaxi.....	50	65
Figura 4	Mapa de Localidades de la provincia de Tungurahua....	51	67
Figura 5	Localidades de la provincia de Bolívar.....	52	
Figura 6	Fotografía de un gel de Agarosa al 1,2%	53	68
Figura 7	Árbol filogenético de Lepidóptera.....	54	68
Figura 8	Árbol filogenético de <i>Epitrix</i> spp.....	55	69
Figura 9	Árbol filogenético de thrips.....	56	
Figura 10	Árbol filogenético de Aphididae.....	57	70
Figura 11	Histograma de las Distancias Moleculares de Lepidóptera.	58	
Figura 12	Histograma de las Distancias Moleculares de <i>Epitrix</i> spp.	59	71
Figura 13	Histograma de las Distancias Moleculares de Thrips..	60	
Figura 14	Regresión lineal de Distancia Geográfica y Diversidad Nucleotídica Para <i>Epitrix</i> spp.....	61	71
Figura 15	Regresión lineal de Distancia Geográfica y Diversidad Nucleotídica Para <i>Epitrix</i> spp.....	62	71

73

75

76

77

78

78

79

79

80

81

LISTA DE TABLAS

81

82

Tabla 1	Datos de colecta, Extracción y PCR de Lepidóptera.....	64
Tabla 2	Datos de colecta, Extracción y PCR de <i>Epitrix</i> spp.....	66
Tabla 3	Datos de Colecta, Extracción y PCR de Thrips.....	68
Tabla 4	Datos de Colecta, Extracción y PCR de Aphididae.....	70
Tabla 5	Regresión de la Asociación a papas cultivadas sobre los vectores propios Filogenéticos.....	71
Tabla 6	AMOVA <i>Epitrix</i> spp.	71
Tabla 7	AMOVA Thripidae.....	72
Tabla 8	Valores de distancias Geográficas y Diversidad Haplotípica y Nucleotídicas.....	73
Tabla 9	Valores Distancia Geográfica, Diversidad haplotípica y nucleotídica para Thripidae.....	74
Tabla 10	Regresión lineal entre la distancia geográfica y la diversidad genética en <i>Epitrix</i> spp. asociados a <i>S. tuberosum</i> (Cultivo) y los asociados a papas silvestres (Silvestre).....	75
Tabla 11	Regresión lineal entre la distancia geográfica y la diversidad genética en los thrips asociados a <i>S. tuberosum</i> (Cultivo) y los asociados a papas silvestres (Silvestre).....	75

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1	Extracción de ADN Protocolo Fenol-Cloroformo.....	77
Anexo 2	Adulto de <i>Phthorimaea operculella</i>	79
Anexo 3	Adulto de <i>Tecia solanivora</i>	80
Anexo 4	Adulto de <i>Symmetrischema tangolias</i>	81
Anexo 5	Adulto de <i>Epitrix tuberis</i>	82
Anexo 6	Adulto de <i>Epitrix cucumeris</i>	82
Anexo 7	Adulto de <i>Epitrix similaris</i>	83
Anexo 8	Adulto de <i>Epitrix fuscula</i>	83
Anexo 9	Adulto de <i>Epitrix hirtipennis</i>	84
Anexo 10	Adulto de <i>Thrips tabaci</i>	84
Anexo 11	Adulto de <i>Thrips palmi</i>	85
Anexo 12	Adulto de <i>Frankliniella occidentalis</i>	85

1. RESUMEN

Los procesos evolutivos y la competencia aparente tienen mucha importancia en agroecología para entender la relación entre ambientes silvestres y cultivados. Actualmente, no se conocen bien el proceso de competencia aparente entre las papas cultivadas y sus parientes silvestres en el Ecuador en lo que respecta a los insectos fitófagos que atacan ambos tipos de plantas. Entre los principales depredadores de la papa cultivada *Solanum tuberosum* en el Ecuador, se encuentran 4 grupos de insectos, el orden Lepidóptera, *Epitrix* spp., Thripidae y Aphididae. Se desconoce la relación filogenética y poblacional entre los insectos de las papas silvestres y los insectos de las papas cultivadas en la sierra ecuatoriana. Se realizó un análisis poblacional con marcadores moleculares. Se muestrearon insectos de los 4 grupos en 5 especies de papas incluyendo *S. tuberosum* en 4 regiones del Ecuador. Los fragmentos de ADN del marcador mitocondrial COI fueron secuenciados exitosamente en 174 insectos. El análisis filogenético con métodos bayesianos demostró una separación clara entre insectos de plantas cultivadas y insectos de plantas silvestres en Lepidóptera (la ausencia de insectos silvestres en el cultivo y la ausencia de insectos del cultivo en plantas silvestres). La inercia filogenética (fuerza que impide el cambio de hospedero) es mayor en lepidópteros, intermedio en Thrips y bajo en *Epitrix* spp. Existió intercambio poblacional entre compartimientos silvestres y cultivados en los dos últimos grupos. En Aphididae se encontraron especies por la mayoría generalistas potencialmente peligrosas para el cultivo. Para los grupos como *Epitrix* spp. y Thripidae la frontera cultivo/silvestre es permeable. El cultivo intensivo en el páramo o en zonas de conservación, podría ocasionar un daño indirecto a las *Solanum* silvestres y a los recursos genéticos en época de crecimiento de poblaciones de estos grupos de insectos

plagas del cultivo. Para lepidópteros la frontera cultivo/silvestre parece impermeable. Los insectos del cultivo se encuentran al rededor de las plantas silvestres sin atacarles. Estudios de comportamiento podrían determinar si unas papas silvestres podrían ser utilizadas como plantas trampas para proteger al cultivo en sierra del Ecuador.

PALABRAS CLAVE: Marcador molecular COI, Inercia filogenética, Unidad Molecular Taxonómica Operacional.

2. ABSTRACT

Evolution processes and apparent competition in agroecology are very important in order to understand the relationships between wild and cultivated environments. Currently, there is no information about the apparent competition between cultivated potatoes and their wild relatives in Ecuador in relation to phytophagous insects attacking both types of plants. Among the main predators of the cultivated potato *Solanum tuberosum* in Ecuador, include 4 insect groups: Lepidóptera, *Epitrix* spp., Thripidae and Aphididae. Population genetic relationships among wild potato insects and insects of cultivated potatoes in andean crops of Ecuador is unknown. Population analysis was performed with molecular markers. Insects were sampled in 5 groups of 4 potato species including *S. tuberosum* in 4 regions of Ecuador. DNA fragments of mitochondrial marker COI were sequenced successfully in 174 insects. The Bayesian methods for phylogenetic analysis showed a clear separation between insects of cultivated and wild hosts in Gelechiidae (the absence of wild hosts insects in the crop and the absence of cultivated hosts insects in crop plants). Phylogenetic inertia (traits that prevents the change of host) is greater in Lepidóptera, intermediate and low *Epitrix* spp. y Thripidae. There were population exchange between wild and cultivated compartments in the two latter groups. Aphididae were found to be generalist species potentially dangerous to the crop. For groups like *Epitrix* spp. and Thripidae the border and crop / wild is permeable. Intensive farming in the wild habitats or conservation areas, may cause indirect damage to wild *Solanum* and genetic resources in times of growth of populations of these groups of insect crop pests. Lepidópteran crop / wild border seems to be impermeable. Crop insects were found around the plants without attacking them. Behavioral investigation could determine whether a wild potato plants

could be used as traps for crop protection in the Andes of Ecuador.

KEY WORDS: Molecular marker COI, Phylogenetic inertia, Molecular Operational Taxonomic Unit.

3. INTRODUCCIÓN

3.1 GENERALIDADES DEL CULTIVO DE PAPA EN ECUADOR Y SUS DEPRADADORES

El cultivo del tubérculo de la papa representa una fuente alimenticia importante, principalmente en las regiones altas del país, es también considerada una de las actividades agrícolas que más aporta a la economía de las comunidades rurales, aproximadamente 42.000 familias están dedicadas al cultivo de papa. La producción masiva de papa es considerada un elemento esencial para la economía del Ecuador (Andrade *et al.*, 2002).

El cultivo de papa *Solanum tuberosum* L. (Solanaceae) en el Ecuador está distribuida a lo largo de la sierra, principalmente en terrenos irregulares y laderas, con un rango altitudinal de 2800 a 3800 m.s.n.m. en los pisos andinos, interandinos y subandinos. Las precipitaciones son de carácter bimodal, es decir, de febrero a mayo; y de octubre a diciembre. La principal estación seca o de verano ocurre de junio a agosto. Entre los días finales de diciembre y comienzos de enero existe un periodo menos lluvioso. Los factores como la temperatura, humedad y latitud, en la sierra ecuatoriana hacen que exista una producción vegetal elevada y relativamente constante, por este motivo y a pesar de la bimodalidad estacional, la producción de papa ocurre todo el año, así el cultivo continuo facilita el mantenimiento de una población continua de fitófagos (Andrade *et al.*, 2002).

Uno de los problemas que afectan tanto la calidad como la producción en cultivos son las plagas de insectos (Gallegos *et al.*, 2002). Cuando existen monocultivos, los insectos

fitófagos presentan una mayor colonización, mayor reproducción, la permanencia en el cultivo es continua, se supone que no tienen mayor problema en encontrar el cultivo y también existe una menor mortalidad por enemigos naturales. Para obtener rendimiento estable, existen estrategias que incluyen la implementación de policultivos (Root, 1973; Nicholls y Altieri 2002), de esta manera las plagas de insectos disminuyen a medida que la diversidad vegetal aumenta. Aparentemente, mientras más diverso es el agroecosistema y mientras menos perturbada está la diversidad, los nexos tróficos aumentan promoviendo la estabilidad poblacional de los insectos. Es decir, la estabilidad depende de la respuesta de cada nivel trófico al incremento poblacional en un nivel inferior (Nicholls y Altieri 2002).

Los insectos depredadores de la papa cultivada *Solanum tuberosum* en el Ecuador que se incluyen en este estudio son 4 grupos: El género *Epitrix* (Coleoptera: Chrysomelidae) (Seeno y Andrews 1972, Kabaluk *et al.*, 2000), especies de la familia Gelechiidae (Lepidóptera) (Puillandre *et al.* 2008), especies de Thripidae (Thysanóptera) (Asokan *et al.*, 2007, Glover *et al.* 2010), especies de Aphididae (Gallegos, 2002).

Se conocen tres especies invasoras de polillas que atacan a la papa en América Latina: *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873) (Anexo 2), *Tecia solanivora* (Povolny 1973) (Anexo 3), *Symmetrichema tangolias* (Gyen, 1913) (Anexo 4); pertenecientes a la familia Gelechiidae. Los adultos de *T. solanivora*, depositan sus huevos cerca de los tallos de la planta, coinciden con el período de tuberización, o en los almacenes. Las larvas atacan a los tubérculos. *Tecia Solanivora* Es una especie endémica de Guatemala y su dispersión ha sido rápida desde Guatemala (detectado en 1956), hasta Ecuador (detectado en 1996), pasando por Costa-Rica (1970), Venezuela (1983), y Colombia (1985) (Puillandre *et al.*, 2008).

El género *Epitrix* spp. (Chrysomelidae: Coleoptera), es importante en la agricultura por atacar a plantas solanáceas, los adultos al follaje y las larvas a las raíces (Seeno y Andrews 1972; Vernon y Thompson, 1991). Generalmente este género está asociado con plantas de la familia Solanáceae sin embargo se pueden alimentar de plantas de otras familias cuando no hay cultivo (América y América, 2005). 5 especies en este género son consideradas plagas en cultivos de papa: *Epitrix tuberis* (Gentner, 1944) *E. cucumeris* (Harris, 1851), *E. similaris* (Gentner, 1944), *E. fuscula* (Crotch, 1873) y *E. hirtipennis* (Melsheimer, 1847) (Arnett, 2000; Seenó & Andrews, 1972), ciertas especies han adquirido una gran distribución en El Caribe, Sudamérica y recientemente en Europa. (Boavida y Germain 2009). El origen *E. tuberis* (Anexo 4) es el estado de Colorado (U.S.A.). Ésta especie tiene una distribución amplia en EEUU y es considerada la especie más peligrosa en cuestiones de producción de papa. La especie ha sido reportada en Jamaica, República Dominicana y Puerto Rico (América y América, 2005), pero su distribución fuera de estos países es poco conocida. En relación con el cambio de planta hospedera, se ha estudiado el efecto de la rotación del cultivo. Se demostró que existe un mayor número de poblaciones en un cultivo que no tiene rotación, en comparación con un cultivo rotativo, es decir un crecimiento lineal de infestaciones en relación con el número de años de cultivo de papa y del costo en insecticidas (Kabaluk y Vernon, 2000). *Epitrix cucumeris* (Anexo 5), es considerado el segundo en importancia económica, tiene una generación por año, no tienen la capacidad de volar, se alimentan del follaje de plantas jóvenes. Aunque todas estas especies han sido reportadas en *Solanum tuberosum* en Norteamérica y es la única especie reportada en el Ecuador (América y América, 2005), no se conoce bien el rango de plantas hospederas y de distribución geográfica. *E. similaris* (Anexo 6), existe poca información sobre su origen preciso, se cree que es una especie nativa de USA (Gentner 1944). Igualmente, su

distribución no es muy conocida pero se ha reportado en cultivos de papa en Europa, específicamente Portugal (Boavida & Germain 2009). Con respecto a *E. fuscula* (Anexo 7) y *E. hirtipennis* (Anexo8), la distribución de estas especies es poco conocida, sin embargo, se reportaron en Texas (U.S.A.), asociadas a *Solanum carolinense*, *S. rostratum* y *S. eleagnifolium* (Burke, 1963).

De las aproximadamente 6000 especies de Thrips (Thysanóptera) descritas (Glover *et al.* 2010), pocas son consideradas económicamente importantes, ya que perjudican la salud de los cultivos alimentándose de las plantas y siendo vectores graves de enfermedades virales (Asokan *et al.*, 2007; Glover *et al.* 2010). De las plagas, las principales especies de Thrips (Thysanóptera) que tienen como uno de sus hospederos a plantas de la familia Solanaceae son *Thrips tabaci* (Lindeman, 1888), *Thrips palmi* (Karny, 1925) y *Frankliniella occidentalis* (Pergande. 1895).

T. tabaci (Anexo 9) es una plaga importante de distribución mundial reportado en varias plantas con preferencia por el tabaco, la cebolla, papa, entre otras (Arrieche *et al.* 2006). *T. palmi* (Anexo 10), tiene su origen es el Sur-Este de Asia su capacidad invasiva abarca, en la actualidad, toda Asia, América del Sur, así como también África y Australia (Glover *et al.* 2010). Otra especie de este grupo considerada como plaga es *Frankliniella occidentalis* (Anexo 11) la cual ha ampliado su rango de distribución en los últimos quince años hasta invadir la región neotropical. (Mound y Marullo 1996)

Existen dos especies de pulgones que son considerados plaga en los cultivos de papa *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) Sulzer y *Macrosiphun euphorbiae* (Thomas, 1878). No representa un gran problema para los cultivos pero puede ser también un vector de virus

(Gallegos *et al.*, 2002). Las partículas de los virus que se inoculan a las plantas son retenidos en las partes bucales de estos organismos (Moury *et al.* 2007)

3.2 ASPECTOS MOLECULARES DE INSECTOS ASOCIADOS A PLANTAS DE IMPORTANCIA ECONÓMICA

La caracterización molecular basado en ADN mitocondrial es un método usado ampliamente en estudios de insectos principalmente los grupos que son considerados de importancia económica (Cánovas *et al.* 2002; Brunner *et al.* 2002; Lanteri, 2007).

El primer uso de la caracterización molecular es para apoyar a la taxonomía. Con la rapidez de los métodos moleculares actuales se podría lograr identificar especies en el futuro sin la colaboración de un taxónomo morfológico (Savolainen *et al.* 2005). Ciertas especies de los grupos Chrysomelidae, Aphidae, Gelechiidae y Thysanóptera de importancia para el cultivo de la papa, son cercanamente relacionadas entre sí y su identificación es complicada, sin la ayuda de un experto (Brunner *et al.* 2002).

Los estudios sobre la genética de insectos fitófagos y de los factores que influyen en su estructura genética han sido considerablemente profundizados en la última década (Costa y Ross 1994; Després *et al.* 2002; Álvarez *et al.* 2007). Entre estos se destaca el análisis molecular de los insectos de ambientes silvestres y cultivados (Thomas *et al.* 2003) Por otro lado, existen también varias publicaciones sobre la estructura genética de poblaciones de fitófagos en ambientes de cultivo (Álvarez *et al.*, 2007). Los insectos fitófagos están presentes tanto en hábitats silvestres como en cultivados y la distribución de

variación genética puede estar sujeta a flujo génico, selección, mutación, deriva génica y otros factores relacionados (Roderick, 1996), también puede existir una pérdida de diversidad genética de insectos endémicos debido a su domesticación en los cultivos. Se puede decir que no hay datos sobre los insectos de la papa a pesar de su importancia económica, de sus estatus invasor y del potencial impacto sobre los recursos genéticos.

