

2022

## Evaluación de la sinonimia de los géneros *Oidaematophorus* y *Hellinsia* (Lepidoptera, Pterophoridae: Oidaematophorini) mediante aproximaciones moleculares y filogenéticas

Ana María Castañeda Pascuas  
*Universidad de La Salle, Bogotá, acastaneda26@unisalle.edu.co*

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia>



Part of the [Biology Commons](#)

---

### Citación recomendada

Castañeda Pascuas, A. M. (2022). Evaluación de la sinonimia de los géneros *Oidaematophorus* y *Hellinsia* (Lepidoptera, Pterophoridae: Oidaematophorini) mediante aproximaciones moleculares y filogenéticas. Retrieved from <https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia/131>

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Escuela de Ciencias Básicas y Aplicadas at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Biología by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact [ciencia@lasalle.edu.co](mailto:ciencia@lasalle.edu.co).

EVALUACIÓN DE LA SINONIMIA DE LOS GÉNEROS *OIDAEMATOPHORUS* Y  
*HELLINSIA* (LEPIDOPTERA, PTEROPHORIDAE: OIDAEMTOPHORINI) MEDIANTE  
APROXIMACIONES MOLECULARES Y FILOGENÉTICAS.

ANA MARÍA CASTAÑEDA PASCUAS

UNIVERSIDAD DE LA SALLE  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS  
PROGRAMA BIOLOGÍA  
BOGOTÁ D.C  
2022

EVALUACIÓN DE LA SINONIMIA DE LOS GÉNEROS *OIDAEMATOPHORUS* Y  
*HELLINSIA* (LEPIDOPTERA, PTEROPHORIDAE: OIDAEMTOPHORINI) MEDIANTE  
APROXIMACIONES MOLECULARES Y FILOGENÉTICAS.

**Ana María Castañeda Pascuas**

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

Directora:

PhD. Astrid Muñoz Ortiz

Codirector:

PhD. Luis Ernesto Beltrán Forero

UNIVERSIDAD DE LA SALLE  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS  
PROGRAMA BIOLOGÍA

2022

**i. Dedicatoria**

*A Dios, a mi madre y a la ciencia.*

*“La humanidad necesita hombres prácticos, que sacar el mayor provecho de su trabajo, y, sin olvidar el interés general, salvaguardar sus propios intereses. Pero la humanidad también necesita soñadores, para quienes el desarrollo de una tarea sea tan cautivante que les resulte imposible dedicar su atención a su propio beneficio”*

*Marie Curie*

## **ii. Agradecimientos**

Este proyecto fue posible gracias a muchas personas, primero agradezco a mi directora Astrid Muñoz, quien en mi vio un potencial para llevar a cabo este proyecto, que con su paciencia, tiempo y recursos hizo de esto posible, a mi codirector Luis Ernesto Beltrán por proveerme de sus secuencias para la utilización de este estudio, con su buen humor y paciencia. A los dos gracias infinitas por llevarme en este camino de enseñanza en esta fase de vida.

Agradezco a la Universidad de La Salle por facilitarme sus laboratorios e instalaciones para lograr este proyecto, a mis profesores por el conocimiento impartido a lo largo de la carrera.

Mi mayor gratitud, para mi mamá, quien con su apoyo por medio de sus principios y valores enseñados ha hecho lo que soy hoy como buen ser humano, a mis tías, por su preocupación y apoyo en mi proceso académico.

Agradezco a mis amigos por su respaldo, ayuda emocional y académica en este proyecto, a María por brindarme su amistad y darme ánimo. A Sebastián Briceño por su tiempo y ayuda, a Marco Tulio por sus consejos y disposición, a Nata, por su bondad y paciencia, a Jonatan por su comprensión y a todos mis amigos más cercanos que vivieron de cerca este proceso.

Tabla de contenido

<b>Resumen</b> .....	1
<b>1. Introducción</b> .....	4
<b>2. Objetivos</b> .....	8
<b>2.1 General</b> .....	8
<b>2.2 Específicos</b> .....	8
<b>3. Materiales y métodos</b> .....	8
<b>3.1 Obtención de las secuencias del fragmento COI</b> .....	8
<b>3.2 Extracción de ADN y Amplificación de los fragmentos del gen COI</b> .....	9
<b>3.3 Análisis filogenético</b> .....	10
<b>3.4 Descripción de la variación genética en la población del PNN Chingaza</b> .....	10
<b>4. Resultados</b> .....	11
<b>4.1 Análisis filogenéticos de los individuos pertenecientes a los géneros <i>Oidaematophorus</i> y <i>Hellinsia</i></b> .....	11
<b>4.2 Variación del fragmento <i>barcode</i> entre individuos de los géneros <i>Oidaematophorus</i> y <i>Hellinsia</i> provenientes del PNN Chingaza.</b> .....	16
<b>5. Discusión</b> .....	18
<b>6. Conclusiones</b> .....	23
<b>7. Bibliografía</b> .....	24

## Índices de figuras

<b>Figura 1 Filogenia de los géneros <i>Oidaematophorus</i> y <i>Hellinsia</i> a partir del criterio de Máxima Verosimilitud .....</b>	<b>13</b>
<b>Figura 2 Filogenia de los géneros <i>Oidaematophorus</i> y <i>Hellinsia</i> a partir del criterio de Inferencia Bayesiana .....</b>	<b>14</b>
<b>Figura 3 Filogenia de los géneros <i>Oidaematophorus</i> y <i>Hellinsia</i> a partir del criterio de Parsimonia .....</b>	<b>15</b>
<b>Figura 4 . Red de haplotipos para el fragmento barcode COI en individuos de <i>Hellinsia</i> y <i>Oidaematophorus</i> del PNN Chingaza.....</b>	<b>17</b>

## Índice de tablas

<b>Tabla 1 Descripción de polimorfismos para los individuos de <i>Hellinsia</i> y <i>Oidaematophorus</i> del PNN Chingaza. ....</b>	<b>17</b>
---	-----------

## Resumen

Uno de los grupos más diversos de herbívoros son los insectos, los cuales realizan contribuciones importantes a la estructura y función de los ecosistemas. La clasificación taxonómica de este grupo ha sido tradicionalmente propuesta a partir de caracteres fenotípicos, basándose principalmente en la identificación de homologías en caracteres morfológicos. Sin embargo, con la inclusión de otro tipo de caracteres, mayormente moleculares, el análisis de homologías ha llevado en algunos grupos taxonómicos a reevaluar su nominación, dado que se han identificado casos tanto de especies crípticas como de sinonimias. Este estudio tuvo como objetivo, dilucidar un caso propuesto de sinonimia taxonómica entre especies de los géneros de Lepidóptera: *Hellinsia* y *Oidaematophorus*, mediante el análisis de la variación de fragmento *barcode* de citocromo oxidasa subunidad I (COI), en secuencias de 78 individuos provenientes del PNN Chingaza en Colombia y de 23 secuencias de este mismo fragmento depositadas en las bases de datos (Genbank y Boldsystem). El análisis consto inicialmente de una aproximación filogenética con todas las secuencias disponibles. Los árboles obtenidos, independientemente del criterio de construcción; no evidenciaron sinonimia entre las especies, mostrando los individuos nombrados para cada género *Hellinsia* y *Oidaematophorus* dentro de dos taxa monofiléticos. Por otra parte, se analizó la variación del fragmento *barcode*, de los 78 individuos en la Quebrada Calostros-PNN Chingaza. Los resultados mostraron que, en esta localidad, no hay evidencia de variación genética compartida entre estos dos géneros, los cuales poseen una distancia genética entre sí para COI, de 66 cambios mutacionales. Adicionalmente, cada género tiene haplotipos exclusivos, con una alta diversidad haplotípica para ambos géneros *Oidaematophorus* ( $hd=0.892$ ) *Hellinsia* ( $hd=0.833$ ). No obstante, los valores son sutilmente diferentes cuando se estima diversidad nucleotídica ( $\pi_{(Hellinsia)}=0.015$  y  $\pi_{(Oidaematophorus)}=0.008$ ) y se estima variación genética en términos de Theta de Watterson  $\Theta_{(Hellinsia)}=0.015$  y  $\Theta_{(Oidaematophorus)}=0.029$ ). Los resultados de este estudio no solo establecen que la sinonimia taxonómica propuesta por algunos autores entre especies de *Oidaematophorus* y *Hellinsia* no es evidenciada cuando se emplean caracteres moleculares, sino también proporcionan un marco esencial para futuros estudios comparativos sobre la taxonomía de esta tribu y sobre la diversidad genética de los individuos esencialmente de *Oidaematophorus* y *Hellinsia*.