La importancia de estudios, a nivel molecular, en plagas de cultivos es amplia ya que existen varios tratamientos contra plagas que requiere la identificación de especies correctamente y sin ambigüedades. De igual manera la utilización de métodos de sistemática molecular ha permitido la reconstrucción e interpretación de árboles filogenéticos a partir datos de ADN. (Brunner y Fleming, 2002). El gen mitocondrial Citocromo oxidasa 1, propuesto como una potencial herramienta molecular de Barcoding de ADN, es considerado ventajoso por su nivel de diferenciación adecuado al nivel taxonómico intraespecíficos y entre especies próximas. También en la identificación de especies, en ciencias forenses y estudios ecológicos, posee gran potencial para determinar la estructura geográfica a nivel de poblaciones, es decir, la distribución y abundancia de genotipos entre y dentro de las poblaciones (Rivera 2009). Especialistas concuerdan en que COI es un importante marcador molecular para identificar «Molecular Operacional Taxonomic Units» MOTU, término que alude a grupos de individuos con secuencias similares (Floyd *et al.*, 2002; Blaxter, 2004; Blaxter *et al.*, 2005). La identificación de MOTU puede ser útil, tanto en estudios taxonómicos como en estudios ecológicos o de especiación. El objetivo de la definición de unidades taxonómicas moleculares es la determinar la existencia de un umbral de diferencia genética entre el nivel intra e interespecífico (Blaxter *et al.*, 2005; Lanteri 2007).

Dado que el polimorfismo es un fenómeno muy común en insectos y que muchas veces sólo puede ser detectado mediante electroforesis de alozimas, AFLP, microsatelites o secuenciación de ADN, en el caso particular de este estudio ADN mitocondrial, estas técnicas resultan fundamentales para el monitoreo de sus poblaciones (Samways, 1994). El marcador COI debido a su baja tasa de recombinación representa por lo general un solo linaje y son adecuados para reconstruir relaciones filogenéticas y la historia de especies. Al nivel intraespecífico son utilizados para estudiar la filogeografía, o como se diferencian los linajes en relación con la separación geográfica o ecológica (Avice, 2000). Estudios sobre la diversidad genética del género *Aramigus*, sugieren que la diversidad genética de *Aramigus tessellatus* presenta niveles altos con varios linajes dentro de un solo grupo monofilético y varios haplotipos mitocondriales, mientras que las especies restantes de éste género exhiben una diversidad genética menor debido a su rango geográfico restringido (Lanteri *et al.*, 2002).

El Ecuador es uno de los países más diversos en cuanto a papas silvestres que producen tubérculos. Las especies de insectos plagas de la papa cultivada podrían afectar a la supervivencia y la reproducción de las especies silvestres si éstas son atacadas, porque los insectos pueden llegar a niveles poblacionales muy altos (Hijmans y Spooner, 2001). Este mecanismo de competencia aparente entre especies de plantas mediante el organismo que las consume, demostró tener gran importancia en el bosque tropical (Morris *et al.*, 2004) y en las especies de plantas desplazadas por los depredadores invasores (Orrock y Witter, 2009). Por lo general, no se ha tomado en consideración la competencia aparente para entender el efecto indirecto de las especies invasoras de plagas agrícolas sobre el medio ambiente.

En cuanto a los insectos plagas de la papa que son invasores en Ecuador, no se conoce la estructuración genética y la relación poblacional entre insectos que tienen como hospederos papas cultivadas y silvestres. Debido a que no existen muchos datos moleculares sobre los insectos de la papa a pesar de su importancia económica, de su estatus invasor y del potencial impacto sobre los recursos genéticos es necesario el análisis molecular de insectos cuyos hospederos son tanto *Solanum tuberosum* cultivadas como *Solanum* sp. silvestres para saber si las mismas poblaciones atacan a las plantas silvestres y cultivadas.

Actualmente, no son bien conocidas las interacciones indirectas de competencia aparente entre las papas cultivadas y sus parientes silvestres en el Ecuador, en lo que respecta a los insectos fitófagos, los cuales atacan ambos tipos de plantas. Este proceso depende de la capacidad de las especies de cambiar de hospedero entre plantas silvestres y cultivadas. En el Ecuador, dentro de estos grupos, no existe información a nivel poblacional y sus relaciones filogenéticas de los insectos que tienen una asociación tanto con papas silvestres y los insectos de papas cultivadas. La capacidad de un grupo de insectos a cambiar de planta puede variar entre grupos de insectos plagas. La inercia filogenética puede ser definida como la influencia de un ancestro sobre sus descendientes en un carácter (Grafen, 1989). Para los insectos asociados a papas silvestres se trata de las limitaciones genéticas al cambio de hospedero, y la asociación al nuevo recurso cultivado. El concepto de inercia filogenética ha evolucionado con el tiempo (Blomberg y Garland, 2002) pero puede hoy en día ser definido como las limitaciones no adaptivas al proceso evolutivo. Se han desarrollado varios métodos para estimar la inercia filogenética. Consisten en métodos de estimación de la proporción de la variación en un carácter que depende de la proximidad filogenética. Para las especies que no carecen de inercia y que

cambiaron de planta hospedera con la aparición de la agricultura, pero que mantienen poblaciones silvestres, es importante conocer si se están en un proceso de diferenciación entre poblaciones silvestres y cultivadas. Los métodos de filogeografía resultan útiles para determinar las distribuciones de las poblaciones de insectos asociados a papas silvestres y cultivadas en la zona centro de la Sierra del Ecuador.

3.3 OBJETIVOS

General

Utilizar el fragmento del gen mitocondrial Citocromo oxidasa 1 para analizar la estructuración poblacional y la estimación de la inercia filogenética de la relación a la planta hospedera de insectos asociados a la papa en la región centro de la sierra del Ecuador, en compartimentos cultivados y silvestres.

Específicos

- Analizar el fragmento del gen mitocondrial Citocromo oxidasa 1 de los insectos asociados a papas silvestres y cultivadas en diferentes regiones del Ecuador.
- Conocer el nivel de diversidad molecular de las especies en relación con el estatus invasivo y con asociación con papas silvestres o cultivadas
- Comparar la diversidad molecular de los grupos asociados a papas silvestres

y cultivadas

- Estimar la inercia filogenética actuando sobre la fidelidad a la planta hospedera

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 MUESTREO

Se realizaron colectas de 4 grupos de insectos en cultivos y alrededores en 5 provincias del Ecuador (Figura 1): Pichincha (Figura 2), Cotopaxi (Figura 3) Tungurahua (Figura 4) y Bolívar (Figura 5) sobre plantas de *Solanum tuberosum* en cultivos y *Solanum* sp. silvestres (*Solanum nigrescens*, *Solanum patulum*, *Solanum tuberosum*, *Solanum americanum*, y otras plantas de Solanaceae como *Datura stramonium* y *Physalis peruviana*). Los individuos de Lepidóptera fueron colectadas con cartulinas con pegante cercando los tallos de las plantas. Los individuos pertenecientes a grupos de áfidos Aphididae: Hemiptera, Thripidae: Thysanóptera y el género *Epitrix* spp. (Chrysomellidae: Coleoptera), fueron colectados manualmente, tomando la hoja de la planta y colocándola en un envase de plástico con tapa. Las muestras analizadas estuvieron sumergidas en alcohol al 95%, en un tubo ependorf de 1.5 ml, hasta su respectiva extracción y amplificación.

4.2 EXTRACCIÓN DE ADN

Para el procedimiento de extracción de ADN, el protocolo utilizado fue el de separación de fase por centrifugación con Cloroformo: Alcohol- isoamílico 24:1 (Anexo 1). En el caso de las extracciones de los individuos del orden Lepidóptera se utilizó únicamente la cabeza y el tórax. Para el resto de grupos analizados se utilizó todo el individuo.

4.3 AMPLIFICACIÓN DE ADN

4.3.1 SELECCIÓN DE PRIMERS

Un fragmento de 710 pb. del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa 1, con las parejas de primers LCO1490 GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG; y HCO2198 TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA (Folmer *et al.*, 1994).

4.3.2 REACCIÓN EN CADENA DE POLIMERASA (PCR)

Las amplificaciones del ADN de doble cadena se las realizaron utilizando la reacción estándar en cadena de de polimerasa (PCR). El mix para la PCR incluye, en un volumen final de 20 μ l, 2 μ l de Buffer de reacción (Invitrogen), 0.4 μ l de dNTPs (Invitrogen), 1.2 μ l de MgCl₂ (Invitrogen) 2 μ l de Primers, 2 μ l de ADN de las muestras de los cuatro grupos de insectos, 0.1 μ l de Taq Polimerasa platinum (Invitrogen) y 12.3 μ l de H₂O ultra pure (Invitrogen). El programa consistió en 1 ciclo de 94°C por 90s, 30 ciclos de 60°C por 60s, una temperatura de anillamiento de 50°C por 60s y 72° por 60s y un ciclo de 72° por 7 min (Anderson y Haygood 2007).

4.4 CONTROL DE ADN

Para los productos de extracción y las amplificaciones, el control se realizó mediante electroforesis horizontal en gel de Agarosa al 1,2%, sumergido en Buffer TBE (Tris-Borato-EDTA), con tinción de bromuro de etidio.

Se cargaron 2 μ l de muestra junto con 2 μ l de buffer de carga (azul de bromo-fenol) y adicionalmente se añadió 4 μ l de una escalera low mass de ADN (Invitrogen). Finalmente se procedió a tomar una fotografía para facilitar el registro de presencia de amplificaciones correctas (Figura 6).

4.5 PURIFICACIÓN DE ADN

Las amplificaciones de la reacción en cadena de polimerasa fueron purificados a partir del kit de purificación PURELINK (INVITROGEN), en el Genoscope de Evry-Francia.

4.6 SECUENCIAMIENTO AUTOMÁTICO

El secuenciamiento automático se llevó a cabo en el Genoscope de Evry-Francia. (Genoscope - Centre National de Séquençage, 2009).

4.7 ALINEAMIENTO DE SECUENCIAS

Los fragmentos secuenciados fueron ensamblados y editados usando el programa Seqman (DNASTAR Inc., Madison, Wisconsin, USA). El alineamiento de secuencias múltiples con cluster jerárquico fue realizado con Multalin (Corpet, 1988) y el programa Mega 4.0 (Tamura *et al.*, 2007) fue utilizado para editar y realizar cortes en los extremos de las secuencias. Se realizó un BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) para asegurar que las secuencias no pertenezcan a otros grupos que no correspondan a este estudio.

4.8 ANÁLISIS DE DISTANCIAS MOLECULARES

Con el fin de diferenciar niveles intra e interespecíficos de los individuos de cada grupo a partir de las distancias moleculares se recurrió primeramente a la selección del mejor modelo de sustitución nucleotídica utilizando el programa jModeltest (Posada, 2008), utilizando el criterio de información Akaike (AIC) (Akaike, 1974). Las distancias moleculares de las secuencias fueron calculadas usando el programa Mega 4.0 con las siguientes modelos de sustitución, disponibles en el software: Para Lepidóptera el modelo Kimura 2 (K80), el cual toma en cuenta los rangos de sustitución por transición y transversión asumiendo que las frecuencias de los cuatro nucleótidos son las mismas y los rangos de sustitución no varían entre sitios (Kimura, 1980). *Epitrix* spp. y Thripidae: Tajima Nei, este modelo igualmente asume una igualdad entre rangos de sustitución entre sitios y entre transiciones y transversiones (Tajima y Nei 1984). Con las matrices de distancia proporcionadas para cada grupo se diseñó un histograma recurriendo al programa R (R Development Core Team, 2010), aplicando la biblioteca datadist. El criterio utilizado para definir unidades intraespecíficas es de $< 5\%$ e interespecíficas de $>5\%$

4.9 ANÁLISIS DE INFERENCIAS BAYESIANAS

Los análisis bayesianos se realizaron para estimar la filogenia de cada grupo y relacionarlo con la planta en la que se colectó y la provincia, se utilizó el programa MrBayes versión 3.1.2 (Huelsenbeck and Ronquist, 2001) Se corrieron análisis utilizando el algoritmo de la cadena de Marcov de Monte Carlo (Marcov chain Monte Carlo: MCMC), con cuatro cadenas por 4 000 000 de generaciones para lepidóptera. 1 000 000 para *Epitrix* spp. 1 300 000 para Thripidae y 1 000 000 para Aphididae. Los modelos de sustitución

seleccionados por jModeltest mencionados en la parte 4.8 fueron los mismos para MrBayes.

4.10 REGRESIÓN SOBRE LOS VECTORES PROPIOS FILOGENÉTICOS.

Con el fin de estimar la inercia filogenética de la asociación a papas silvestres o cultivadas se hizo un análisis de regresión del carácter “asociación a papas cultivadas o silvestres” con las coordenadas de las especies en los vectores propios filogenéticos (Phylogenetic eigenvector regression Diniz-Filho *et al.* 1998, Abouhief 1999). Este método empieza por un análisis en coordenadas principales de las distancias filogenéticas entre individuos y permite localizar cada individuo / especie en un espacio filogenético de ejes independientes, los ejes representan las dicotomías principales y secundarias del árbol, y el valor de cada especie / individuo, la situación del individuo en relación con estas dicotomías. Luego se realiza una regresión entre la asociación a plantas silvestres o cultivadas, y los valores filogenéticos. El porcentaje de variancia explicada es una estimación de la inercia filogenética, o de la correlación dentro de las unidades filogenéticas.

4.11 DEFINICIÓN DE UNIDADES OPERACIONALES TAXONÓMICAS MOLECULARES (MOTU)

Los MOTU fueron definidas a partir de los histogramas de distancias moleculares diseñados en base a la matriz de distancia, y las unidades fueron ubicadas en cada uno de los árboles filogenéticos de los grupos. Con la finalidad de estimar la diversidad específica

dentro de cada grupo se calculó el índice de diversidad de Simpson, el cual representa la probabilidad de que dos individuos, dentro de un hábitat, seleccionados al azar pertenezcan a la misma especie.

4.12 INDICADORES DE VARIABILIDAD GENÉTICA

La diversidad haplotípica y nucleotídica fue estimada en el programa DNAsp (Librado y Rozas, 2009). Se analizaron las secuencias dentro de cada MOTU y se calculó la diversidad entre individuos que fueron colectados en plantas silvestres y cultivadas separadamente.

4.13 DISTANCIA MEDIA GEOGRÁFICA Y RANGO GEOGRÁFICO

Para estimar si la diversidad genética entre las poblaciones de insectos está relacionada con la distancia geográfica se calcularon los rangos geográficos y las distancias medias entre localidades en R (R Development Core Team, 2010) aplicando la librería *fields* (Reinhard *et al.*, 2010), utilizando las coordenadas UTM de cada localidad muestreada. La regresión de la relación entre rango geográfico y distancias nucleotídicas se obtuvo mediante el programa R utilizando la función *2m* (R Development Core Team, 2010).

4.14 FACTORES DE ESTRUCTURACIÓN GENÉTICA

Las barreras geográficas y ecológicas de estructuración de la diversidad molecular de los insectos se calcularon con el método AMOVA (Excoffier *et al.* 1992) en el programa R (R Development Core Team, 2010), aplicando la librería *pegas* (Paradis, 2010), considerando

modelos jerárquicos entre Localidad/MOTU/planta, para inferir la relación entre las distancia y la asociación a la planta, la asociación planta. Se realizaron dos análisis, el primero se basó en la utilización de todas las secuencias de cada uno de los grupos. En el segundo se considera a los individuos pertenecientes a un MOTU en particular.

5. RESULTADOS

5.1 MUESTREO EXTRACCIONES PCR Y SECUENCIAMIENTO AUTOMÁTICO

De las localidades muestreadas fueron recolectados un total de 463 individuos de los cuales 118 pertenecen al orden Lepidóptera, 140 a *Epitrix* spp., 174 individuos de la familia Thripidae y 31 de Aphididae.

Del total de individuos de los cuatro grupos mencionados, se seleccionaron 96 que fueron colectados en cultivos, sobre *Solanum tuberosum* y, 151 insectos, que fueron colectados sobre plantas silvestres (en los bosques cercanos o plantas adyacentes a los cultivos) de *Solanum* spp. y otras plantas de la familia Solanaceae (Tablas 1 a 4).

Se obtuvo un total de 247 extracciones exitosas, 75 corresponden Lepidóptera, 70 a Chrysomelidae *Epitrix* spp., 87 a Thripidae y 15 a áfidos. El número de muestras que se relacionan con plantas silvestres fueron 140, mientras que el ADN de los insectos colectados sobre cultivos son 73 (Tablas 1 a 4). Se logró amplificar 210 fragmentos del gen COI. En 192 los resultados fueron óptimos al observar el gel de agarosa (Figura 6).

De las 192 reacciones secuenciadas, se logró secuenciar 177 es decir, no se pudieron editar ni ensamblar 15 amplificaciones secuenciadas porque no fue exitoso el secuenciamiento. Se encontraron 4 regiones de similitud local con secuencias que no pertenecen a los grupos en estudio, específicamente cuatro secuencias de Lepidóptera las cuales tienen una similitud de más del 90% con 2 especies que no conciernen a este estudio (*Saprolegnia*

ferax (Oomycetes) 90% y *Pythium* sp. (Oomycetes) 96%), estas son especies de fitopatógenos.

Cuatro secuencias, pertenecientes al grupo de los áfidos, son similares a cuatro secuencias del Genbank correspondientes a cuatro especies diferentes, éstas son: La secuencia “Aph.pbc.tub.71” es 100% similar a *Mysus ornatus*, “Aph.pb8.nig.71”, 99% de *Brachycaudus helichysi* y Aph.tre.nig.163 se asimila a *Aphis spiraecola* en un 98%.

Las 169 secuencias restantes, tienen regiones de similitud menores a un 90% a las secuencias más próximas en el Genbank pero cada una pertenecientes a su orden correspondiente.