Adicionalmente, el aclarar el estatus taxonómico de estos herbívoros contribuye al entendimiento y estudio de dicha interacción en ecosistemas de alta montaña Neotropicales.

**Palabras clave:** herbívoros, morfología, moleculares, sinonimia, *barcode*, diversidad genética.

### **Abstract**

One of the most diverse groups of herbivores are insects, which make important contributions to the structure and function of ecosystems. The taxonomic classification of this group has traditionally been proposed on the basis of phenotypic characters, based mainly on the identification of homologies in morphological characters. However, with the inclusion of other types of characters, mostly molecular, the analysis of homologies has led some taxonomic groups to reevaluate their nomination, since cases of both cryptic species and synonymies have been identified. The objective of this study was to elucidate a proposed case of taxonomic synonymy between species of the Lepidoptera genera *Hellinsia* and *Oidaematophorus* by analyzing the variation of the barcode fragment of cytochrome oxidase subunit I (COI) in sequences of 78 individuals from Chingaza National Park in Colombia and 23 sequences of this same fragment deposited in the databases (Genbank and Boldsystem). The analysis consisted initially of a phylogenetic approach with all available sequences. The trees obtained, regardless of the construction criteria, did not show synonymy between species, showing the individuals named for each genus *Hellinsia* and *Oidaematophorus* within two monophyletic taxa. On the other hand, the variation of this barcode fragment was analyzed in a locality in Colombia, Quebrada Calostros-PNN Chingaza, where individuals of both genera have been identified. The results showed that, at this locality, there is no evidence of shared genetic variation between these two genera, which have a genetic distance between them for COI of 66 mutational changes. Additionally, each genus has unique haplotypes, with high haplotypic diversity for both genera *Oidaematophorus* ( $hd= 0.892$ ) and *Hellinsia* ( $hd=0.833$ ). However, the values are subtly different when nucleotide diversity is estimated ( $\pi_{(Hellinsia)}=0.015$  and  $\pi_{(Oidaematophorus)}=0.008$ ) and genetic variation is estimated in terms of Watterson's Theta  $\Theta_{(Hellinsia)}= 0.015$  and  $\Theta_{(Oidaematophorus)}= 0.029$ ). The results of this study not only establish that the taxonomic

synonymy proposed by some authors between species of *Oidaematophorus* and *Hellinsia* is not evidenced when molecular characters are employed, but also provide an essential framework for future comparative studies on the taxonomy of this tribe and on the genetic diversity of essentially *Oidaematophorus* and *Hellinsia* individuals. Additionally, clarifying the taxonomic status of these herbivores contributes to the understanding and study of such interaction in Neotropical high mountain ecosystems.

**Key words:** herbivores, morphology, molecular, synonymy, barcode, genetic diversity.

## 1. Introducción

La herbivoría, es un mecanismo de interacción planta-animal que presenta como fuente de alimentación por parte de los animales, el follaje tallos, raíces, flores, semillas y frutos de las plantas (Walker, 1999). Esta interacción, contribuye a la estructura y funcionamiento de los ecosistemas, a través del aumento de la tasa del ciclo de nutrientes, cambios en la cobertura vegetal y la composición de especies (Duncan et al., 2006). Esto último implica que la herbivoría afecta la demografía de las plantas, *vía* incrementos en la mortalidad o pérdida de tejido reproductivo, estructurando la diversidad y servicios de los ecosistemas a partir de la transferencia de materia y energía entre los diferentes niveles tróficos (Huntly, 1991; Schowalter, 2006; Scott et al., 2018).

Los insectos han sido considerados una de las clases taxonómicas más diversas del planeta y su contribución a la herbivoría es altamente destacable e importante. Wiens en 2015 llevó a cabo un estudio basado en la correlación de la herbivoría y la diversificación de los órdenes de los insectos evidenciando que, la herbivoría aumenta la diversificación de insectos en las escalas filogenéticas más amplias además de que ayuda a explicar los patrones de riqueza de especies en clados numerosos (Wiens et al., 2015). En estos organismos, la temperatura determina las respuestas metabólicas asociadas a su desarrollo y reproducción, por ende, también determina las tasas de crecimiento poblacional, las cuales son dependientes de la tasa de consumo-remoción de tejido vegetal (Battisti et al., 2006; Lemoine et al., 2014). Se ha reportado fundamentalmente que en zonas templada, los caracteres de historia de vidas en estos herbívoros (proporción de sexos, edad de la reproducción, tamaño en la madurez, patrón de crecimiento, longevidad, entre otros), pueden modificarse como consecuencia de los incrementos en la temperatura (Battisti et al., 2006; Parmesan, 2006). Un caso es el de las poblaciones en Norteamérica de *Dendroctonus rufipennis* o escarabajo del abeto, en las cuales se ha reportado que debido a cambios en la temperatura, se ha dado una reducción en la duración del ciclo de vida, conduciendo a una mayor tasa de consumo y remoción de tejido vegetal, llevando a un incremento en la mortalidad de sus plantas hospederas (pinos y abetos) (Battisti et al., 2006; Bentz & Jönsson, 2015; Logan et al., 2003; Stange & Ayres, 2010). Adicionalmente, estos cambios en la temperatura han modificado la distribución de algunas especies de insectos herbívoros ocasionando una migración latitudinal hacia las zonas polares

y hacia mayores elevaciones como es el caso de la mariposa saltarina de Sachem *Atalopedes campestris*, la cual ha expandido su frontera norte migrando 420 millas desde California a Washington D.C. en los últimos 35 años (Parmesan, 2006). Los cambios en la distribución de especies de insectos herbívoros, ha conducido a eventos de mortalidad masiva de plantas, modificando la estructura de los ecosistemas en las nuevas áreas de expansión, a través del cambio en la diversidad de las comunidades de plantas y otros insectos (Chen et al., 2011; Robinet & Roques, 2010; Schowalter, 2012). Para el entendimiento de las contribuciones de la herbivoría a la estructura y función de los ecosistemas no solo es necesario incluir el análisis del cambio de los caracteres de historia de vida de los insectos y plantas bajo diferentes condiciones ambientales (e.g. cambio climático), sino que, se requiere de una identificación taxonómica precisa de los componentes bióticos de la interacción insecto-planta.