5.2 ÁRBOLES FILOGENÉTICOS

5.2.1 LEPIDÓPTERA

Los insectos lepidópteros (Figura 7) se dividen en dos clados, soportados por valores de bootstrap superiores a 0,90. El grupo 1 está asociado estrictamente a papas cultivadas, el grupo 2 está compuesto de 9 subclados. Unos son asociados a papas silvestres, otros a papas cultivadas. Los subclados que tienen asociación con plantas cultivadas son: 2.1, 2.2, 2.3 2.4.1. Por otro lado los subclados asociados a plantas silvestres son: 2.5, 2.6, 2.7, 2.8 y 2.9.

5.2.2 *Epitrix* spp.

Este árbol (Figura 8) se compone de 1 clado y 7 subclados. Los subclados asociados a plantas cultivadas son: 1.2.3 y 1.2.4. Los subclados que tienen asociación con plantas silvestres son 1.1.1, 1.1.2. Los subclados 1.2.1 y 1.2.2 tienen asociación a ambos tipos de plantas

5.2.3 THRIPIDAE

El filograma de este orden (Figura 9) presenta 5 clados (Que corresponden a rango filogenético inferior. Los subclados 1.2 y 1.3 se asocian con plantas silvestres, el subclado 1.4 tienen asociaciones con plantas cultivadas, por último el subclado 1.5 está asociado a plantas silvestres y cultivadas. Un solo clado, llamado “*Frankliniella* spp.” tiene una asociaciones a los dos tipos de compartimentos.

5.2.4 APHIDIDAE

Solamente se secuenciaron 4 individuos. Pertenecen a 4 especies diferentes *Myzus ornatus* y *Aphis spiraecola* encontrados en compartimentos cultivados, *Brachycaudus helichrysi*, and *Aphis fabae* en compartimentos silvestres. El árbol filogenético (Figura 10) tiene un soporte de Bootstrap no significativo igual a 0,51.

5.3 INERCIA FILOGENÉTICA

Solamente en el grupo Lepidóptera (Tabla 5) se encontró una regresión filogenética significativa $P=0,00001$. *Epitrix* (Tabla 5) puede estar asociado a papas silvestres o cultivadas pero no dependen significativamente de la filogenia $P=0,16658$. En Thrips

(Tabla 5) la regresión filogenética no es significativa pero tiene un valor menor a *Epitrix* spp. $P=0,02652$. Es decir, los grupos de más cercanos filogenéticamente tienen la probabilidad de tener la misma planta hospedera cuando es los valores son significativos.

5.4 DISTANCIAS MOLECULARES

Los histogramas, Lepidóptera (Figura 11) *Epitrix* spp. (Figura 12) y Thysanóptera (Figura 13), demuestran la existencia de un umbral de distancia genética entre el nivel intra e interespecífico, los valores menores a un 5% se consideran a niveles intraespecíficos mientras que los niveles mayores a este umbral se definen como interespecíficos (Ball y Herbert 2005, Beebe y Rowe, 2008). Para los *Epitrix* spp. y Thipidae el umbral corresponde a las distancias menores al 5%. Para el grupo Lepidóptera, se encontró un umbral entre distancias intraespecíficas e interespecífica (Figura 10), pero con muy pocas secuencias tenían distancias genéticas correspondiendo al nivel intraespecífico.

5.5 UBICACIÓN DE UNIDADES TAXONÓMICAS EN ÁRBOL FILOGENÉTICO

5.5.1 LEPIDÓPTERA

Se ubicaron 23 MOTUs (individuos de rango intraespecífico según el criterio del umbral, descrito en la parte 5.3) en el árbol (Figura 7). La mayoría de las secuencias están separadas por una distancia genética de más de 10%, a excepción de 24 secuencias (Figura 11). Utilizando un criterio arbitrario de 5%. Se interpreta como un árbol con una diversidad en su gran mayoría, interespecífica, en total 23 especies. De las cuales 7 contienen a más

de un individuo, las distancias moleculares corresponden al umbral definido para componer unidades taxonómicas moleculares. Los MOTUs L2, L4, L5, L7, L9, L11, L12 y tienen asociaciones estrictas a plantas cultivadas. El resto de unidades muestran asociación por plantas silvestres. Se definen 7 especies de un total de 37 muestras analizadas. Este grupo tiene una diversidad alta, con un índice de diversidad de Simpson de 0.93, entre todos los individuos del grupo.

5.5.2 *Epitrix* spp.

La filogenia de los Coleópteros Chrysomellidae (Figura 8) no sugiere una relación entre la filogenia de los insectos y la planta hospedera. Se observan grupos con asociación preferencial con papas silvestres o cultivadas y otros atacando los dos compartimentos. Fueron ubicados 6 MOTUs dentro del árbol filogenético, el motu E1 está más relacionado con plantas cultivadas, con excepción de tres individuos. En el árbol se observa una diversidad interespecífica.

El grupo E2, E3 y E4 tienen relación únicamente con plantas silvestres. En los MOTUs E1 existe una relación con plantas cultivadas y dos individuos con silvestres. El MOTU E5 está relacionada a ambos tipos de planta, cultivadas y silvestres. El índice de diversidad igual a 0,44 entre todos los individuos del grupo.

5.5.3 THRIPIDAE

Los 2 MOTUs más importantes de este grupo fueron identificados morfológicamente como *Frankliniella* sp. y *Thrips tabaci*, identificados con la ayuda de las claves en (Mound

y Marullo 1996), los cuales contienen a la mayoría de individuos. Los grupos 1.2, 1.3.y 1.4 con 3 o menos individuos se encuentran o en papas silvestres o en papas cultivadas. Las distancias dentro de cada especie es menor al 5%. Muchos individuos se encuentran en papas silvestres y cultivadas. El MOTU *Thrips tabaci* contiene 9 individuos en su mayoría se asocian a plantas silvestres, a excepción de 2. El MOTU *Frankliniella* sp. Comprende a individuos con asociaciones tanto a plantas silvestres como a cultivadas. Los individuos que no pertenecen a los MOTU definidos tienen asociaciones específicas. Este grupo presenta un índice de diversidad de 0,35

5.6 RANGO GEOGRÁFICO, DIVERSIDAD HAPLOTÍPICA y NUCLEOTÍDICA

En las regresiones realizadas no se observan relaciones importantes entre distancias, rangos geográficos y diversidades para *Epitrix* sp. (Tablas 9 y 11) (Figura 14) Por el contrario, Thripidae (Tabla 10 y 12) (Figura 15) tiene una relación significativa. de los grupos analizados.

5.7 AMOVA

El análisis molecular de variancia para los grupos *Epitrix* sp. se presentan en las tabla 6. El análisis jerárquico general (sumando las estadísticas dentro de cada MOTU), de todas las secuencias de este grupo, muestran valores no significativos. en cuanto a la asociación a plantas. En el MOTU E1 la diversidad genética no arroja valores significativos, sin embargo se demuestra que existe una estructuración molecular en cuanto a los factores de asociación a plantas y la domesticación.

El análisis del MOTU E2 no indica una estructuración molecular asociado a plantas, la variación con respecto a la domesticación tiene una variación del 2%. Sin embargo el análisis jerárquico de planta dentro de la domesticación muestra una variación del 19%.

Los valores del análisis de Thysanóptera se presentan en la tabla 7. El AMOVA jerárquico general muestra que la diversidad genética no es significativa en relación a la planta dentro de la domesticación ya que el porcentaje de variación arroja valores no significativos.

6. DISCUSIÓN

Las plagas del cultivo de papa representan un problema para su producción en la sierra ecuatoriana (Gallegos *et al.* 2002). Los marcadores moleculares son considerados útiles en lo que respecta al estudio de plagas y su control (Lanteri, 2007). La aplicación de los métodos moleculares el análisis de diversidad genética y la ecología de insectos plaga determinó una estructuración de poblaciones de los insectos asociados a plantas silvestres y cultivadas.

Los mecanismos de evolución de los insectos, en relación a la asociación a plantas hospedadas, que promueven la diversificación de las especies (Alvarez *et al.* 2007) y la competencia aparente o la competencia entre dos plantas o dos fitófagos, mediante el nivel trófico superior debido a consumidores que atacan las dos plantas o los dos fitófagos es uno de los mecanismos ecológicos más importantes en la estructuración de los ecosistemas (van Veen *et al.* 2005). Este estudio se basa en estos dos mecanismos o procesos para determinar el estatus poblacional de los insectos que atacan a los cultivos de papa en la zona centro de la sierra del Ecuador. La tabla 5 indica la inercia filogenética sobre la asociación a las papas silvestres o cultivadas en los grupos Gelechiidae, *Epitrix* spp. y Thrips respectivamente, es decir la dificultad de los grupos asociados a papas silvestres a cambiarse a plagas del cultivo y viceversa.

En áfidos, solamente se secuenciaron 4 individuos. Pertenecen a 4 especies diferentes especies pertenecientes la familia Aphididae: Hemiptera *Myzus ornatus* y *Aphis spiraecola* encontrados en compartimentos cultivados, *Brachycaudus helichrysi*, and *Aphis fabae* en

compartimentos silvestres, éstas son especies generalistas de áfidos. El árbol filogenético (Figura 10) con un soporte de Bootstrap no significativo igual a 0,51 (este valor podría ser atribuible al poco número de secuencias analizadas) muestra una diversidad importante de Áfidos generalistas atacando a la papa silvestre y cultivada. Estudios de genética de poblaciones podrían determinar si las poblaciones en papas silvestres y cultivadas son las mismas. En caso de intercambio poblacional, el cultivo intensivo de papa en zona protegida o zona de páramo (Robineau *et al.* 2010), podría ocasionar daños a los recursos genéticos del género *Solanum* para la zona andina.

Los análisis de inercia filogenética permiten estructurar la asociación a todos los niveles filogenéticos., los lepidópteros presentan un patrón que sugiere una asociación obligatoria de grupos monofiléticos a plantas cultivadas o silvestres, el grupo Lepidoptera mostró la inercia filogenética, más importante de la asociación a la planta silvestre. Se observa una asociación más específica debido a su alta diversidad. A diferencia de los grupos *Epitrix* sp. y Thripidae, no hay ningún intercambio poblacional entre plantas silvestres y cultivadas. Los cambios de hospedero entre insectos de plantas silvestres y cultivadas es más difícil en Lepidoptera, más fácil en *Epitrix* spp. y en un nivel intermedio en los Thripidae, se demuestra la capacidad de unos grupos taxonómicos a cambiarse a plagas de la papa ya que no existe una inercia filogenética importante.

En Lepidoptera el análisis molecular de variancia no se realizó, debido a que los MOTUS presentan muy pocos individuos y al realizar el análisis en R no se produjeron valores de componentes de variancia. Al tener la mayor inercia filogenética de los tres grupos analizados (Tabla 5), se confirma una separación de las especies de acuerdo a sus compartimentos.

El AMOVA jerárquico general de *Epitrix* presenta valores significativos de variación genética del 55% para la asociación a plantas dentro de las planta silvestres, lo que determina que podría existir un intercambio entre compartimentos, silvestres y cultivados dentro de la población general analizada. De las misma manera, el porcentaje de variación para los MOTU analizados no es significativo (Tabla 6) Esto se puede explicar por el bajo número de individuos y/o la baja diferenciación dentro de cada MOTU. Sin embargo, sumando todos los MOTUs se encuentra una estructuración. El fenómeno de aislamiento por distancia no se aplica en este grupo, las regresiones confirman una estructuración con plantas silvestres. Para Thripidae y *Epitrix* spp., no se encontró estructuración entre plantas silvestres y cultivadas, pero dentro de las plantas silvestres se encontró una estructuración dentro de los MOTUs.

Este estudio revela que existen grupos de rangos específicos que están asociados a papas silvestres y cultivadas. Para saber si realmente hay intercambio poblacional es necesario un análisis de inercia filogenética y variancia molecular dentro de los MOTU. Los resultados muestran que existe tal intercambio entre poblaciones de Thripidae y *Epitrix* spp. que atacan a los dos compartimentos, ya que se podría considerar como la misma población que esta diferenciándose en la actualidad. En cambio, los lepidópteros tienen una separación estricta de asociaciones a plantas silvestres y cultivadas. Sin embargo, son necesarios estudios con marcadores más diversos para confirmar este resultado.

Las regresiones de relaciones entre distancias geográficas promedio y la diversidad nucleotídica para Thripidae (Figura 14) sugieren un modelo de aislamiento por distancia (Álvarez *et al.*, 2007) entre poblaciones de compartimentos cultivados y silvestres (la

diversidad de los clados aumenta significativamente de rango específico con la distancia promedio entre los individuos del clado). Por el contrario, las regresiones de *Epitrix* spp. no revelan este modelo (Figura 15). Este resultado sugiere que la distancia geográfica podría participar en la diferenciación en los trips, pero no en los *Epitrix* spp. Esta capacidad más limitada de migración entre lugares, puede facilitar la diferenciación ecológica en relación con la planta en Thripidae.

Es posible que Thripidae se esté diversificando dentro de los MOTUs específicos en relación con la especialización a la planta, sin embargo hay unas especies invasoras generalistas que realizan intercambio entre compartimentos. Al observar los MOTUs en los árboles (Figuras 7, 8 y 9) se puede considerar un proceso de selección, la que podría actuar en una población de mayor tamaño; si surge una mutación adaptativa, ésta será difundida en todos los insectos de la población de papa domesticada. Si esta adaptación por el contrario se da en insectos de papa silvestre darían origen a razas de insectos de hospederos domesticados y silvestres, los cuales podrían tener cambios en tamaño o composición química de algún carácter (Álvarez, 2007), si no hay estructuración va ser difícil a la adaptación local de desarrollarse. Una de las formas en la que la especialización puede promover la tasa de especiación es mediante la formación de razas de insectos por el uso de diferentes plantas hospederas, incrementando la diferenciación genética.

Otra manera para promover la especiación en insectos especialistas es cuando su único huésped empieza a distribuirse en parches lo que hará que se incremente la diferenciación entre poblaciones. Una posibilidad distinta es que una selección fuerte en poblaciones tan grandes como las de hospederos cultivados puede permitir la diseminación rápida de genes de resistencia haciendo que los insecticidas y otro tipo de control de plagas no surtan

ningún efecto en los cultivos (Álvarez *et al.*, 2007). En un estudio realizado con *Ostrinia nubilalis*, encontró diferentes razas de insectos entre plantas silvestres y cultivadas pero solamente son visibles en el compartimiento nuclear (Thomas *et al.* 2003). Los insectos fitófagos poseen un alto rango de diversificación, los resultados de este estudio concuerdan con otros que muestran una variación significativa en la diversificación en los órdenes de insectos. (Mayhew 2002, Álvarez *et al.* 2007). Las plantas pueden constituir una zona adaptativa, la cual provee una diversidad en insectos que utilizan recursos pueden posibilitar la especialización (Winkler *et al.* 2009).

El intercambio de especies entre compartimentos silvestres y cultivados en Thrips y *Epitrix* spp. sugiere que estas especies invasoras son generalistas. Este carácter generalista puede permitir a una especie convertirse en invasora, porque todos los grupos hermanos que están en plantas silvestres que no son invasoras tampoco se pueden considerar generalistas. Se podría decir que en una especie apareció el carácter generalista y al parecer el grupo pudo haber cambiado su hábito de especialista y convertirse en una especie invasora.

En estas poblaciones se aplica el proceso de competición aparente, el cual se define como los efectos negativos indirectos mediados por enemigos naturales (van Veen *et al.* 2005). Esta fuerza explica muchos de los efectos de las especies invasoras sobre el ecosistema invadido (Orrock *et al.*, 2009). Los datos de evolución de la relación a la planta y de estructuración genética de los grupos intraespecíficos sugieren que las especies comunes de plagas de trips y *Epitrix* spp. Pueden desplazarse entre cultivos y papas silvestres. También la literatura indica que los áfidos que se encontraron en la papa tienen hábitos generalistas y pueden ocasionar fenómenos de competencia aparente entre papas cultivadas y silvestres, estas especies pueden ser vectores de virus y ocasionar daños indirectos a

especies silvestres cercanas del cultivo (Moury *et al.*, 2007, Orrock *et al.* 2010). La competencia interespecífica por recursos determina el efecto negativo de estos insectos invasores sobre las plantas silvestres, los cuales atacan a ambos tipos de compartimentos por su carácter generalista, este carácter es común en *Epitrix* spp., Thripidae y Aphididae. Por otro lado lepidóptera no presenta un carácter generalista al no tener especies que ataquen a los compartimentos silvestre y cultivado.

Estudios en genes nucleares podrían confirmar si realmente hay este intercambio. En el caso de intercambio, el cultivo intensivo en zona de protección puede ocasionar daño debido a los insectos del grupo *Epitrix* spp. y Thripidae, también la literatura indica que los áfidos que encontramos en la papa tienen hábitos generalistas y pueden ocasionar fenómenos de competencia aparente entre papas cultivadas y silvestres mediante el insecto fitófago (Orrock *et al.* 2010).