La diversidad y clasificación de los insectos ha sido tradicionalmente planteada a partir de la identificación de homologías a nivel fenotípico, principalmente caracteres morfológicos como las genitalias de los adultos (Matos-Maraví et al., 2019). Sin embargo, la inclusión de más caracteres morfológicos, así como de otro tipo de caracteres, como los moleculares, en la identificación de homologías, han revelado, en algunas ocasiones, que la clasificación tradicional basada en caracteres morfológicos debe ser ajustada, ya que se han detectado casos tanto de especies crípticas como de sinonimias taxonómicas (Fišer et al., 2018). En los dos casos se evidencia una denominación equivocada de los taxones naturales, principalmente especies. En el caso de especies crípticas, individuos pertenecientes a taxa naturales diferentes, pero con altas similitudes a nivel morfológico, son denominados bajo el mismo nombre científico (Korshunova et al., 2019). Por otra parte, las sinonimias taxonómicas aparecen cuando individuos del mismo taxón natural, son descritos y denominados con diferentes nombres (Blackwelder, 1967). Talamas y colaboradores reportaron en 2013 un caso de sinonimia taxonómica, cuando examinaron en detalle caracteres morfológicos de un individuo de *T. halyopmorphae* comparándolo con el holotipo *T. japonicus*, encontrando homologías suficientes para proponer que *T. halyopmorphae* es un sinónimo taxonómico de *T. japonicus* (Talamas et al., 2013). Por otra parte, Tixier y colaboradores en 2011, implementaron la metodología de taxonomía integrativa, el uso de

diferentes caracteres (morfológicos, ecológicos, moleculares, otros), en individuos del género *Cydnodromus*, los resultados de este análisis evidenciaron la sinonimia taxonómica entre dos especies de ácaros depredadores, *C. idaeus* y *C. picanus*. Ayudándolos a entender mejor el rol biológico de estos individuos. (Tixier et al., 2011). Casos como estos, han conducido al aumento en el uso de marcadores moleculares, como herramientas complementarias para soportar la taxonomía convencional y así dar una resolución a los conflictos taxonómicos derivados del análisis de caracteres morfológicos que poseen algunos géneros (Klomp, 2019). Otras herramientas útiles provienen de los análisis filogenéticos, los cuales han sido utilizados para resolver relaciones entre los taxa, enfatizando en la historia evolutiva de los individuos (Klomp, 2019). Por último, otro ejemplo de esta sinonimia, que incluyó evidencia molecular y morfológica, en el análisis filogenético, reveló la presencia de dos especies sinónimas dentro del género *Scobura* (Lepidóptera) del norte de China (Huang et al., 2016). Así, un potencial caso de sinonimia podría involucrar individuos de lepidópteros, pertenecientes a los géneros *Oidaematophorus* (Wallengreen, 1862) y *Hellinsia* (Tutt, 1905) (Pterophoridae, tribu Oidaematophorini) (Barnes & Lindsey, 1921) en los Andes colombianos.

La familia Pterophoridae, tribu Oidaematophorini, comprende individuos cosmopolita, las larvas de estas polillas son enrolladoras de hojas o consumidoras de los tallos de las plantas, la mayoría de sus plantas hospederas pertenecen a la familia Asteraceae, Solanaceae, aunque se han reportado hospederos en otras 20 familias de plantas (Vargas & Parra, 2005). La identificación taxonómica de los individuos de los géneros *Oidaematophorus* y *Hellinsia* es en general, un reto, ya que la identificación a nivel morfológico en estadios juveniles, ha llevado a clasificar individuos de distinto género dentro del mismo grupo taxonómico (Hernández et al., 2014.) Sin embargo, al realizar el seguimiento de estos juveniles hasta el estadio adulto y realizar análisis a partir de caracteres diagnósticos clásicos, como las genitalias, se detectan las diferencias claras entre los individuos de estos dos géneros (Hernández et al., 2014). Estas observaciones han llevado a posiciones diferentes entre los expertos, con respecto a la taxonomía de estos dos géneros. Para algunos, no hay duda de la existencia de estos dos géneros como grupos naturales, pero los caracteres morfológicos entre varias especies, son insuficientes para diferenciar individuos de estos dos taxa (Barnes &

Lindsey, 1921). Esta idea es compartida por Gielis en 1991, quien propuso que las especies hasta el momento identificadas tanto del género *Oidaematophorus* y del género *Hellinsia* son grupos naturales. Sin embargo, el mismo autor, menciona que la tribu Oidaematophorini, a la cual pertenecen estos dos géneros, es una de las más complicadas de identificar morfológicamente por las fuertes similitudes entre sus individuos en estadio adulto y larval (Gielis, 2011). Otros autores han profundizado y han descrito morfológicamente especies de *Hellinsia* y otras especies de la tribu Oidaematophorini, identificando y nombrando a los sinónimos de las especies en estudio, pero sin dar una solución a la sinonimia, simplemente reconociéndola (Kim et al., 2010).

Este estudio propone dilucidar las sinonimias, si están presentes, y relaciones filogenéticas de especies de los géneros de insectos herbívoros *Oidaematophorus* y *Hellinsia* (Lepidoptera, Pterophoridae, tribu Oidaematophorini), asociados al frailejón *Espeletia grandiflora* (*Asteraceae*), en una localidad del Neotrópico dentro del Parque Nacional Natural Chingaza (Colombia). La hipótesis de investigación propone que las especies de estos dos géneros *Oidaematophorus* y *Hellinsia* son un caso de sinonimia taxonómica, el cual se verá evidenciado a nivel filogenético con todos los individuos haciendo parte del mismo grupo monofilético y a nivel poblacional mostrando flujogenético y variación genética característica de miembros de la misma especie. Los resultados obtenidos de este estudio, no solo aportarán al esclarecimiento taxonómico de los géneros *Oidaematophorus* y *Hellinsia* sino también contribuirán a futuro a entender con mayor precisión las contribuciones de los organismos herbívoros a la estructura y función de los ecosistemas tropicales de alta montaña.

## 2. Objetivos

### 2.1 General

Dilucidar mediante el análisis de las secuencias *barcode*: fragmento Citocromo Oxidasa subunidad I (COI) la sinonimia entre los géneros *Oidaematophorus* y *Hellinsia*.

### 2.2 Específicos

1. Identificar los patrones de divergencia a nivel filogenético de los géneros *Oidaematophorus* y *Hellinsia* a partir de secuencias *barcode* de bases de datos y de individuos del PNN Chingaza
2. Analizar la variación del fragmento *barcode* entre los géneros *Oidaematophorus* y *Hellinsia* de diferentes individuos provenientes de PNN Chingaza.

## 3. Materiales y métodos

### 3.1 Obtención de las secuencias del fragmento COI

Con el fin de poner a prueba la hipótesis de sinonimia entre los géneros *Oidaematophorus* spp. Wallengreen (1862) y *Hellinsia* spp. Tutt (1905), se analizaron 101 secuencias del fragmento *barcode* del gen citocromo oxidasa I (COI), provenientes de individuos clasificados dentro de estos dos taxa. De esta muestra, 73 individuos fueron colectados sobre especímenes de frailejón *Espeletia grandiflora* y secuenciados por L.E. Beltrán entre los años 2014 a 2016, en la Quebrada Calostros (4°39' N, 73°52' W) del Parque Nacional Natural Chingaza (PNN Chingaza-Colombia) (Beltrán, 2017). La clasificación de estos 73 individuos a nivel de larva fue a partir del análisis de la secuencia *barcode* llegando hasta género en 66 de los especímenes y hasta familia para los 7 restantes. Durante 2019, 5 individuos provenientes de la misma localidad fueron colectados en estadio larval y corroborados con el fragmento *barcode*. Adicionalmente 13 secuencias de *Oidaematophorus* spp. y 10 de *Hellinsia* spp. (fueron obtenidas de las bases de datos de Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) y Boldsystem

(<http://www.boldsystems.org/index.php/>), estas secuencias correspondieron a individuos de Canadá (CA), Estados Unidos (USA), Austria (AUS), Estonia (EST), Alemania (ALE) Italia (ITA) y Finlandia (FIN) (Anexo 1).

### 3.2 Extracción de ADN y Amplificación de los fragmentos del gen COI

Para los individuos colectados en estadio larval durante 2019, el ADN genómico, fue aislado usando el kit comercial DNesasy (QIAGEN, Inc.). Se amplificó el segmento *Barcode* del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa Subunidad I (COI) con la técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR) empleando los *primers* degenerados: LCO1490 (5'–GGTCAACAAATCATAAAGAYATYGG–3') y HCO2198 (5'–TAAACTTCAGGGTGACCAAARAAYCA–3').