Una de las aplicaciones de este estudio tienen relación con la definición de MOTUs, se considera ventajoso porque se puede conocer el estatus invasivo del individuo en cuestión, de esta manera se podría interceptar especies invasivas conociendo solamente la secuencia del individuo, sin la necesidad de un experto taxónomo (Lanteri, 2007). Otra posible aplicación tiene que ver con el manejo integrado de plagas. En lepidóptera los MOTUs “silvestres” de nivel específico se encuentran únicamente en plantas silvestres, y los MOTUs “cultivados”, únicamente encontrados en plantas cultivadas. Se observó insectos de MOTUs “cultivados” en el bosque (grupo 1), pero nunca sobre las plantas. Esto sugiere una presencia de los insectos del cultivo en el bosque, pero una posible incapacidad de desarrollo en plantas silvestres (Blackiston *et al.* 2008). En este caso, estas plantas silvestres podrían ser investigadas para su utilización como plantas repelentes alrededor del

cultivo, estrategia “push-pull”, (Khan, 1997). La presencia de insectos “cultivados”, en Thripidae y *Epitrix* spp. en plantas silvestres demuestra su capacidad de visita a estas plantas. Pero no se sabe si pueden desarrollarse en ellas. En el caso que no, podrían constituir plantas “trampas” de los insectos plaga, plantas que atraen al insecto plaga pero no permiten su desarrollo (Khan, 1997). También puede emplearse, en grupos que se asocian únicamente a plantas silvestres, el principio de inducción natal en la preferencia de hábitat, el cual afirma que la experiencia natal en cualquier hábitat induce las preferencias de hábitat en individuos adultos (Davis y Stamps 2004, Blackiston *et al.* 2008). El estudio futuro del comportamiento y de la capacidad de desarrollo de estos insectos (Thripidae y *Epitrix* spp.), en papas silvestres comunes como la hierba mora (*S. nigrescens*) nos permitirá determinar si esta planta puede ser utilizada alrededor del cultivo para el manejo integrado de estos grupos de plagas.

7. LITERATURA CITADA

Abouheif, E., 1999. A method for testing the assumption of phylogenetic independence in comparative data. *Evolutionary Ecology Research*, 1(8): 895–909.

Akaike, H., 1974. A new look at the statistical identification model. *IEEE transactions on Automatic Control*, 19(6): 716–723.

Alvarez, N., Hossaert-McKey M., Restoux G., Delgado-Salinas A., Benrey B. 2007. Anthropogenic Effects on Population genetics of phytophagous insects associated with domesticated plants. *Evolution*, 61(12): 2986-2996.

America, N. & America, S., 2005. *Epitrix cucumeris*. Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes. **35: 363 – 364.**

Anderson, C.M. & Haygood, M.G., 2007. α -Proteobacterial Symbionts of Marine Bryozoans in the Genus *Watersipora*. *Applied and environmental microbiology*, 73(1), 303.

Andrade H., Bastidas O., Sherwood S. 2002. La Papa en Ecuador. En: Pumisacho, M., S. Sherwood. El Cultivo de la Papa en Ecuador. pp. 21-28. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias- Centro Internacional de la Papa, 1ª Edición. Quito - Ecuador.

- Arnett RH. (2000). American Insects. A handbook of the insects of America North of Mexico. 2nd edition, CRC Press (US), pp. 1003.
- Arrieche, N. et al., 2006. Estudios biológicos de Thrips tabaci Lindeman (THYSANÓPTERA: THRIPIDAE) en cebolla, en el Estado Lara, Venezuela. *Bioagro*, 18(3): 149–154.
- Asokan, R. *et al.*, 2007. Molecular differences in the mitochondrial cytochrome oxidase I (mtCOI) gene and development of a species-specific marker for onion Thrips, Thrips tabaci Lindeman, and melon Thrips, T. palmi Karny (Thysanóptera: Thripidae), vectors of tospoviruses (Bunyaviridae). *Bulletin of entomological research*, 97(05): 461–470.
- Avice, J.C., 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*, Harvard University Press. pp. 109 – 133.
- Ball S., Hebert P. 2005. Biological identifications of mayflies (Ephemeroptera) using DNA barcodes. *The North American Benthological Society*. 24(3):508-524
- Beebee, T.J.C. y Rowe, G., 2008. *An introduction to molecular ecology*, Oxford University Press. pp 89 - 90.

- Blackiston, D.J., Casey, E.S. & Weiss, M.R., 2008. Retention of memory through metamorphosis: can a moth remember what it learned as a caterpillar? *PloS one*, 3(3), pág.1736.
- Blaxter, M. *et al.*, 2005. Defining operational taxonomic units using DNA barcode data. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462): 1935.
- Blaxter, M.L., 2004. The promise of a DNA taxonomy. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 359(1444): 669.
- Blomberg, S.P. & Garland Jr, T., 2002. Tempo and mode in evolution: phylogenetic inertia, adaptation and comparative methods. *Journal of Evolutionary Biology*, 15(6): 899–910.
- Boavida C., Germain J. F. 2009. Identification and pest status of two exotic flea beetle species newly introduced in Portugal: *Epitrixsimilaris* Gentner and *Epitrix cucumeris* (Harris). Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes. (39: 3): **501 – 508**.
- Brunner P., Fleming C., Frey J. 2002. A molecular identification key for economically important Thrips species (Thysanóptera: Thripidae) using direct sequencing and a PCR -RFLP-based approach. *Agricultural and Forest Entomology* 4: 127-136.

Burke H. R. 1963. Coleoptera Associated with Three Species of Solanum in Texas

Author(s): Source: The Southwestern Naturalist 8 (1):53-56.

Cánovas, F., P. de la Rúa, J. Serrano y J. Galián. 2002. Variabilidad del ADN mitocondrial en poblaciones de *Apis mellifera* iberica de galicia (España). Archivos de Zootecnia.Universidad de Murcia. España 51: 441-448.

Corpet, F. 1988. Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. Nucleotidic Acids Research, 16 (22): 10881-10890

Costa, J., Ross K. 1994. Hierarchical genetic structure and gene flow in macrogeographic populations of the Eastern tent Caterpillar (*Malacosoma americanum*). Evolution 48:1158–1167.

Cranshaw, W. 2006. Universidad Estatal de Colorado

U.S.A<<http://www.ext.colostate.edu/pubs/insect/05592.html>>

Davis, J.M. & Stamps, J.A., 2004. The effect of natal experience on habitat preferences.

Trends in Ecology & Evolution, 19 (8): 411–416.

Després L., Pettex E., Plaisance V., Pompanon F. 2002. Speciation in the Globeflower Fly

Chiastocheta spp. (Diptera: Anthomyiidae) in Relation to Host Plant Species, Biogeography, and Morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 22 (2): 258–268.

Diniz-Filho, J. A. F., Sant'Ana, C.E.R. and Bini, L.M. (1998) An eigenvector method for estimating phylogenetic inertia. *Evolution*. 52: 1247–1262.

Elliott B., Northover P. 2007 Manitoba Agriculture, Food and Rural Initiatives Soils and Crops Branch, Carman < <http://web2.gov.mb.ca/agriculture/mwvr/>>.

Excoffier L, Smouse P, Quattro J. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*. 1992;131:479–491.

Faculdade de F armacia da Universidade do Porto < http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0708/g19_beladona/oconat.html>

Floyd, R. *et al.*, 2002. Molecular barcodes for soil nematode identification. *Molecular Ecology*, 11(4): 839–850.

Folmer, O. Black M., Hoen W., Lutz R., Vrijenhoek R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5): 294.

Gallegos P., Asaquibay., Forbes., Ochoa.J., Paucar B., Prado M., Revelo J., Sherwood S., Yumisaca F. 2002. Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades. En : Pumisacho, M., S. Sherwood. El Cultivo de la Papa en Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias- Centro Internacional de la Papa, 1^a Edición. Quito - Ecuador pp. 24-25.

Genoscope-Centre National de Séquençage, 2009. <http://www.genoscope.cns.fr/spip/>

Gentner, L.G., 1944. The black flea beetles of the genus *Epitrix* commonly identified as *cucumeris* (Harris) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Proc. Entomol. Soc. Wash*, 46: 137–149.

Glover R. H., Collins D. W., Walsh K., Boonham N. 2010. Assessment of loci for DNA barcoding in the genus *Thrips* (Thysanóptera: Thripidae). *Molecular Ecology Resources* (2010) 10, 51–59 doi: 10.1111

Grafen, A., 1989. The phylogenetic regression. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 326(1233): 119–157.

Hijmans, R.J., Spooner, D.M., 2001. Geographic distribution of wild potato species. *American Journal of Botany*, 88(11): 2101.

Huelsenbeck, J., F. Ronquist. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17:754-755.

Kabaluk, J.T. & Vernon, R.S., 2000. Effect of Crop Rotation on Populations of *Epitrix tuberis* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Potato. *Journal of economic entomology*, 93(2): 315–322.

- Kimura, M., 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of molecular evolution*, 16(2): 111–120.
- Khan, Z.R. *et al.*, 1997. Utilisation of wild gramineous plants for the management of cereal stemborers in Africa. *Insect Science and its Application*, 17(1): 143–150.
- Lanteri, A.A., 2007. DNA barcoding and its possible applications to the field of Entomology. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 66: 15–25.
- Librado, P. and Rozas, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452
- Mayhew, P.J., 2002. Shifts in hexapod diversification and what Haldane could have said. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 269(1494):969.
- Morris, R.J., Lewis, O.T., Godfray, H.C.J. 2004 Experimental evidence for apparent competition in a tropical forest food web *Letters to Nature*, 428: 310-313.
- Mound L.A. & R. Marullo. 1996. The Thrips of Central and South America: An Introduction. *Mem. Entomol., International* 6: 1-488.

- Moury, B., Fabre, F. & Senoussi, R., 2007. Estimation of the number of virus particles transmitted by an insect vector. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(45): 17891.
- Nicholls C., Altieri M. (2002). Bases agroecologicas para el manejo de la Biodiversidad en agroecosistemas: efectos sobre Plagas y enfermedades. Division of Biological Control, University of California, Berkeley.
- Orrock, J.L., Witter, M.S. & Reichman, O.J., 2009. Native consumers and seed limitation constrain the restoration of a native perennial grass in exotic habitats. *Restoration Ecology*, 17(1): 148–157.
- Orrock, J.L., Holt, R.D., Baskett, M.L. 2010. Refuge-mediated apparent competition in plant–consumer interactions *Ecology Letters*, 13: 11–20
- Paradis E. 2010. pegas: an R package for population genetics with an integrated-modular approach. *Bioinformatics* 26: 419-420.
- Posada, D., 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7): 1253.
- Puillandre, N. *et al.*, 2008. Genetic bottleneck in invasive species: the potato tuber moth adds to the list. *Biological Invasions*, 10(3): 319–333.

- R Development Core Team (2010). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL: <http://www.R-project.org>.
- Reinhard Furrer, Douglas Nychka and Stephen Sain (2010). fields: Tools for spatial data. R package version 6.3. <http://CRAN.R-project.org/package=fields>
- Rivera J. M. 2009. Utility of the Cytochrome Oxidase I (COI) for Species Identification and Phylogeographic Analysis in Black Flies (Diptera: Simuliidae). University of Toronto. Toronto - Canadá.
- Robineau, O., Châtelet, Michel-Dounias I., Soulard C., POSNER J. 2010, What are farmers' development options in the context of páramo conservation? A Study Case of Colombia. ISDA 2010, Montpellier 28-30.
- Roderick, G.K., 1996. Geographic structure of insect populations: gene flow, phylogeography, and their uses. *Annual Review of Entomology*, 41(1): 325–352.
- Root, R. B. 1973. Organization of a plant-arthropod association in simple and diverse habitats: The Fauna of Collards (*Brassicae oleraceae*). *Ecological Monographs* 43: 95-124.
- Rueda A., Anthony M.
<<http://www.nysaes.cornell.edu/ent/hortcrops/spanish/Thrips.html>>

Samways M.J.1994. Insect Conservation Biology. Chapman & Hall,. London. pp. 137-138.

[Savolainen V.](#), [Cowan R.](#), [Vogler A.](#), [Roderick G.](#), [Lane R.](#) 2005. Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462): 1805.

Seeno T., Andrews F. 1972. Alticinae of California, Part I: *Epitrix*spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) The Coleopterists Bulletin 26 (2): 53-61

Tajima F., Nei M. 1984. Estimation of evolutionary distance between nucleotide sequences. *Molecular Biology and Evolution* 1:269-285.

Tilman, D., Reich, P.B. & Knops, J.M., 2006. Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment. *Nature*, 441(7093): 629–632.

Tamura, K. *et al.*, 2007. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular biology and evolution*, 24(8): 1596.

Thomas Y., Bethenod M.-T., Pélozuelo L., Frérot B. & D. Bourguet. 2003 Genetic isolation between two sympatric host-plant races of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hübner I – sex pheromone, moth emergence timing and parasitism. *Evolution*. 57: 261-273.

- van Veen, F.J., Morris, R.J. & Godfray, H.C., 2005. Apparent competition, quantitative food webs, and the structure of phytophagous insect communities. *Annual Review of Entomology*, 51(1): 187.
- Vernon, R. S., and D. Thomson. 1991. Overwintering of tuber flea beetles, *Epitrix tuberis* Gentner (Coleoptera: Chrysomelidae), in potato fields. *Canadian Entomologist*. pp. 239 -240.
- Winkler, I.S., Mitter, C. & Scheffer, S.J., 2009. Repeated climate-linked host shifts have promoted diversification in a temperate clade of leaf-mining flies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(43):18103.

8. FIGURAS

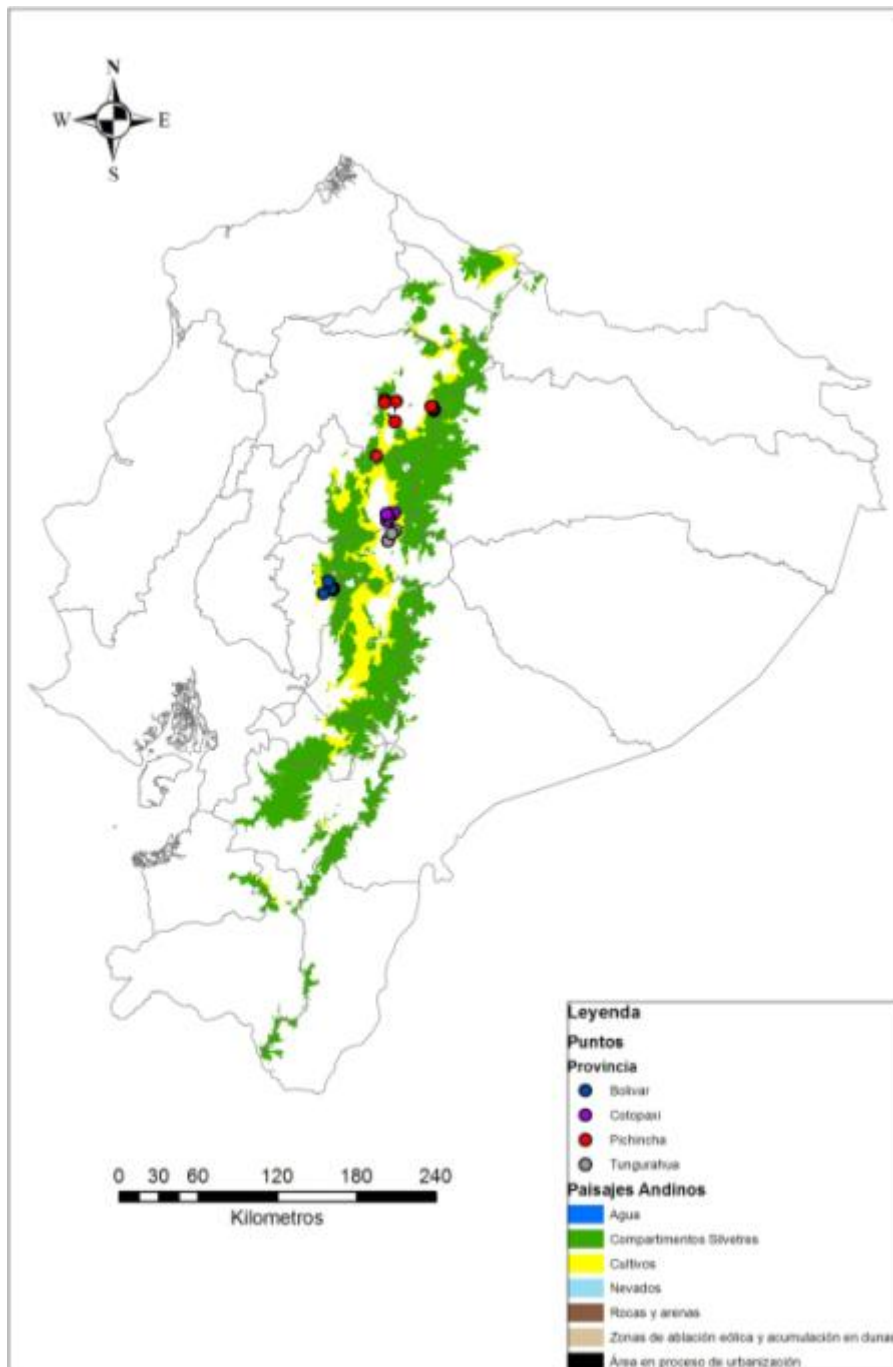


Figura 1: Mapa general de localidades del 1rea de estudio (Realizado por Liger B. 2010).

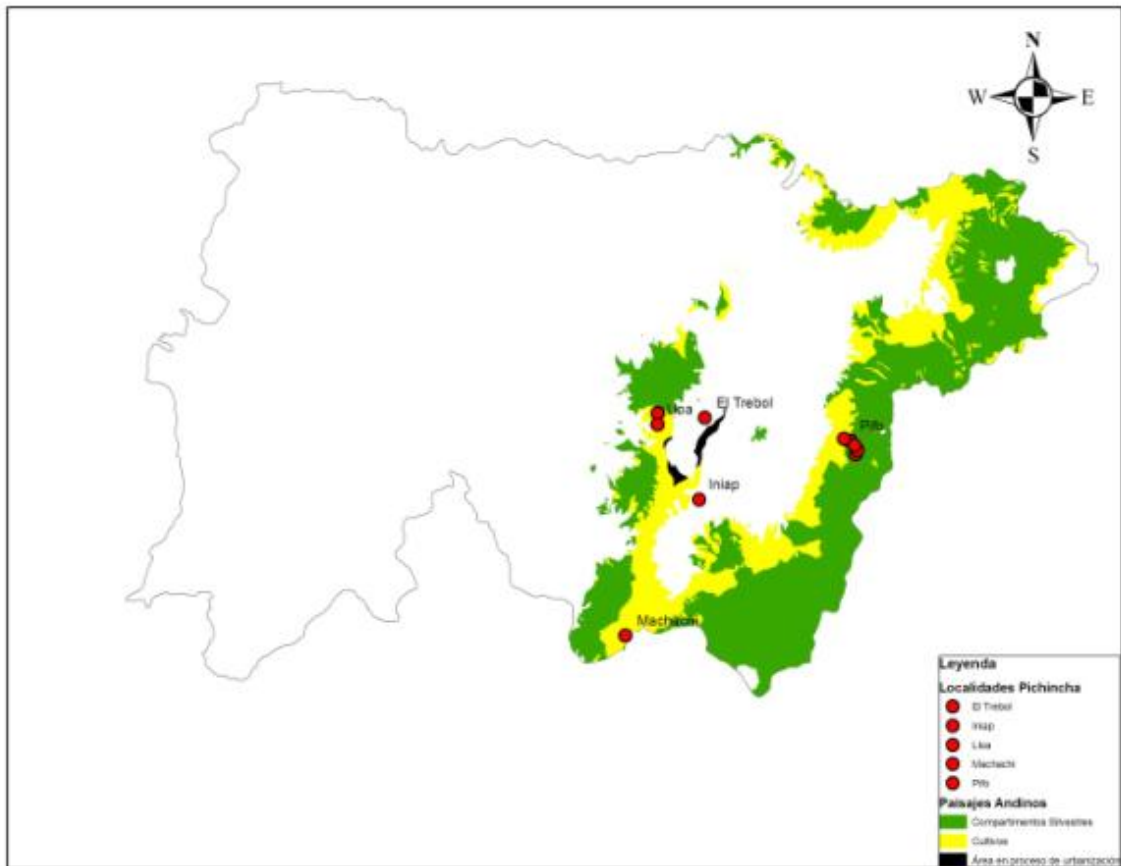


Figura 2: Mapa de localidades de la provincia de Pichincha (Realizado por Liger B. 2010).

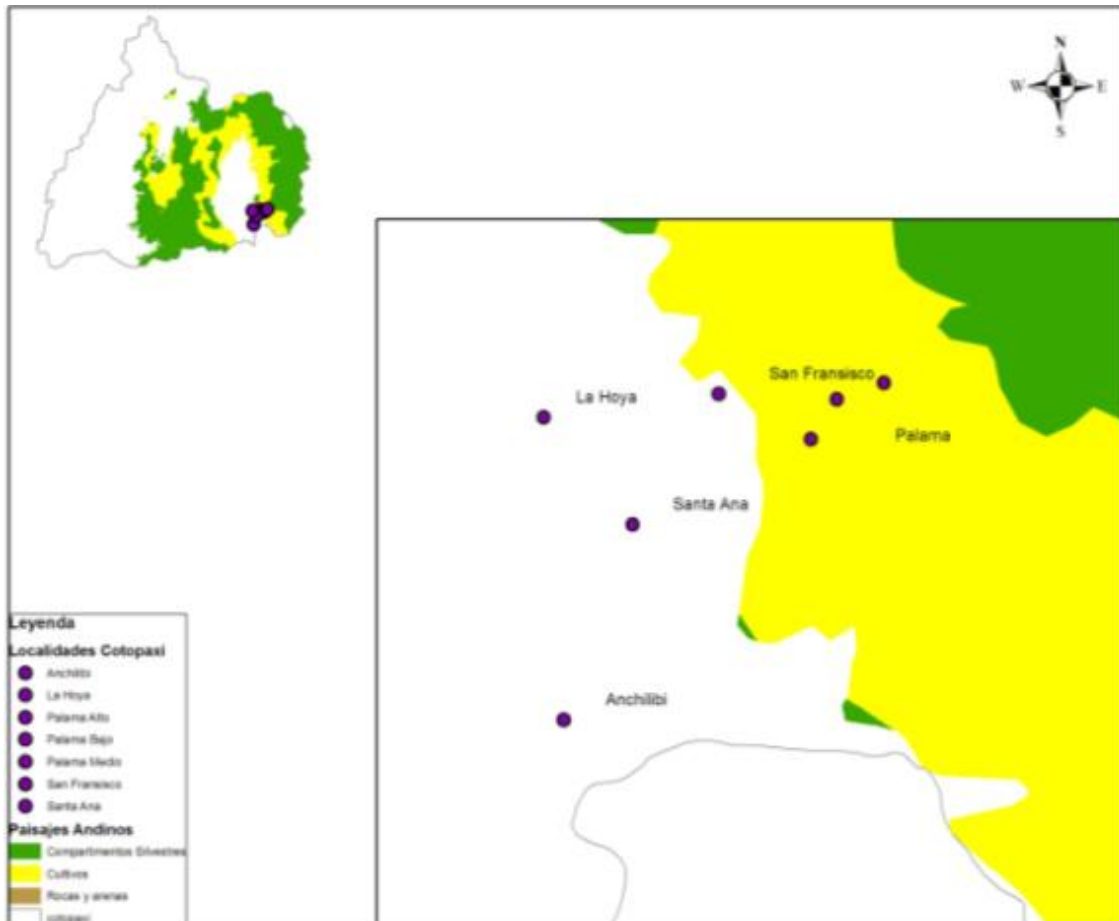


Figura 3. : Mapa de Localidades de la provincia de Cotopaxi. (Realizado por Liger B. 2010).

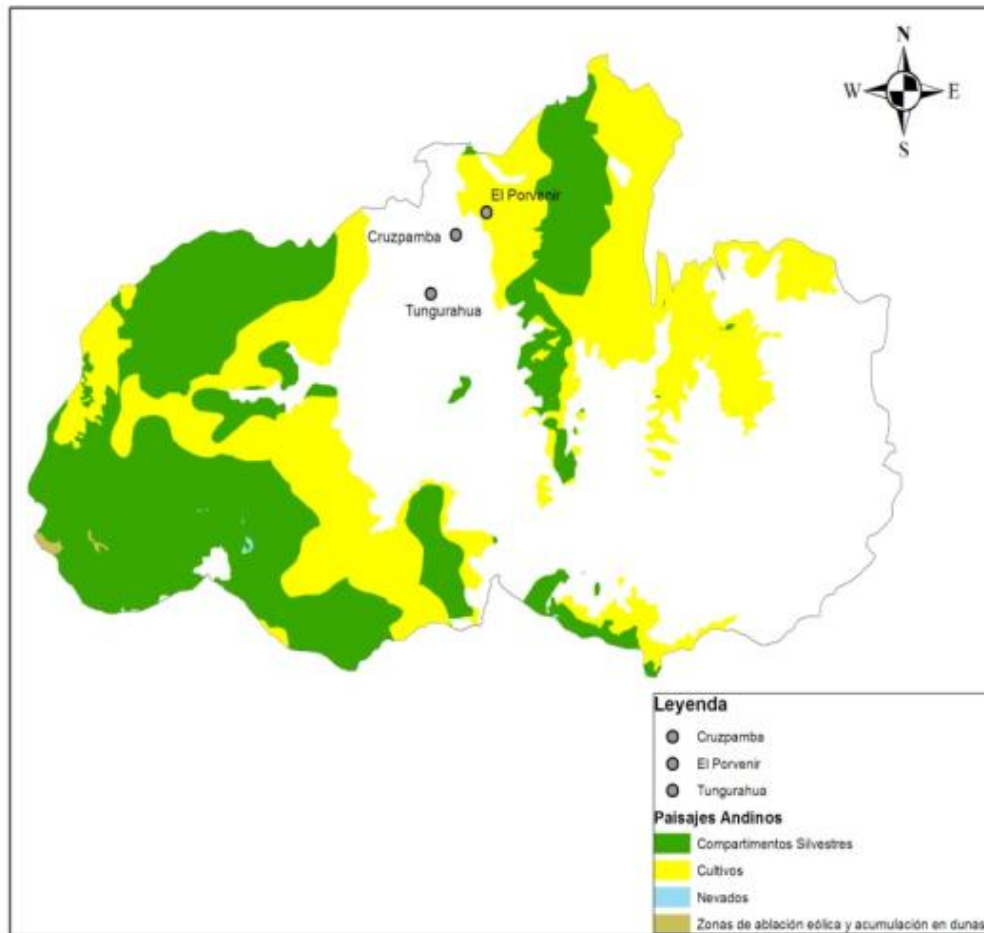


Figura 4 : Mapa de Localidades de la provincia de Tungurahua (Realizado por Liger B. 2010).

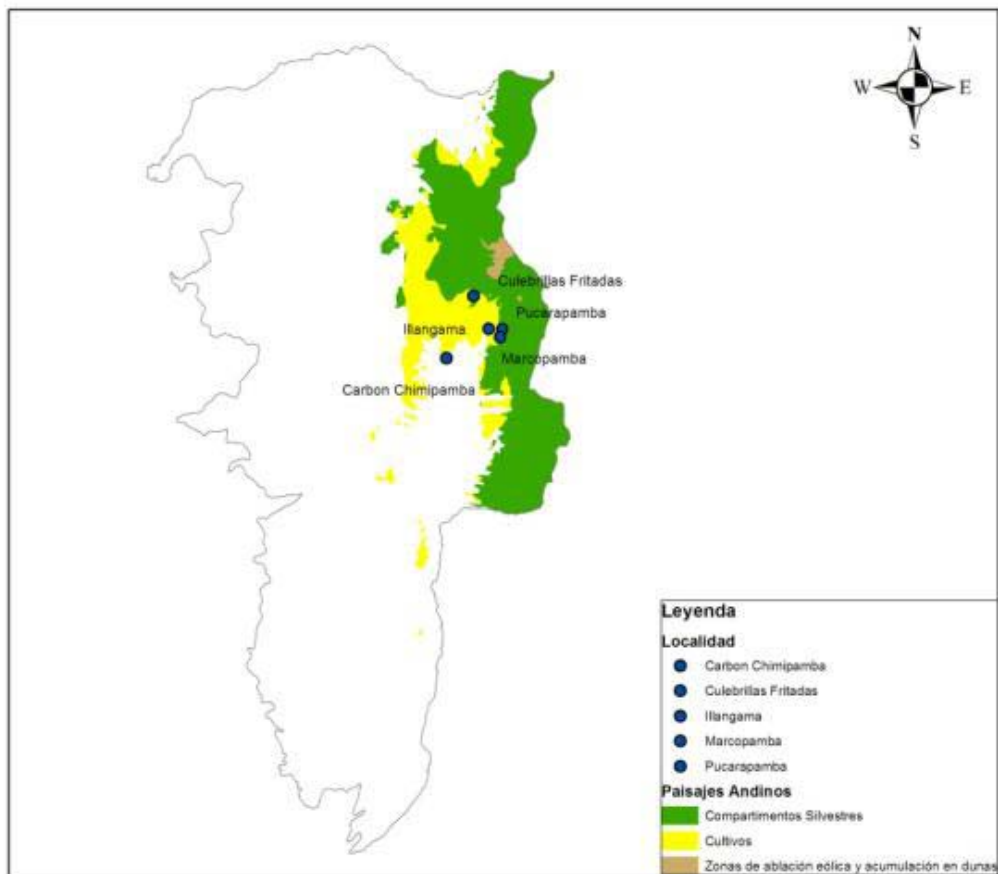


Figura. 5: Localidades de la provincia de Bolívar (Realizado por Lcda. Belén Liger).

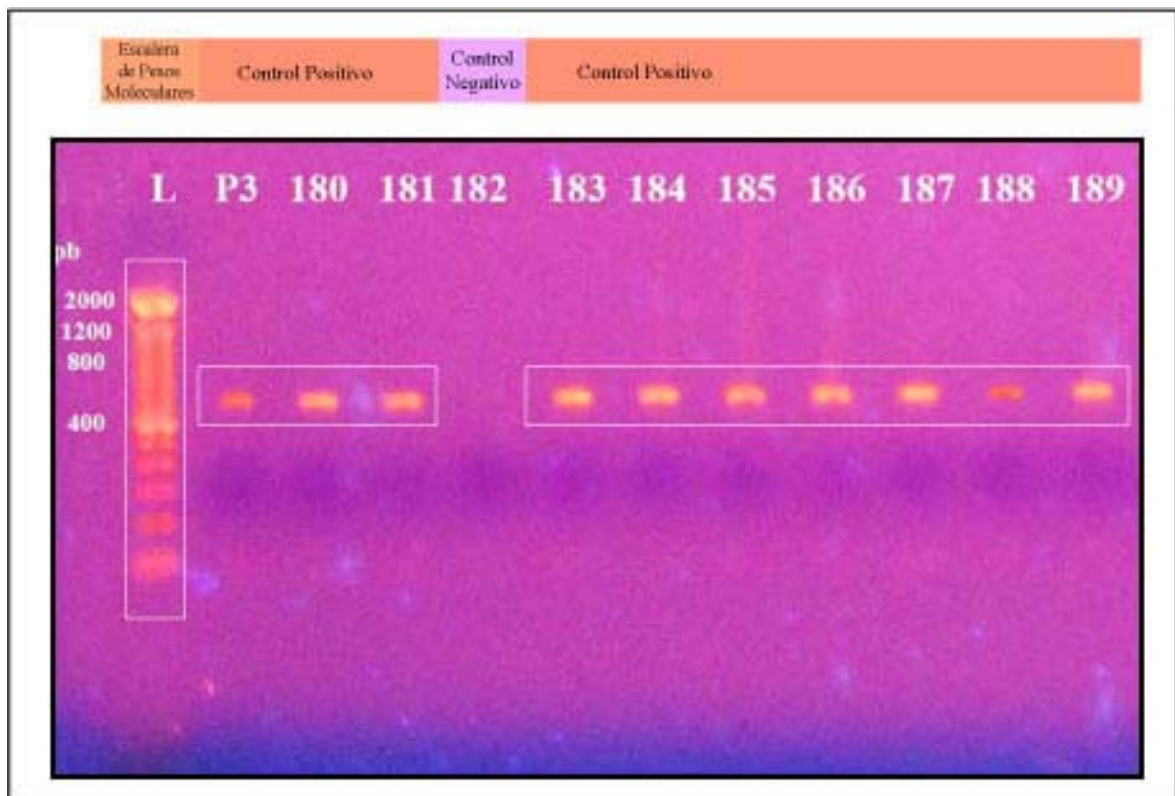


Figura 6: Fotografía de un gel de Agarosa al 1,2%. Se observa la escalera de pesos moleculares y control negativo y amplificaciones de las muestras.

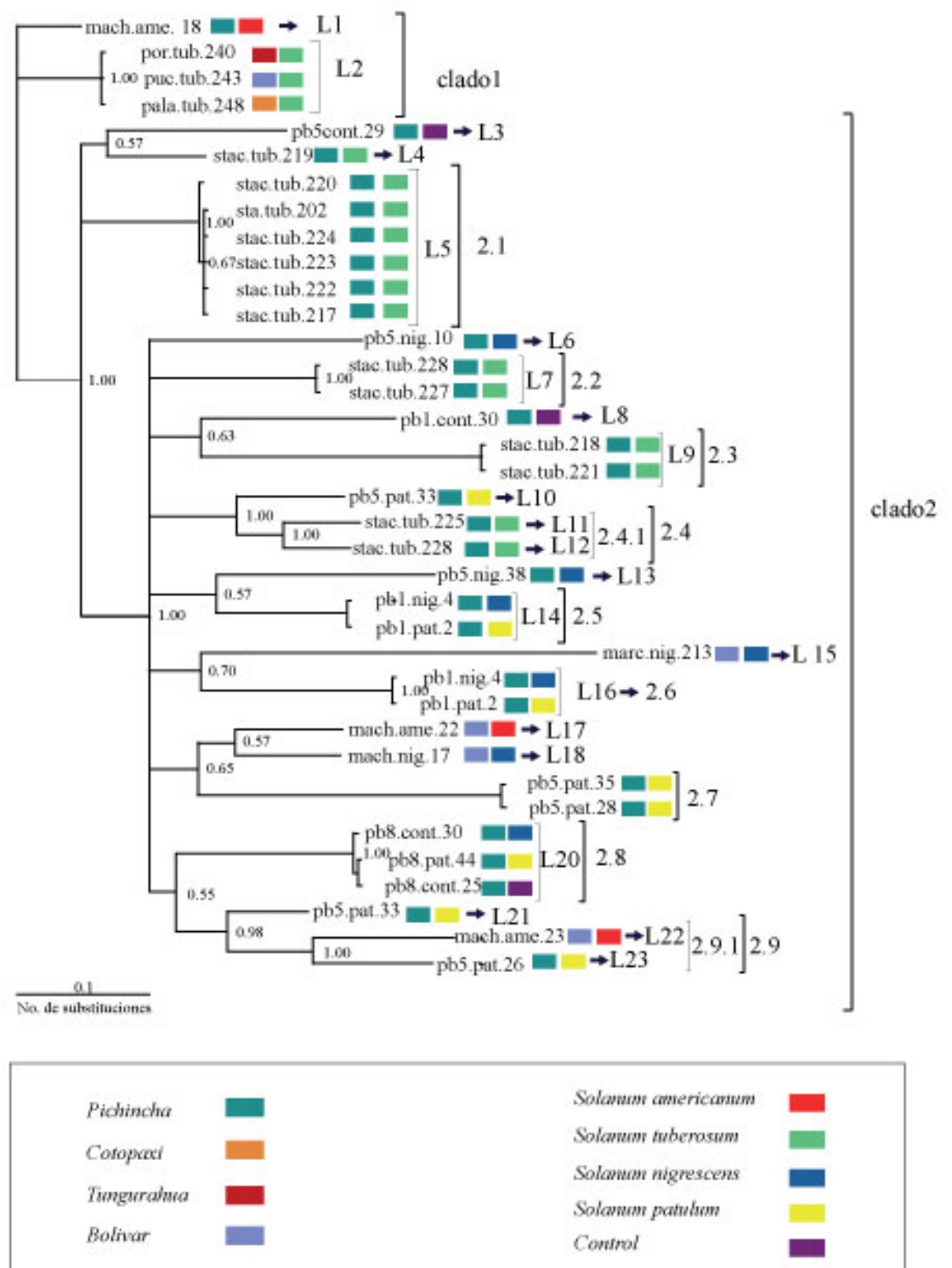


Figura. 7: Árbol filogenético de Lepidóptera, basado en el fragmento del gen COI. Se muestran los valores de bootstrap en las ramas de los árboles y los MOTUs definidos (L1 –

L23). La codificación pertenece a la localidad, la planta y el número designado a cada secuencia.