La reacción de amplificación de COI se realizó en un volumen total de 30µL. La estandarización de la reacción así como los tiempos en el termociclador se ajustaron basándose en el protocolo propuesto por Hebert y colaboradores para el fragmento COI (Hebert et al., 2003). Este fragmento posee aproximadamente 658 pares de bases, y las condiciones del ciclo de amplificación fueron a 94°C durante 2 min, seguido por 40 ciclos de: 92 ° C durante 45 s, un anillamiento de 50 ° C durante 60 s, y con una extensión final a 72 ° C durante 2 min y mantener a 25 ° C.

Los productos de PCR para los fragmentos COI fueron visualizados en un gel de electroforesis, y posteriormente enviados, para limpieza y secuenciación con el método Sanger a los laboratorios de Macrogen, Corea ([www.macrogen.com/ko/main/index.php](http://www.macrogen.com/ko/main/index.php)). Los electroferogramas fueron limpiados y editados en el software Geneious 11.1.3 (<https://www.geneious.com/>). Las secuencias obtenidas, fueron comprobadas con un BLAST, seguido de un alineamiento inicial con el algoritmo de alineamiento múltiple MUSCLE (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle>) y fueron verificadas visualmente, finalmente, la traducción de ADN a proteína en el software *Bioedit* para una correcta confirmación (Alzohairy, 2011).



### 3.3 Análisis filogenético

A partir de las 101 secuencias en total, se realizó un único alineamiento para establecer las homologías entre los caracteres con el algoritmo de alineamiento múltiple MUSCLE (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle>). Con el objetivo de esclarecer la sinonimia entre *Oidaematophorus spp.* y *Hellinsia spp.* ver las similitudes y comparaciones en las topologías de los árboles, se construyeron hipótesis filogenéticas a partir de los criterios de Máxima Verosimilitud (o Likelihood), Inferencia Bayesiana y Parsimonia,. El criterio de máxima verosimilitud (ML), fue implementado en el software IQTREE (Nguyen et al., 2015), usando el modelo de sustitución GTR+F+I+G4, el cual se determinó con base en el criterio AICc usando el programa de Modeltest (Posada & Crandall, 1998). Para este análisis se definieron de 10000 réplicas de ultrafastbootstrap (UFBoot): el cual posee un soporte del 95% de que un clado sea verdadero (Minh et al., 2013). La hipótesis construida a partir del criterio de la inferencia Bayesiana (IB) fue obtenida con en el software Beast (Aduse-Poku et al., 2017), implementando los siguientes priors: el modelo de sustitución GTR (estimado con Modeltest), las frecuencias de las bases fueron estimadas por el mismo software, y el número de cadenas de Markov MCMC se basó en un estudio similar a Zaspel y colaboradores en 2014, con 50 millones de cadenas, con un calentamiento previo de 25 millones de cadenas usadas en el burnin, por último el modelo de estimación del árbol (tree prior) usado fue el de especiación de Yule (Brownlee, 2019; Steel & McKenzie, 2001). El criterio de Parsimonia, se implementó en el software MEGA (Kumar et al., 2018) con un análisis de 1000 réplicas de Bootstrap, el método de búsqueda SPR (subtree pruning regrafting), un número inicial de árboles de 10 y un máximo número de árboles a retener 100.

Es importante resaltar que para estos análisis se incluyó la secuencia del organismo tipo: *Oiaematophorus espeletiae*, la cual fue una nueva especie descrita en el PNN Chingaza (Hernández et al., 2014), y las secuencias de dos individuos de *Xesquita perquiritata* (Noctuidae) y *Hebomoia glaucippe* (Pieridae) como grupos externos (Anexo 1).

### 3.4 Descripción de la variación genética en la población del PNN Chingaza

Con el fin de complementar las relaciones filogenéticas, se realizó, la variación genética la cual, fue inicialmente descrita mediante una red de haplotipos con el software PopArt (Leigh

& Bryant, 2015), esta red es estimada a partir de los sitios polimórficos mediante el algoritmo templeton TCS (Templeton et al., 1992). Igualmente se estimaron algunos polimorfismos de ADN para acompañar esta descripción. Dentro de estos polimorfismos están: i) la diversidad haplotípica (hd), la cual se calcula con el número de cambios nucleotídicos en todas las secuencias de la muestra (Innan et al., 1999), ii) diversidad nucleotídica ( $\pi$ ), en la que se estima el número promedio de diferencias nucleotídicas por sitio entre pares de secuencias y iii) el estimador de variación genética Theta de Waterson ( $\theta_w$ ), “mide la variación genética como la tasa de mutación a escala de la población utilizando el número de sitios de segregantes” (Subramanian, 2016). Estos polimorfismos fueron obtenidos en el programa DNAsp (Rozas et al., 2017).

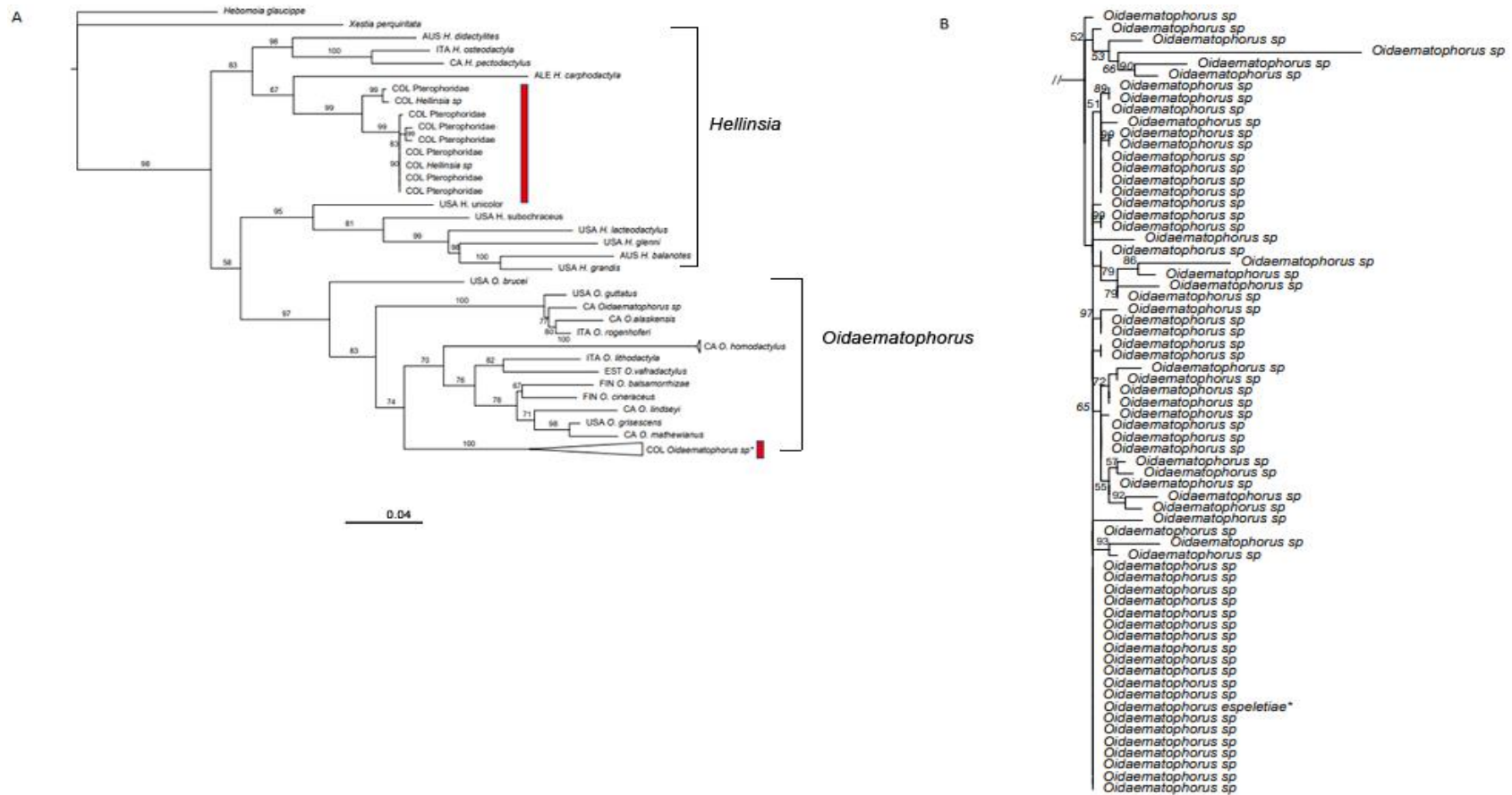
#### 4. Resultados

##### 4.1 Análisis filogenéticos de los individuos pertenecientes a los géneros *Oidaematophorus* y *Hellinsia*

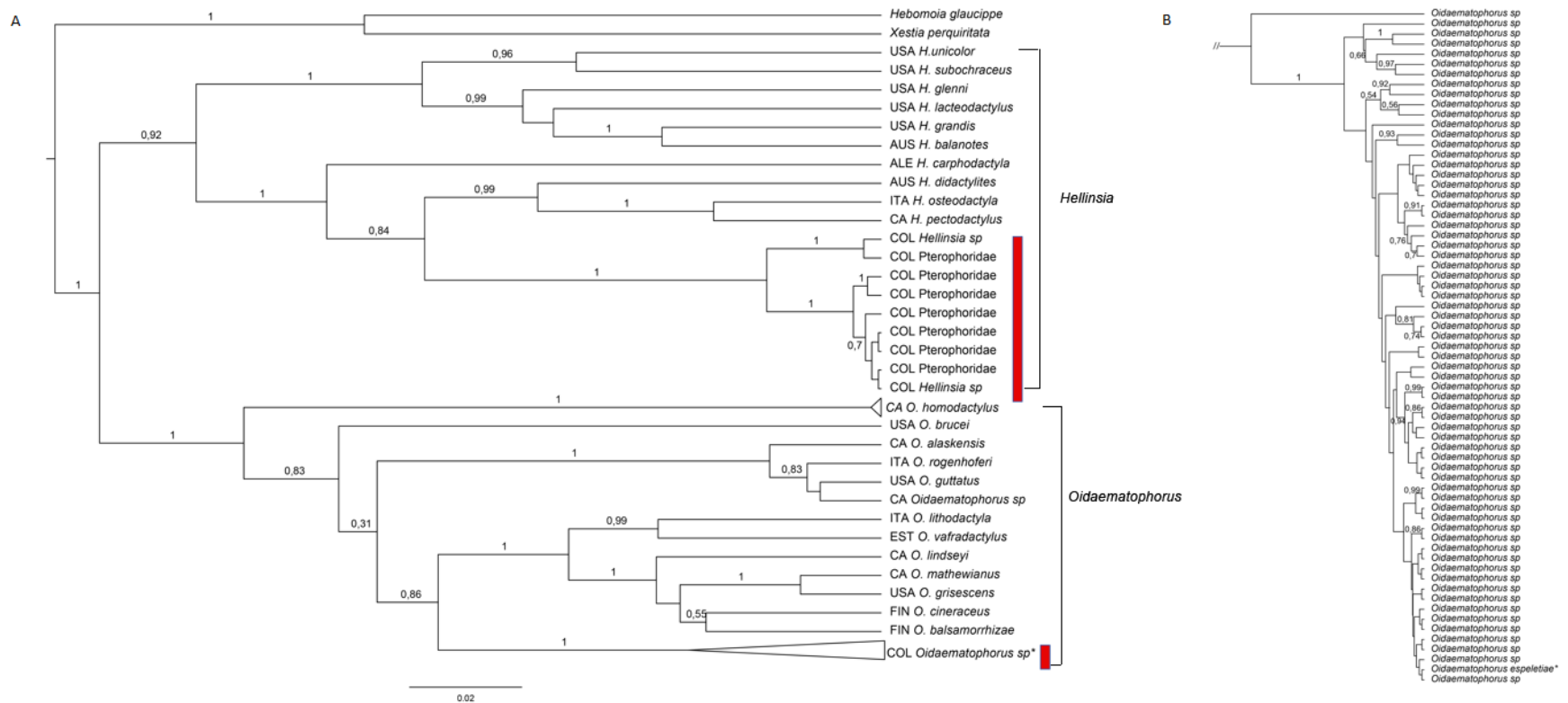
El análisis filogenético se realizó a partir de una matriz compuesta por 101 secuencias, de individuos de *Oidaematophorus* y *Hellinsia*, una secuencia tipo de *Oidaematophorus espelietae* y dos outgroups. La matriz contenía para cada una de estas secuencias, 565 pares de bases (bp), pertenecientes al fragmento mitocondrial *barcode* COI. Los árboles obtenidos a partir de los criterios de Máxima Verosimilitud - ML (Figura 1) Inferencia Bayesiana - IB (Figura 2), y Parsimonia - PS (Figura 3), mostraron una alta congruencia entre ellos, con respecto a la topología y en las relaciones entre los individuos de los géneros *Hellinsia* y *Oidaematophorus*. Inicialmente, en los tres árboles se destacan dos grandes grupos o clados correspondientes a secuencias de *Hellinsia* y *Oidaematophorus*, evidenciando la monofilia para cada género (ML:  $\text{bootstrap}_{(Hellinsia)}=83$  y  $\text{bootstrap}_{(Oidaematophorus)} = 56$ ; IB:  $\text{PP}_{(Hellinsia)}=0,92$  y  $\text{PP}_{(Oidaematophorus)} = 1$ ; PS:  $\text{bootstrap}_{(Hellinsia)} = 63$  y  $\text{bootstrap}_{(Oidaematophorus)}=70$ ).

En cuanto a la resolución de la sinonimia de estos dos géneros colectados en PNN Chingaza se destacan los siguientes resultados. i) 9 individuos provenientes de la población de PNN Chingaza que previamente fueron clasificados dentro de la familia como Pterophoridae y que