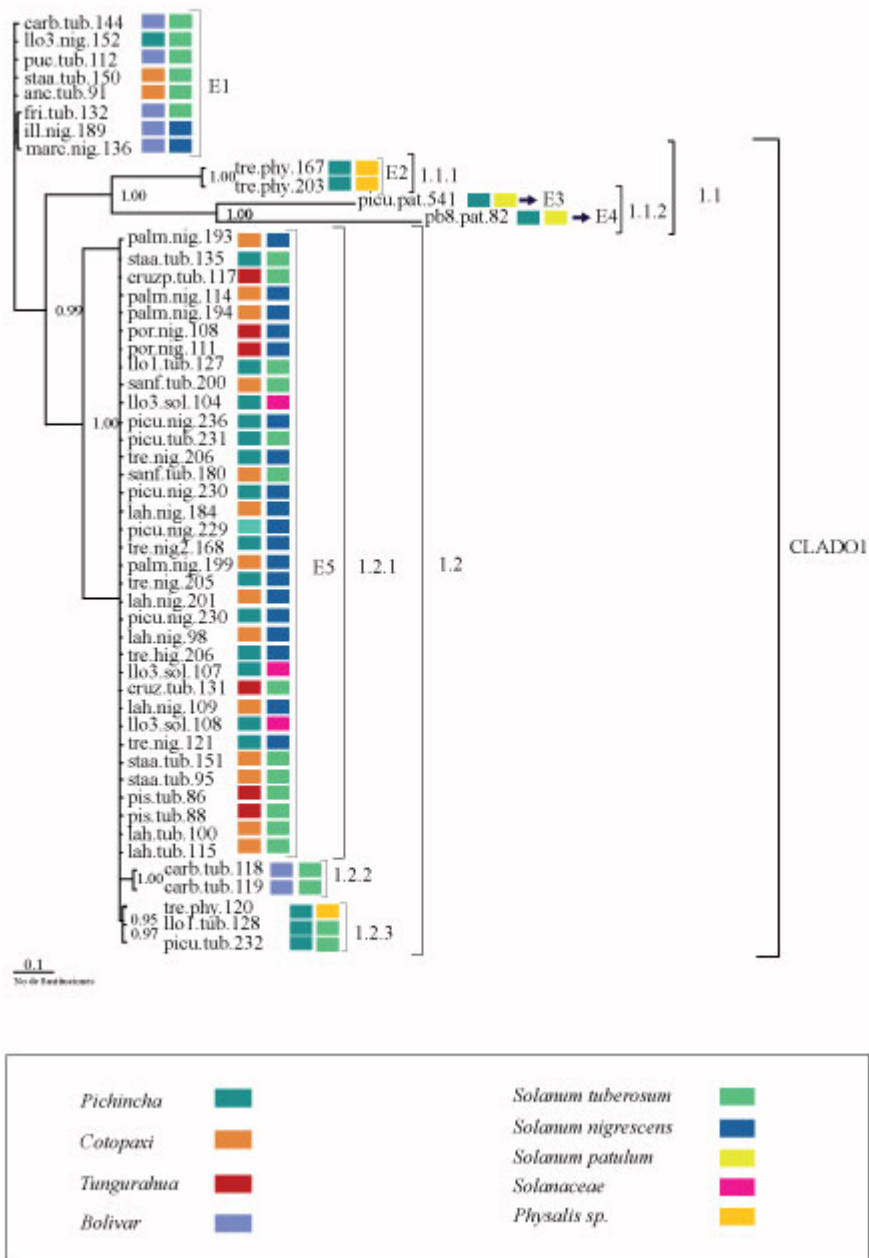


Figura 8: Árbol filogenético de *Epitrix* spp., basado en el fragmento del gen COI. Se muestran los valores de bootstrap en las ramas de los árboles y los MOTUs definidos (L1 – L23). La codificación pertenece a la localidad, la planta y el número designado a cada secuencia.

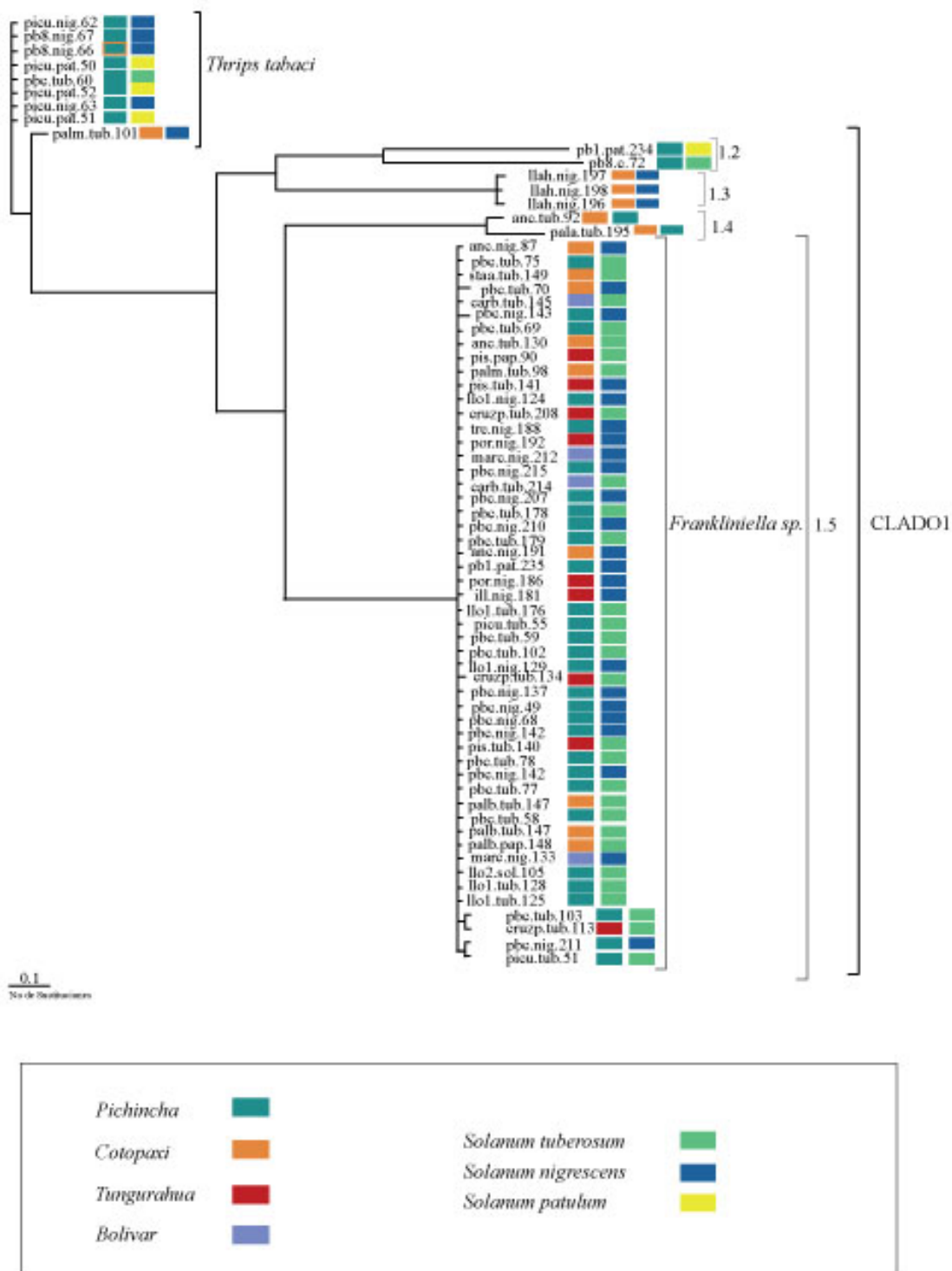


Figura 9: Árbol filogenético de Thripidae basado en el fragmento del gen COI. Se muestran los valores de bootstrap en las ramas de los árboles y los MOTUs definidos (L1 –

L23). La codificación pertenece a la localidad, la planta y el número designado a cada secuencia.

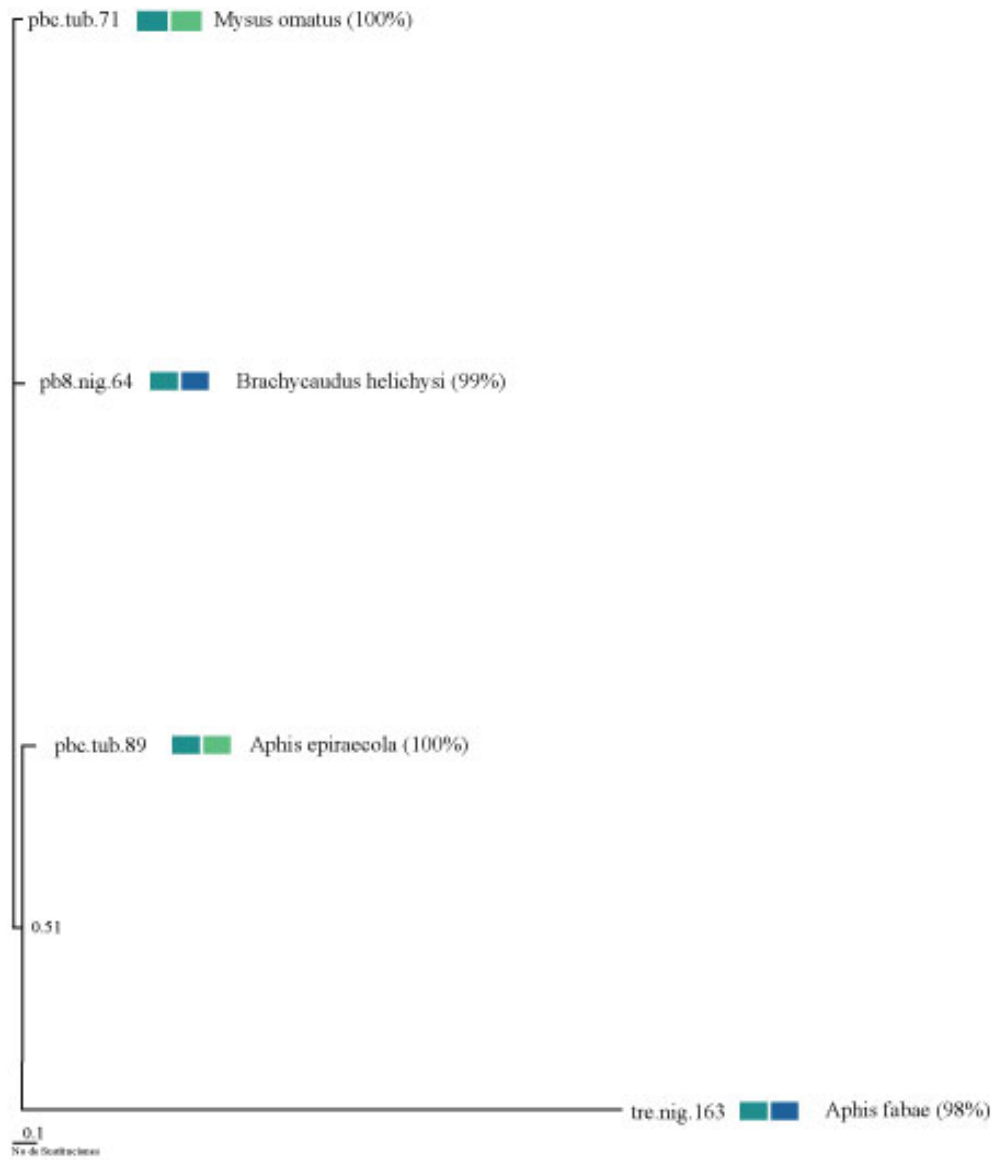


Figura 10. Árbol filogenético de Aphididae en relación con la planta hospedera y la región. *Solanum*. Control: insecto atrapado con pegante a una distancia de 1 a 2 metros de una papa silvestre y a una distancia mayor a 100m de un cultivo de papa. Se presentan el porcentaje de similitud en el BLAST.

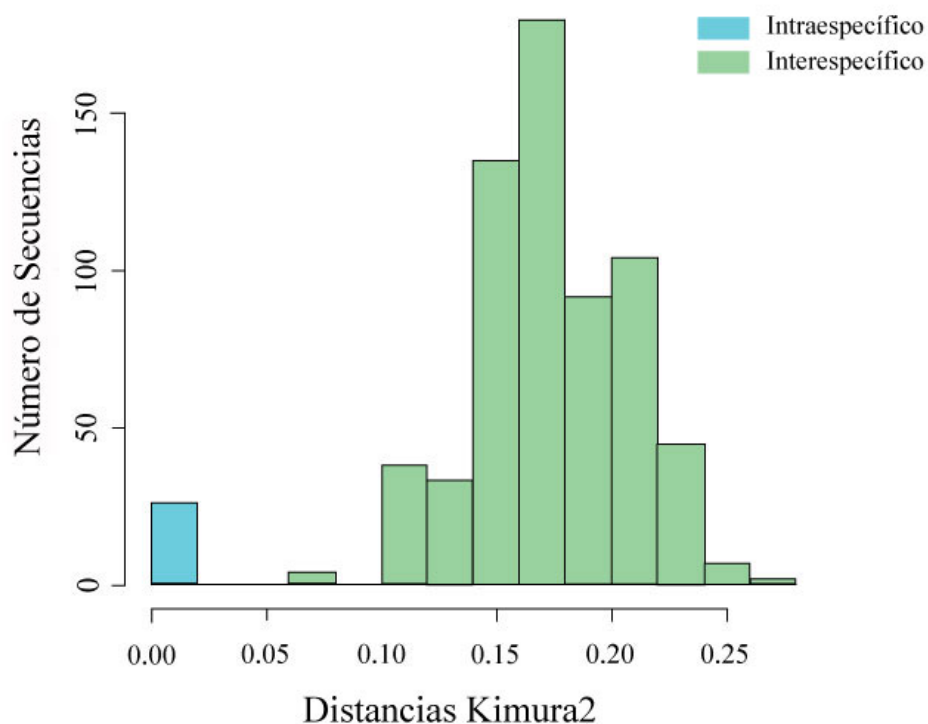


Figura 11. Histograma de las Distancias Moleculares de Lepidóptera aplicando el modelo de sustitución Kimura 2. Se considera un nivel de diferenciación intra e interspecífico

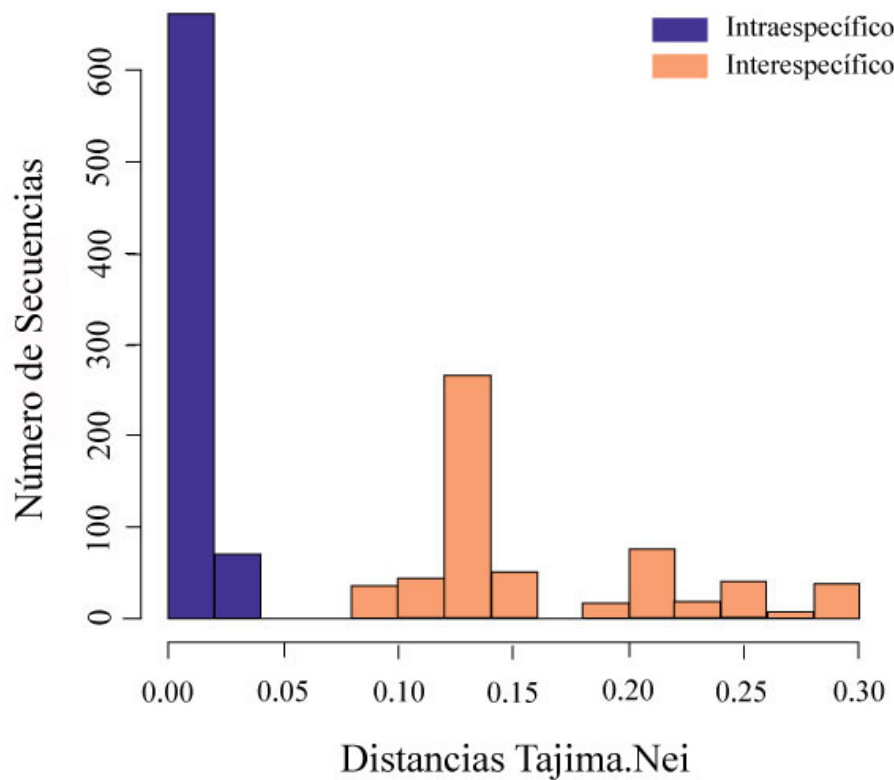


Fig. 12. Histograma de las Distancias Moleculares de *Epitrix* spp. , aplicando modelo de sustitución Tajima Nei. Se consideran niveles de diferenciación intraespecífica e interespecífica.