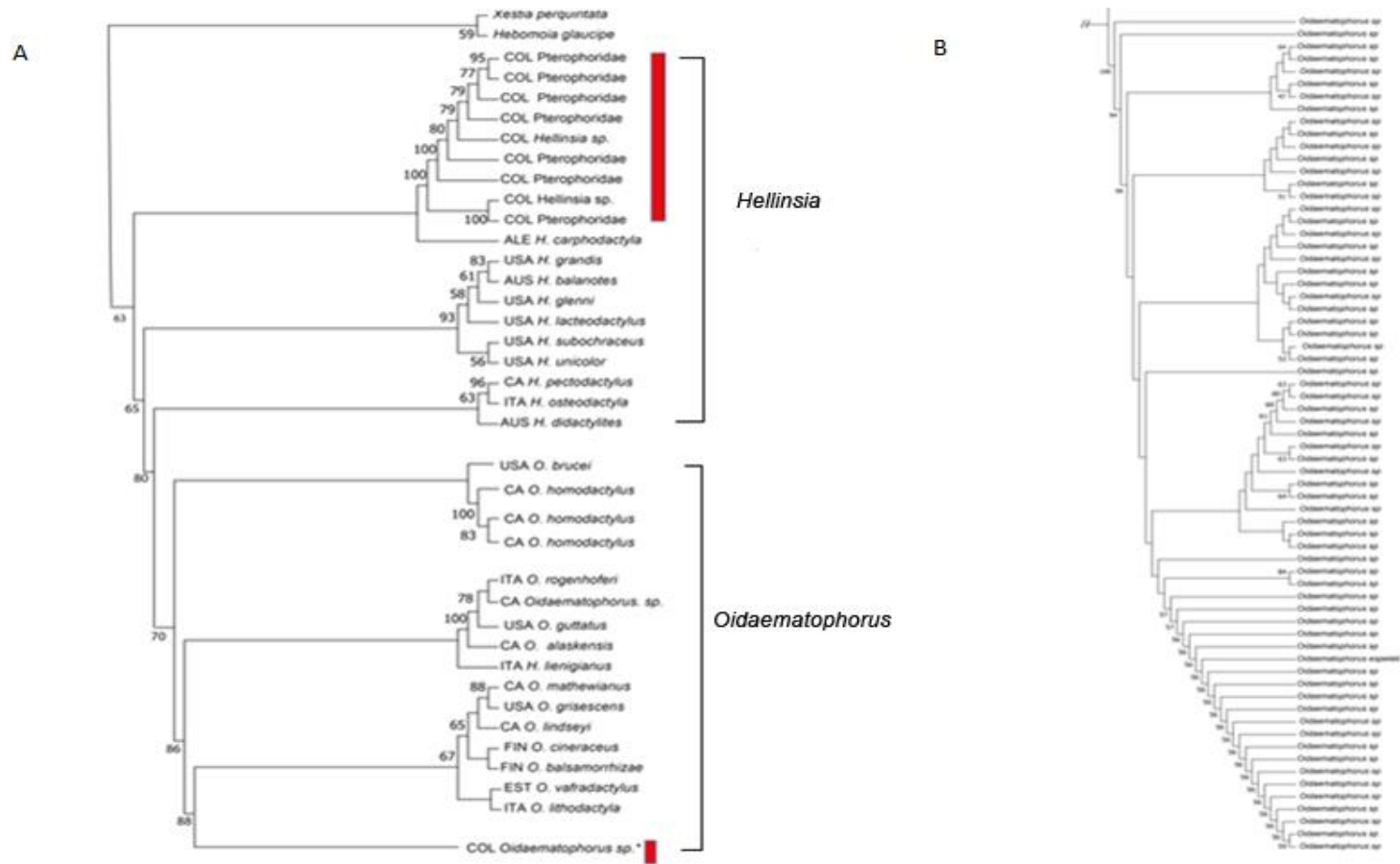
no pudieron ser identificados hasta el nivel de género, se mostraron agrupados junto con individuos del género *Hellinsia* (ML: bootstrap(*Hellinsia*)= 99, IB: PP(*Hellinsia*)=1, PS: bootstrap(*Hellinsia*)=<50), lo que permite concluir que son organismos pertenecientes a este taxón (Figuras 1A, 2A y 3A). Igualmente, 69 individuos de *Oidaematophorus* se agruparon en un único clado, diferente al conformado por los individuos del género *Hellinsia* (ML: bootstrap(*Oidaematophorus*)=100; IB: PP (*Oidaematophorus*)=1; PS: bootstrap(*Oidaematophorus*)=<50; Figuras 1B, 2B y 3B). Este resultado evidencia que las especies de estos dos géneros muestran coherencia y correspondencia entre sus caracteres morfológicos y moleculares debilitando la hipótesis de sinonimia.



**Figura 1** Filogenia de los géneros *Oidaematophorus* y *Hellinsia* a partir del criterio de Máxima Verosimilitud. Los géneros hacen parte de un mismo árbol, sin embargo, se muestra en detalle cada relación. **A.** Relaciones de ancestría y descendencia de los individuos de Chingaza y los disponibles en bases de datos. **B.** Detalle del clado formado por los individuos de *Oidaematophorus* de Colombia. El (\*) en el panel B resalta la secuencia del organismo tipo, *Oidaematophorus espeletiae*. Las barras rojas muestran a los individuos en Colombia. Los números en las ramas corresponden a los valores de soporte de bootstrap.



**Figura 2 Filogenia de los géneros *Oidaematophorus* y *Hellinsia* a partir del criterio de Inferencia Bayesiana.** Los géneros hacen parte de un mismo árbol, sin embargo, se muestra en detalle cada relación. **A.** Relaciones de ancestría y descendencia de los individuos de Chingaza y los disponibles en bases de datos. **B.** Detalle del clado formado por los individuos de *Oidaematophorus*. De Colombia. El asterisco (\*) en el panel B resalta la secuencia del organismo tipo, *Oidaematophorus espeletiae*. Las barras rojas muestran a los individuos de Colombia. Los números en las ramas corresponden a valores de soporte de probabilidad posterior.



**Figura 3 Filogenia de los géneros *Oidaematophorus* y *Hellinsia* a partir del criterio de Parsimonia.** Los géneros hacen parte de un mismo árbol, sin embargo, se muestra en detalle cada relación. **A.** Relaciones de ancestría y descendencia de los individuos de Chingaza y los disponibles en bases de datos. **B.** Detalle del clado formado por los individuos de *Oidaematophorus*. De Colombia. El asterisco (\*) en el panel B resalta la secuencia del organismo tipo, *Oidaematophorus espeletiae*. Las barras rojas muestran a los individuos de Colombia. Los números en las ramas corresponden a los valores de soporte de bootstrap. Los valores de soporte <50 no se tuvieron en cuenta en la filogenia.

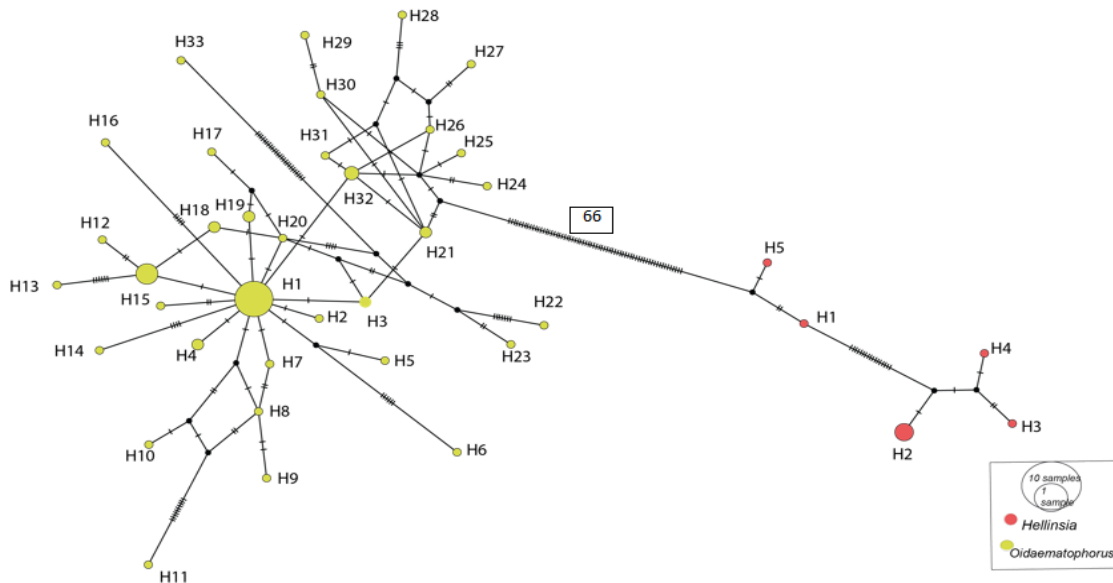
#### **4.2 Variación del fragmento *barcode* entre individuos de los géneros *Oidaematophorus* y *Hellinsia* provenientes del PNN Chingaza.**

Un total de 38 haplotipos se obtuvieron entre los 78 individuos provenientes de PNN Chingaza, 6 haplotipos pertenecientes al género *Hellinsia* y 32 haplotipos pertenecientes al género *Oidaematophorus* (Tabla 1 y Figura 4). Los resultados de la red de haplotípica son congruentes con lo evidenciado en las hipótesis filogenéticas, ya que aparecen separados los haplotipos de los individuos clasificados dentro de estos dos géneros: *Oidaematophorus* y *Hellinsia*, por 66 cambios mutacionales en esta población del PNN Chingaza. Adicionalmente, la red no evidencia haplotipos compartidos entre los dos géneros, soportando la monofilia para cada uno de estos dos taxa.

Por otra parte, la descripción de polimorfismos mostró que, en la población del PNN Chingaza, el género *Oidaematophorus* posee un valor mayor de sitios polimórficos o segregantes, así como una mayor diversidad haplotípica ( $h=0,893$ ) con respecto a la agrupación del género *Hellinsia* ( $h=0,833$ ) (Tabla 1). Sin embargo, para ambas poblaciones la diversidad genética en cuanto a los índices de  $\pi$  y  $\Theta$  fueron bajos,  $\pi_{(Hellinsia)}=0.015$  y  $\pi_{(Oidaematophorus)}=0.008$ ;  $\Theta_{(Hellinsia)}=0.015$  y  $\Theta_{(Oidaematophorus)}=0.029$  respectivamente. Esta descripción de la variación genética evidencia que los dos géneros se encuentran separados, descartándose la hipótesis de la sinonimia

**Tabla 1 Descripción de polimorfismos para los individuos de *Hellinsia* y *Oidaematophorus* del PNN Chingaza.**

Población	n	No. de haplotipos	Sitios segregantes (S)	Diversidad haplotípica (hd)	Diversidad nucleotídica $\pi$	$\Theta$ Estimador de Watterson
<i>Hellinsia</i>	9	6	24	0,833	0,015	0,015
<i>Oidaematophorus</i>	69	32	79	0,892	0,008	0,029



**Figura 4 . Red de haplotipos para el fragmento barcode COI en individuos de *Hellinsia* y *Oidaematophorus* del PNN Chingaza.** Las burbujas muestran el tamaño de los haplotipos, la más grande contiene más de 10 muestras (H1 amarillo) y la más pequeña, corresponde a una muestra.



## 5. Discusión

La tribu Oidaematophorini posee un alto rango de distribución debido a su capacidad de adaptarse a diferentes ambientes (Kim et al., 2010). Aunque estas características sean reconocidas para la tribu, la taxonomía basada en caracteres morfológicos de los estadios larvales y adultos no del todo concluyente a nivel de género y especie (Gielis, 1991). Esta observación fue claramente evidenciada durante el desarrollo de este proyecto, en el cual individuos de los géneros *Hellinsia* y *Oidaematophorus* en una población del PNN Chingaza, fueron difícilmente distinguibles a nivel de larva. Este hecho, corrobora lo propuesto por Gielis en 2011, en donde menciona que la tribu Oidaematophorini, a la cual pertenecen estos dos géneros, es una de las más complicadas de identificar debido a las similitudes morfológicas entre sus individuos en estadio adulto y larval (Gielis, 2011).

Por otra parte, y de manera particular Hernández y colaboradores en 2014, describieron a *Oidaematophorus espeletiae* como nueva especie, a partir de un individuo colectado en la localidad del PNN Chingaza visitada también en este estudio. Estos mismos autores, resaltaron que esta especie, *O. espeletiae*, a pesar de mostrar caracteres muy similares con *Hellinsia conjunctus* diferían morfológicamente en la maculación del ala y la forma sacular de la genitalia masculina (Gielis, 1993; Hernández et al., 2014). Adicionalmente, llaman la atención sobre individuos de esta misma población que previamente catalogaron dentro del género *Hellinsia* y que después de esta revisión en 2014, fueron catalogados como miembros del género *Oidaematophorus* (Salinas et al., 2013; Hernández et al., 2014).

A pesar de las dificultades que en ocasiones los análisis de caracteres morfológicos pueden presentar a la hora de establecer la taxonomía en individuos de los géneros de *Hellinsia* y *Oidaematophorus*, la implementación de caracteres moleculares, como el fragmento *barcode* COI, proporciona una alta resolución y soporte para diferenciar estos dos taxa (Figuras 1, 2 y 3). Las hipótesis filogenéticas mantuvieron la misma topología para los miembros de este grupo y soportes de ramas altos y confiables. Cabe resaltar que la hipótesis obtenida a partir del criterio de Parsimonia fue la única con valores de soporte menores del 50%, para los clados de interés. Para este método, es recomendable postular un mayor rigor en los

parámetros, como, aumentar el número de réplicas de bootstrap (Pattengale et al., 2009) o presentar un mejor ajuste de la búsqueda (Müller, 2005).

A pesar de las diferencias en los soportes de las ramas acorde a cada criterio bajo el cual las hipótesis filogenéticas fueron construidas los resultados en todos los arboles confirman que los individuos tanto de *Hellinsia* como de *Oidaematophorus* son agrupados en diferentes clados y constituyen dos taxa diferentes (Figuras 1,2 y 3). En la población del PNN Chingaza, no se evidencia conflicto de sinonimia taxonómica entre organismos de estos dos géneros, los cuales están presentes en simpatria en esta localidad, de manera particular, la mayor cantidad de individuos de esta tribu a nivel de larva y sobre individuos de *E. grandiflora*, pertenecen al género *Oidaematophorus* con 69 individuos más que al género *Hellinsia* (9 individuos).

Es sorprendente que aunque se reconozcan los inconvenientes a nivel taxonómico que presenta esta tribu, son pocas las filogenias disponibles, y específicas para este grupo, ya que normalmente individuos de este taxón se encuentran en hipótesis filogenéticas más amplias del orden Lepidoptera (Alipanah et al., 2011). Una de estas hipótesis disponibles y que es congruente con los resultados de este estudio fue propuesta por Alipanah y colaboradores en 2011, en la cual se incluyeron individuos de las tribus Oxyptilini, Oidaematophorini, Exelastini, Pterophorini y Platyptiliini (Alipanah et al., 2011). La hipótesis fue construida a partir de caracteres taxonómicamente tradicionales (morfológicos) y moleculares, que permitieron esclarecer varias ambigüedades taxonómicas y revelar algunas interrelaciones entre los géneros de estas tribus. (Alipanah et al., 2011). Un resultado destacable fue la definición de cada tribu como un taxón monofilético y que las tribus Oidaematophorini y Pterophorini constituían clados hermanos. (Alipanah et al., 2011). Además de tener una visión general de las tribus, se rescata que la tribu Oidaematophorini pertenece a un solo clado, y en este estudio se amplió para dos géneros pertenecientes a esta, demostrando la monofilia para cada uno. Adicionalmente, otro estudio similar a nuestros resultados demostró bajo la metodología de taxonomía integrativa (caracteres morfológicos y moleculares) en individuos del género *Oidaematophorus*, que estos hacían parte de un grupo monofilético, contrastándolo con otras especies de la tribu Oidaematophorini (Vargas, 2021)

Aunque se reconoce que los miembros de esta tribu tienen una amplia distribución geográfica, la información a nivel de diversidad genética poblacional para las especies es escasa, y aún más, para zonas tropicales y en ecosistemas de alta montaña tropical como en Colombia. Los resultados de este estudio son el primer acercamiento a la descripción genética de una población en el Neotrópico como el PNN Chingaza (Tabla 1 y Figura 4) Los valores más altos de diversidad haplotípica para el grupo conformado por individuos de *Oidaematophorus*, con respecto al grupo de *Hellinsia* podría ser un reflejo de un mayor tamaño poblacional de este género en esta localidad con respecto a la cantidad de individuos de *Hellinsia*, lo cual fue evidenciado en las colectas para *Oidaematophorus* (n=69) y *Hellinsia* (n= 9). Algunos autores postulan que bajo la teoría neutral, la diversidad genética aumentará con un mayor tamaño poblacional (Frankham, 1996; Hague & Routman, 2016; Mackintosh et al., 2019) haciendo coherente este postulado para las poblaciones de la localidad de Chingaza. Un estudio, comparó los tamaños poblacionales y la variación del gen COX1 en individuos de krill (*E. superba*) y en individuos de la especie de abejorro (*B. ardens*) concluyendo que un tamaño de muestra  $n < 5$  puede generar estimaciones muy variables que dificultan las comparaciones precisas de los polimorfismos  $h$  y  $\pi$ , en contraste con los tamaños de muestra más elevados ( $n > 25$ ) los cuales demostraron ser suficientes para discriminar poblaciones de baja diversidad (Goodall-Copestake et al., 2012). Esto podría ser los reflejado en la población del PNN Chingaza, en la que *Hellinsia* de manera específica tiene un número muy bajo de individuos. Igualmente, esta relación entre el tamaño poblacional y la diversidad genética fue observada en un estudio de lagartos con densidades poblacionales altas y bajas, en donde las especies con una mayor abundancia casi siempre tenían niveles más altos de diversidad de haplotipos (Hague & Routman, 2016). No obstante discutir sobre tamaño poblacional puede ser precipitado sino se tiene en cuenta otros factores, como la geografía, historia de la población, tasas de mutación y/o subdivisión, entre otras (Hague & Routman, 2016).