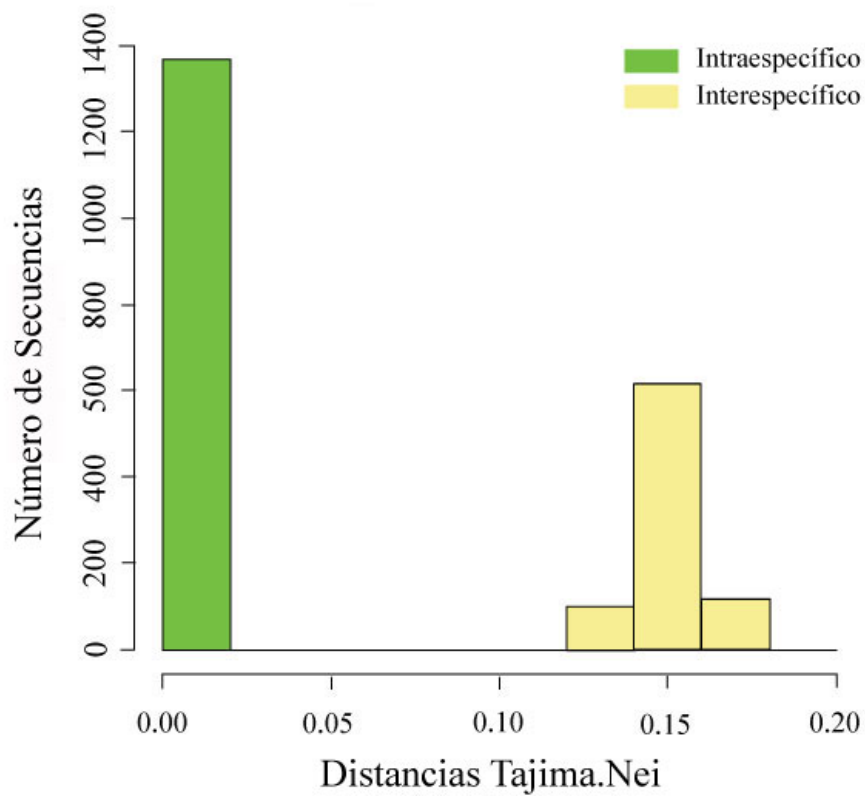


Fig. 13. Histograma de las Distancias Moleculares de Thrips aplicando modelo de sustitución Tajima Nei. Se considera un nivel de diferenciación intraespecífica e interespecífica.

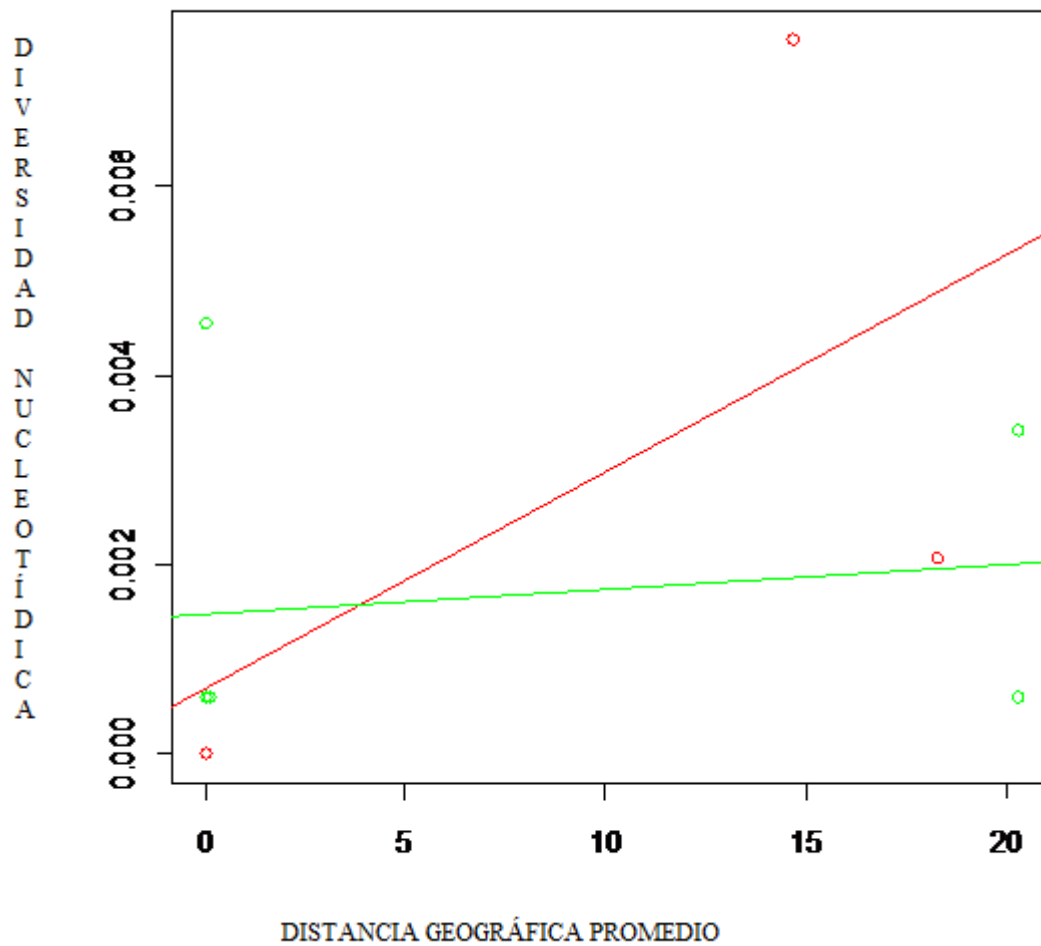


Figura 14: Regresión lineal de las relación Distancia Geográfica y Diversidad Nucleotídica de *Epitrix* spp. La pendiente de color rojo representa la regresión entre insectos de plantas cultivadas y la verde a la regresión de plantas silvestres.

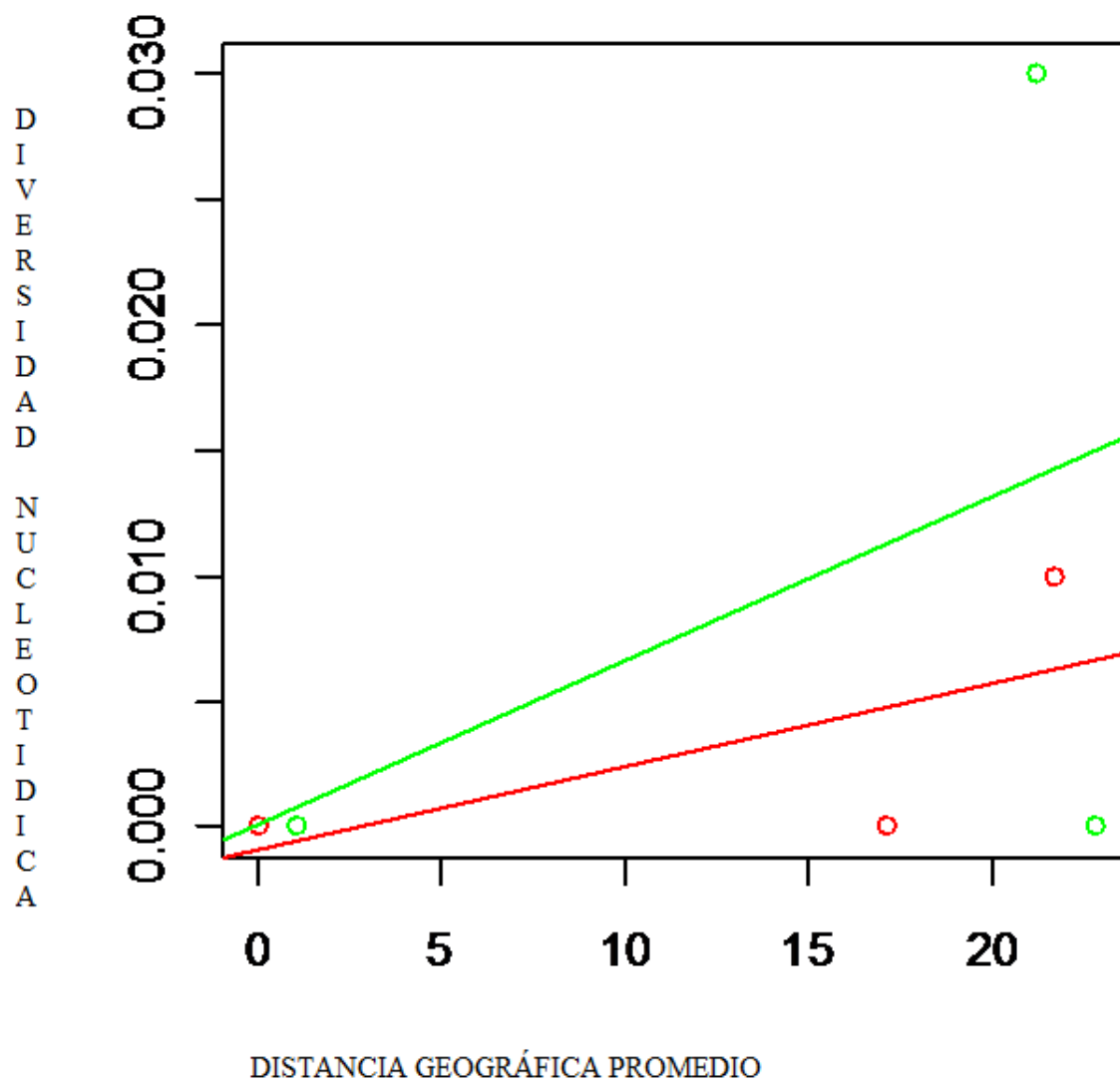


Figura 15: Regresión lineal de las relación Distancia Geográfica (eje x) y Diversidad Nucleotídica del Thripidae La pendiente de color rojo representa la regresión entre insectos de plantas cultivadas y la verde a la regresión de plantas silvestres.

9. TABLAS

Tabla 1. Datos de colecta, Extracción y PCR Del Orden Lepidóptera

No.	Localidades	Planta	Individuo	E	PCR
1	Peñas Blancas, Sitio 5	<i>S. patulum</i>	Gelechiidae	x	x
2	Peñas Blancas, Sitio 1	<i>S. patulum</i>	Gelechiidae	x	x
3	Peñas Blancas, Sitio 5	Control	Gelechiidae	x	x
4	Peñas Blancas, Sitio 1	<i>S. nigrescens</i>	Gelechiidae	x	x
5	Peñas Blancas, Sitio 8	Control	Gelechiidae	x	x
6	Peñas Blancas, Sitio 1	<i>S. nigrescens</i>	Gelechiidae	x	x
7	Peñas Blancas, Sitio 8	Control	Gelechiidae	x	x
8	Peñas Blancas, Sitio 5	Control	Gelechiidae	x	x
9	Peñas Blancas, Sitio 5	<i>S. nigrescens</i>	Gelechiidae	x	x
10	Peñas Blancas, Sitio 5	<i>S. nigrescens</i>	Gelechiidae	x	x
11	Peñas Blancas, Sitio 1	<i>S. patulum</i>	Gelechiidae	x	x
12	Peñas Blancas, Sitio 5	<i>S. nigrescens</i>	Gelechiidae	x	x
13	Peñas Blancas, Sitio 1	<i>S. patulum</i>	Gelechiidae	x	x
14	Peñas Blancas, Sitio 5	<i>S. nigrescens</i>	Gelechiidae	x	x
15	Peñas Blancas, Sitio 1	<i>S. patulum</i>	Gelechiidae	x	x
16	Peñas Blancas, Sitio 5	<i>S. nigrescens</i>	Gelechiidae	x	x
17	Peñas Blancas, Sitio 8	Control	Gelechiidae	x	x
18	Peñas Blancas, Sitio 8	Control	Gelechiidae	x	x
19	Peñas Blancas, Sitio 5	<i>S. patulum</i>	Gelechiidae	x	x
20	Peñas Blancas, Sitio 5	Control	Gelechiidae	x	x
21	Peñas Blancas, Sitio 5	<i>S. patulum</i>	Gelechiidae	x	x
22	Peñas Blancas, Sitio 5	Control	Gelechiidae	x	x

23	Peñas Blancas, Sitio 8	Control	Gelechiidae	x	x
24	Peñas Blancas, Sitio 1	Control	Gelechiidae	x	x
25	Peñas Blancas, Sitio 5	<i>S. patulum</i>	Gelechiidae	x	x
26	Peñas Blancas, Sitio 5	<i>S. patulum</i>	Gelechiidae	x	x
27	Peñas Blancas, Sitio 8	Control	Gelechiidae	x	x
28	Peñas Blancas, Sitio 5	<i>S. patulum</i>	Gelechiidae	x	x
29	Peñas Blancas, Sitio 1	Control	Gelechiidae	x	x
30	Peñas Blancas, Sitio 8	Control	Gelechiidae	x	x
31	Peñas Blancas, Sitio 5	<i>S. nigrescens</i>	Gelechiidae	x	x
32	Peñas Blancas, Sitio 8	Control	Gelechiidae	x	x
33	Peñas Blancas, Sitio 8	Control	Gelechiidae	x	x
34	Peñas Blancas, Sitio 8	Control	Gelechiidae	x	x
35	Peñas Blancas, Sitio 8	Control	Gelechiidae	x	x
36	Peñas Blancas, Sitio 8	Control	Gelechiidae	x	x
37	Peñas Blancas, Sitio 8	<i>S. patulum</i>	Gelechiidae	x	x
38	Peñas Blancas, Sitio 8	Control	Gelechiidae	x	x

Continúa...

Tabla 1. Datos de colecta, Extracción y PCR Del Orden Lepidóptera

No.	Localidades	Planta	Individuo	E	PCR
39	Peñas Blancas, Sitio 8	<i>Control</i>	Gelechiidae	x	x
40	Peñas Blancas, Sitio 8	Control	Gelechiidae	x	x
41	Peñas Blancas, Sitio 8	<i>S. patulum</i>	Gelechiidae	x	x
42	Peñas Blancas	<i>S. nigrescens</i>	Gelechiidae	x	x
43	Machachi	<i>S. nigrescens</i>	Gelechiidae	x	x
44	Machachi	<i>S. americanum</i>	Gelechiidae	x	x
45	Machachi	<i>S. americanum</i>	Gelechiidae	x	x
46	Machachi	<i>S. americanum</i>	Gelechiidae	x	x
47	Machachi	<i>S. americanum</i>	Gelechiidae	x	x
48	Machachi	<i>S. americanum</i>	Gelechiidae	x	x
49	Machachi	<i>S. americanum</i>	Gelechiidae	x	x
50	Lloa 1	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
51	Santa Catalina	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
52	Santa Catalina	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
53	Santa Catalina	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
54	Santa Catalina	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
55	Santa Catalina	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
56	Santa Catalina	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
57	Santa Catalina	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
58	Santa Catalina	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
59	Santa Catalina	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
60	Santa Catalina	<i>S. tuberosum</i>	Lepidoptera	x	x

61	Santa Catalina	<i>S. tuberosum</i>	Lepidoptera	x	x
62	Santa Catalina	<i>S. tuberosum</i>	Lepidoptera	x	x
63	Santa Catalina	<i>S. tuberosum</i>	Lepidoptera	x	x
64	CruzPamba	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
65	CruzPamba	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
66	CruzPamba	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
67	El Porvenir	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
68	El Porvenir	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
69	Marcopamba	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
70	Pucarapamba	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
71	Pucarapamba	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
72	Suruhuaico	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
73	Carbon Chimipamba	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
74	Carbon Chimipamba	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x
75	Palama Alto	<i>S. tuberosum</i>	Gelechiidae	x	x

Tabla 2: Extracción y PCR del Género *Epitrix*

No.	Localidades	Planta	Individuo	E	PCR
1	Pifo, Cuchaucu	<i>S. patulum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
2	Pifo, Cuchaucu	<i>S. patulum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
3	Pifo, Cuchaucu	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
4	Pifo, Cuchaucu	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
5	Pifo, Cuchaucu	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
6	Pifo, Cuchaucu	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
7	Pifo, Cuchaucu	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
8	Peñas Blancas 8	<i>S. patulum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
9	Peñas Blancas 8	<i>S. patulum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	
10	Peñas Blancas 8	<i>S. patulum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
11	El Trebol	<i>Physalis</i> sp.	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
12	El Trebol	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
13	El Trebol	<i>Physalis</i> sp.	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
14	El Trebol	<i>Physalis</i> sp.	<i>Epitrix</i> sp.	x	
15	El Trebol	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
16	El Trebol	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
17	El trébol	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
18	El trébol	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
19	El trébol	<i>Physalis</i> sp.	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
20	El trébol	<i>Physalis</i> sp.	<i>Epitrix</i> sp.	x	
21	El Trebol	<i>Physalis</i> sp.	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
22	El Trebol	<i>Physalis</i> sp.	<i>Epitrix</i> sp.	x	

23	El Trebol	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
24	El Trebol	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
25	Marcopamba	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
26	Lloa 1	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
27	Lloa 1	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	
28	Lloa 1	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
29	Lloa 3	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
30	Lloa 1	<i>Solanaceae</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
31	Lloa 1	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
32	Lloa 1	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	
33	Lloa 1	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
34	Lloa 3	<i>Solanaceae</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	
35	Lloa 3	<i>Solanaceae</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
36	Lloa 3	<i>Solanaceae</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
37	Pisque	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
38	Pisque	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	
39	Anchilibí	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
40	San Fransisco	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x

Continúa....

Tabla 2: Extracción y PCR del Género *Epitrix*

No.	Localidades	Planta	Individuo	E	PCR
41	La Hoya	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
42	La Hoya	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	
43	La Hoya	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	
44	La Hoya	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	
45	La Hoya	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
46	El porvenir	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
47	El porvenir	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
48	Palama Medio	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
49	Palama Medio	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
50	Palama Medio	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
51	Palama medio	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	
52	CruzPamba	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
53	CruzPamba	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
54	CruzPamba	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	
55	CruzPamba	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
56	CruzPamba	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	
57	Carbon Chimipamba	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
58	Carbon Chimipamba	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
59	Carbon Chimipamba	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
60	Santa Ana	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	
61	Santa Ana	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
62	Santa Ana	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x

63	La Hoya	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
64	La Hoya	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	
65	La Hoya	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
66	Fritadas	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
67	Marcopamba	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
68	San Fransisco	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
69	Pucarapamba	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
70	San Francisco	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
71	CruzPamba	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
72	El Porvenir	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
73	Illangama	<i>S. nigrescens</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x
74	San Fransisco	<i>S. tuberosum</i>	<i>Epitrix</i> sp.	x	x

Tabla 3: Extracción y PCR del Orden Thysanóptera

No.	Localidades	Planta	Individuo	E	PCR
1	Peñas Blancas	<i>S. tuberosum</i>	<i>Thrips tabaci</i>	x	x
2	Pifo, Cuchauco	<i>S. patulum</i>	<i>Thrips tabaci</i>	x	x
3	Pifo, Cuchauco	<i>S. patulum</i>	<i>Thrips tabaci</i>	x	x
4	Pifo, Cuchauco	<i>S. patulum</i>	<i>Thrips tabaci</i>	x	x
5	Pifo, Cuchauco	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
6	Pifo, Cuchauco	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
7	Peñas Blancas	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
8	Peñas Blancas	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
9	Peñas Blancas	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
10	Peñas Blancas	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
11	Pifo, Cuchauco	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
12	Pifo, Cuchauco	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
13	Peñas Blancas 8	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
14	Peñas Blancas 8	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
15	Peñas Blancas 8	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
16	Peñas Blancas	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
17	Peñas Blancas	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
18	Peñas Blancas	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
19	Peñas Blancas 8	Control	Thrip	x	x
20	Peñas Blancas 8	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
21	Peñas Blancas 8	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
22	Peñas Blancas C	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x

23	Peñas Blancas C	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
24	Peñas Blancas C	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
25	Peñas Blancas 5	<i>S. patulum</i>	Thrip	x	x
26	Peñas Blancas 5	<i>S. patulum</i>	Thrip	x	x
27	Peñas Blancas 5	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
28	Peñas Blancas 5	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
29	Pisque	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
30	Anchilibí	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
31	Pisque	<i>Papaver</i> sp.	Thrip	x	x
32	Anchilibí	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
33	Anchilibí	<i>D. stramonium</i>	Thrip	x	x
34	Palama Medio	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
35	Palama Medio	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
36	Palama Medio	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
37	Peñas Blancas C	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
38	Peñas Blancas C	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
39	Lloa 3	Solanaceae	Thrip	x	x
40	CruzPamba	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
41	El Trebol	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
42	Lloa 1	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x

 Continua...

Tabla 3: Extracción y PCR del Orden Thysanóptera

No.	Localidades	Planta	Individuo	E	PCR
43	Lloa 1	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
44	Lloa 1	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
45	Lloa 1	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
46	Anchilibí	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
47	Marcopamba	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
48	CruzPamba	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
49	Peñas blancas	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
50	Peñas blancas	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
51	El Pisque	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
52	El Pisque	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
53	Peñas blancas	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
54	Peñas blancas	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
55	C. Chimipamba	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
56	Palama Bajo	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
57	Palama Bajo	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
58	Santa Ana	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
59	Lloa 3	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
60	El trébol	<i>S. nigrescens</i>	thrip	x	x
61	El trébol	<i>S. nigrescens</i>	thrip	x	x
62	Lloa 1	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
63	Lloa 1	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
64	Peñas Blancas C	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x

65	Peñas Blancas C	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
66	Illangama	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
67	Illangama	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
68	El Porvenir	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
69	Illangama	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
70	Marcopamba	<i>S. tuberosum</i>	Thrip	x	x
71	Anchilibí	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
72	El Porvenir	<i>S. nigrescens</i>	Thrip	x	x
73	Palama Medio	<i>S. tuberosum</i>	thrip	x	x
74	La Hoya	<i>S. nigrescens</i>	thrip	x	x
75	La Hoya	<i>S. nigrescens</i>	thrip	x	x
76	La Hoya	<i>S. nigrescens</i>	thrip	x	x
77	Peñas Blancas C	<i>S. nigrescens</i>	thrip	x	x
78	CruzPamba	<i>S. tuberosum</i>	thrip	x	x
79	CruzPamba	<i>S. tuberosum</i>	thrip	x	x
80	Peñas Blancas C	<i>S. nigrescens</i>	thrip	x	x
81	Peñas Blancas C	<i>S. nigrescens</i>	thrip	x	x
82	Marcopamba	<i>S. nigrescens</i>	thrip	x	x
83	C. Chimipamba	<i>S. tuberosum</i>	thrip	x	x
84	Peñas Blancas C	<i>S. nigrescens</i>	thrip	x	x

Tabla 4: Extracción y PCR de áfidos

No.	Localidades	Planta	Individuo	E	PCR
1	Pifo, Cuchauco	<i>S. tuberosum</i>	Áfidos	x	x
2	Peñas Blancas, Sitio 8	<i>S. nigrescens</i>	Áfidos	x	x
3	Peñas Blancas, Conjunto	<i>S. tuberosum</i>	Áfidos	x	x
4	Pisque, Tungurahua	<i>S. nigrescens</i>	Áfidos	x	x
5	El trébol	<i>S. nigrescens 1</i>	Áfidos	x	x
6	El trébol	<i>S. nigrescens 1</i>	Áfidos	x	x
7	El trébol	<i>S. nigrescens 1</i>	Áfidos	x	x
8	El trébol	<i>S. nigrescens 1</i>	Áfidos	x	x
9	Anchilibí	<i>S. nigrescens 1</i>	Áfidos	x	x
10	Anchilibí	<i>S. nigrescens</i>	Áfidos	x	x
11	El trébol	<i>S. nigrescens 1</i>	Áfidos	x	x
12	El trébol	<i>S. nigrescens 1</i>	Áfidos	x	x
13	El trébol	<i>S. nigrescens 3</i>	Áfidos	x	x
14	El trébol	<i>S. nigrescens 3</i>	Áfidos	x	x
15	Pifo, Cuchauco	<i>S. tuberosum</i>	Áfidos	x	x

Tabla 5. Regresión de la asociación a papas cultivadas sobre los vectores propios filogenéticos.

		gl	SumC	C. M.	F	Pr(>F)
Lepidóptera	Phylogenetic	12	2.873,362	239,447	790.865	0,00001
	Residuals	24	726,638	0,30277		
Epitrix	Phylogenetic	7	1.024.553	146.365	158.021	0,16658
	Residuals	44	4.075.447	0.92624		
Thrips	Phylogenetic	7	1.502.574	214.653	2.478	0,02652
	Residuals	60	5.197.426	0.86624		

Tabla 6. AMOVA Jerárquico Basado en los fragmentos de la secuencia COI de *Epitrix* spp. y MOTUs analizables.

		Componentes de		%	
		g.l.	Variancia	Variación	P
General	MOTU	5	-0.00055530	-7%	1
	Domesticación	-4	-0.00074294	-10%	1
	Planta	3	0.00411033	55%	0
	Error	47	0.00463822	62%	
Epitrix1	Planta	1	0,0011134	3%	0.184
	Error	6	0,037661	97%	
	Domesticación	1	0,0011134	3%	0.17
	Error	6	0,037661	97%	
	Domesticación	1	0	0%	0
	(Planta)	0	0	0%	0
	Error	6	0,037661	1%	
	g.l.	3	-1,65E-03	0%	0.403
Epitrix2	Error	34	0,38401	100%	
	Domesticación	1	0,0085612	2%	0.286
	Error	36	0,37014	98%	
	Domesticación	1	0,074992	19%	0.348
	(Planta)	2	-0,071049	-18%	1.000
	Error	34	0,38401	99%	

Tabla 7. AMOVA Jerárquico de *Epitrix* spp. Basado en los fragmentos de la secuencia COI de la familia Thripidae y MOTUs analizables.

		Componentes de		%	
		g.l.	Variancia	Variación	P
General	MOTU	5	0,00036218	9%	0.317
	Domesticación	-4	-0,00078597	-19%	0.000
	Planta	4	0,00075765	18%	0.039
	Error	62	0,00381167	92%	
<i>Frankliniella</i> sp.	Planta	4	-0,094576	-1%	0.513
	Error	49	7,8473	101%	
	Domesticación	1	0,066035	1%	0.396
	Error	52	7,3946	99%	
	Domesticación		0.00039034	50%	0.512
	(Planta)	3	-0.00042973	-55%	0.960
	Error	49	0.00078473	100%	
	Planta	2	0,0070857	13%	0.221
Error	6	0,047829	87%		
<i>Thrips Tabaci</i>	Domesticación	1	0,020245	33%	0.214
	Error	7	0,040996	67%	
	Domesticación	1	0,066903	66%	1
	(Planta)	1	-0,01395	-14%	1
	Error	6	0,047829	47%	

Tabla 8. Valores Distancias Geográficas y Diversidad haplotípica y nucleotídica para *Epitrix* spp. D.G.M: Distancia Geográfica Media. D.H: Diversidad Haplotípica, D.N: Diversidad Nucleotídica.

MOTU	Planta	Rango			
		D. G. M.	Geográfico	D. H.	D. N.
	<i>S. tuberosum</i>	18,25	31,47	0,73	0,00208
E 1	<i>S.nigrescens</i>	20,26	30,24907	1	0,00342
	<i>S.tuberosum</i>	14,64698	53,66276	0,662	0,00754
	<i>S. nigrescens</i>	20,25983	30,24907	0,26	0,00061
	Solanaceae	0,1	0,2	0,26	0,00061
E 2	<i>Physalis sp.</i>	0	0	0,26	0,00061
	<i>S.tuberosum</i>	0	0	0	0
E 3	<i>S.nigrescens</i>	0	0	0	0
	<i>Physalis sp.</i>	0	0	0,667	0,00456
E 4	<i>Physalis sp.</i>	0	0	0,667	0,00456
E 5	<i>S. patulum</i>	0	0	0	0
E 6	<i>S. patulum</i>	0	0	0	0

Tabla 9. Valores Distancia Geográfica, Diversidad haplotípica y nucleotídica para Thripidae. D.G.M: Distancia Geográfica Media. D.H: Diversidad Haplotípica, D.N: Diversidad Nucleotídica.

MOTU	Planta	Rango			
		D. G. M.	Geográfico	D. H.	D. N.
<i>Thrips tabaci</i>	<i>S. nigrescens</i>	1,100631	1,650932	0	0
<i>Thrips tabaci</i>	<i>S. patulum</i>	0	0	0	0
<i>Thrips tabaci</i>	<i>S. tuberosum</i>	21,69601	21,69601	1	0,00858
MOTU 2	<i>S. patulum</i>	0	0	0	0
MOTU 3	Control	0	0	0	0
Motu 4	<i>S. nigrescens</i>	0	0	0	0
<i>Frankliniella</i>					
sp.	<i>S. nigrescens</i>	21,23897	51,11912	0,419	0,02985
<i>Frankliniella</i>					
sp.	<i>S. americanum</i>	0	0	0	0
<i>Frankliniella</i>					
sp.	<i>S. patulum</i>	22,80264	22,80264	0	0
<i>Frankliniella</i>					
sp.	Solanaceae	0	0	0	0
<i>Frankliniella</i>					
sp.	<i>Papaver</i> sp.	0	0	0	0
<i>Frankliniella</i>					
sp.	<i>S. tuberosum</i>	17,13541	54,87538	0,131	0,00038
MOTU 6	<i>S. tuberosum</i>	0	0	0	0

Tabla 10: Regresión lineal entre la distancia geográfica y la diversidad genética en *Epitrix* spp. asociados a *S. tuberosum* (Cultivo) y los asociados a papas silvestres (Silvestre).

		Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
	(Intercept)	1,48	7,96E-01	1.856	0.106
Silvestre	DistGeog	0,0264	8,34E-02	0.317	0.760
	(Intercept)	0,689	0.0044724	0.154	0.903
Cultivado	DistGeog	2.296 e-04	0.0003310	0.694	0.614

Tabla 11: Regresión lineal entre la distancia geográfica y la diversidad genética en los Thripidae asociados a *S. tuberosum* (Cultivo) y los asociados a papas silvestres (Silvestre).

		Estimate	Std.Error	tvalue	Pr(> t)
Silvestre	(Intercept)	0,05237	2,762	0.019	0.9853
	DistGeog	0,653	0,2801	2331	0.0481*
Cultivada	(Intercept)	-0.0009951	0.0060342	-0.165	0.896
	DistGeog	0.0003343	0.0003780	0.885	0.539

10. ANEXOS

Anexo 1: Extracción de ADN protocolo fenol-cloroformo

Homogenizar cada espécimen en un tubo de 1.5mL con 200uL de DEB fresco y colocarlo sobre hielo.

Enjuagar bien el pistilo y secar.

Añadir 5uL de Proteinasa K (20mg/ml), vortex suave por 5seg. e incubar a 50°C durante 60min.

Añadir 200ul cloroformo alcohol isoamílico (24:1), vortex suave por 7seg. y centrifugar por 10min. a 14000rpm. (repetir mismo paso pero segunda centrifugación solo 5min.)

Transferir el sobrenadante a un tubo limpio de 1.5mL limpio.

Añadir 500uL de etanol 95%. y mezclar bien usando una plataforma de agitación máximo por 10min.

Almacenar a -20°C durante 30min. o toda la noche.

Centrifugar a 4°C, 14000rpm durante 10min. y descartar el sobrenadante

Añadir 300ul de etanol 70% helado y vortex brevemente a máxima velocidad.

Centrifugar a 4°C, 14000rpm durante 5min. y descartar el sobrenadante tratando de sacar la mayor cantidad de etanol posible.

Incubar a 37°C por 10min. con la tapa abierta para que se elimine todo el etanol.

Resuspender el pellet en 40uL de solución TE pH8.0 (con EDTA < 0.01M)

Buffer DEB: (50 extracciones)

0.5mL SDS 10%

0.4mL NaCl 5M

0.5mL EDTA 0.5M

0.1mL Tris 1M pH8

8.5mL ddi H₂O

Buffer TE: 10mM Tris-Cl pH7.5

1mM EDTA pH8

SDS 10%: 100g SDS en 900mL de H₂O, calentar a 68°C para disolver. Ajustar el pH a 7.2 añadiendo HCl concentrado. Ajustar el volumen a 1L con H₂O. Autoclavar.

NaCl 5M: Disolver 292.2g de NaCl en 800mL de H₂O. Ajustar el volumen a 1L.

Autoclavar.

NaCl: 58,5g/mol

EDTA 0.5M: Añadir 186.1g de EDTA*2H₂O en 800mL de H₂O. Mezclar y ajustar el pH a 8 con NaOH (~20g NaOH). Autoclavar.

Tris 1M: 121.1g Tris/1L más ~ 40.3mL HCl

Cloroformo alcohol isoamílico: 192uL de cloroformo y 8ul de alcohol isoamílico (24:1).

Para una extracción

Anexo 2: Adulto de *Phthorimaea operculella*



Foto: Msc. Álvaro Barragán

Anexo 3: Adulto de *Tecia solanivora*



Foto: Msc. Álvaro Barragán

Anexo 4: Adulto de *Symmetrischema tangolias*.



Foto: Msc. Álvaro Barragán

Anexo 5: Adulto de *Epitrix tuberis*



Foto tomada de la Galería del EPPO < [http://photos.eppo.org/index.php/album/425-epitrix-similaris-epixsi->](http://photos.eppo.org/index.php/album/425-epitrix-similaris-epixsi-)

Anexo 6: Adulto de *Epitrix cucumeris*



Tomado de: Brent Elliott, Philip Northover Manitoba Agriculture, Food and Rural Initiatives Soils and Crops Branch, Carman < <http://web2.gov.mb.ca/agriculture/mwvr/>>

Anexo 7: Adulto de *Epitrix similaris*



Foto tomada por Jean-François Germain

Anexo 8: Adulto de *Epitrix fuscata*



Foto tomada de Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto <

http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0708/g19_beladona/oconat.html>

Anexo 9: Adulto de *Epitrix hirtipennis*



Foto tomada de los archivos de la universidad Estatal de Colorado U.S.A

<http://www.ext.colostate.edu/pubs/insect/05592.html>

Anexo 10 : Adulto de *Thrips tabaci*



Foto: Tomado de los archivos de Alfredo Rueda y Anthony M. <

<http://www.nysaes.cornell.edu/ent/hortcrops/spanish/Thrips.html>>

Anexo 11: Adulto de *Thrips palmi*



Foto tomada por Miguel Subía

Anexo 12: Adulto de *Frankliniella occidentalis*



Foto tomada por Miguel Subía.