Grant y Bowen en 1998, categorizan los valores de variación genética de la siguiente manera los valores de diversidad haplotípica ( $hd$ ) varían en una escala entre 0-1, mientras que, la diversidad nucleotídica  $\pi$ , puede ser llevada a una escala porcentual, en donde 0 es ausencia de divergencia y más de 10%, a una muy marcada divergencia, Adicionalmente a este soporte, valores  $>0,1$  son presentados como valores altos que puede tomar la diversidad nucleotídica, siendo por el contrario valores  $<0.1$  valores pequeños o bajos de diversidad nucleotídica (Rozas, 2009). Estos autores, proponen cuatro categorías para clasificar los valores de diversidad siendo los resultados de la población de Chingaza consistentes con la segunda categoría, en la cual se encuentran valores altos de diversidad haplotípica  $hd_{(Oidaematophorus)} = 0.892$ ;  $hd_{(Hellinsia)} = 0.833$  y bajos valores de diversidad nucleotídica ( $\pi_{(Hellinsia)} = 0.015$  y  $\pi_{(Oidaematophorus)} = 0.008$ ;  $\Theta_{(Hellinsia)} = 0.008$  y  $\Theta_{(Oidaematophorus)} = 0.029$ ), estos valores son atribuidos a una expansión poblacional después de un periodo de bajo tamaño poblacional efectivo. Otro estudio similar que respalda estos valores se dio en especies de lepidópteros de la familia Lycaenidae, determinando que los valores altos de diversidad haplotípica y los bajos valores de  $\pi$  y  $\Theta$  eran el resultado de una rápida expansión poblacional seguido del efecto de cuello de botella o selección actuando en alguna porción del genoma mitocondrial. (Lohman et al., 2008).

La evidencia apunta a que este patrón de polimorfismos observado en el PNN Chingaza puede ser producto de eventos demográficos. En este estudio en particular, las polillas pluma del PNN Chingaza pudieron haber sufrido un proceso de expansión seguido de un posible fenómeno de efecto de cuello de botella, estos cuellos de botella, resultan en una disminución dramática de la diversidad genética y pueden ser causados por eventos tales como la introducción de nuevos patógenos o depredadores, o la pérdida de hábitat (cambio climático)(Kohli et al., 2018). Esto, contribuyó a los planteamientos formulados por Salinas en 2013, el cual planteó primero la posible causa acerca de la presencia de estos individuos, mencionando que i) “inicialmente no se evidenciaron en el ecosistema anteriormente, siendo que pudo haber estado en la zona de Páramo pero no fue reportada con anterioridad” y el segundo planteamiento podemos atribuir a una posible expansión demográfica siendo que, ii) “probablemente con el incremento de la temperatura haya influido en el aumento de la población, producto de una mayor reproducción y dispersión, la cual, pudo haberse

dispersado desde otros lugares, y al encontrar condiciones óptimas para su desarrollo, se estableció en el páramo, favorecida por la ausencia de controladores biológicos que regulen la población” (Salinas et al., 2013). Esta expansión también puede deberse a la capacidad de desplazamiento de estos individuos, un estudio evidenció que la especie *Oidaematophorus pseudotrachyphloeus*, amplió su área de distribución en más de 2000 km hacia el sur, en una región desértica, en Chile, mencionando su capacidad de adaptación a otras plantas huésped (Vargas, 2021). A pesar de que se mencionó inicialmente que estas poblaciones pudieron haber sufrido un fenómeno de cuello de botella en algún momento de su historia evolutiva, hacer inferencia de esto requiere un análisis y modelamiento más robusto para poder tener una mejor contribución, aun así, este estudio brinda un acercamiento a posibles entendimientos de la dinámica de estos géneros en la zona tropical y más en específico en el ecosistema de Páramo.

La resolución de la incertidumbre taxonómica generada por la potencial sinonimia entre especies de *Oidaematophorus* y *Hellinsia*, permite proponer que los individuos de la familia Pterophoridae que consumen sobre *E. grandiflora* en el PNN Chingaza están generando un mayor grado de afectación al ecosistema, o por lo menos a los individuos de *E. grandiflora*, pertenecen a los géneros *Oidaematophorus* y *Hellinsia*. Esta información permite entender las contribuciones que hacen cada uno de estos géneros de herbívoros a la demografía y remoción de biomasa en el ecosistema de Páramo. La afectación de estos lepidópteros a los frailejones contribuyen de manera negativa, afectando a las plantas y por ende la demografía de *Espeletia*, creando un perfil característico en *E. grandiflora* los cuales se manifiestan con entorchamiento, pérdida de turgencia en las hojas y por último atrofiando las hojas del meristemo (Muñoz, 2015). Además, aumentando la susceptibilidad a enfermedades (Salinas et al., 2013). Toda esta herbivoría ha sido favorecida por los cambios de temperatura, promoviendo que muchas especies de insectos se desplacen o aumenten sus rangos de distribución, en zonas de alta montaña, debido a su alta sensibilidad a estas variaciones en la temperatura. En el caso del PNN Chingaza, señalan un potencial patrón altitudinal en la dispersión de las polillas de estos géneros, al hallar algunos insectos en el bosque alto Andino y en las regiones de subpáramo, asociándola con posibles migraciones (Salinas et al., 2013).

Finalmente, la taxonomía integrativa busca llenar esos gaps del conocimiento utilizando diversas disciplinas. Todo este estudio, se basó en comprender áreas principales para desarrollarlo, las moleculares basadas en el fragmento *barcode*, que llevó a mostrar las filogenias con los criterios, la variación genética de este fragmento, mirando la historia evolutiva de la tribu, forma de alimentación y parte de su interacción con las plantas hospedadas.

## **6. Conclusiones**

Este estudio logró evidenciar que en los géneros *Oidaematophorus* y *Hellinsia* pertenecientes al PNN Chingaza no se evidenció sinonimia, todo esto soportado con los análisis filogenéticos, además respaldado con la red haplotípica y la variación del fragmento *barcode* citocromo oxidasa subunidad I.

Esta investigación no solo contribuye con información de base para resolver futuros interrogantes sobre el estudio de estos dos géneros y el impacto en otros Páramos, sino también, se recomienda desarrollar estudios de taxonomía integrativa, diversidad genética, relaciones filogenéticas y ecológicas de organismos herbívoros pertenecientes al ecosistema de Páramo, como también adelantar investigaciones de cómo responden demográficamente los insectos herbívoros en cuanto al cambio climático en el Páramo.

## 7. Bibliografía

- Aduse-Poku, K., Brakefield, P. M., Wahlberg, N., & Brattström, O. (2017). Expanded molecular phylogeny of the genus *Bicyclus* (Lepidoptera: Nymphalidae) shows the importance of increased sampling for detecting semi-cryptic species and highlights potentials for future studies. *Systematics and Biodiversity*, 15(2), 115-130. <https://doi.org/10.1080/14772000.2016.1226979>
- Alipanah, H., Gielis, C., Sari, A., Sarafrazi, A., & Manzari, S. (2011). Phylogenetic relationships in the tribe Oxyptilini (Lepidoptera, Pterophoridae, Pterophorinae) based on morphological data of adults: PHYLOGENETIC STUDY OF OXYPTILINI. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 163(2), 484-547. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2011.00705.x>
- Alzohairy, A. (2011). BioEdit: An important software for molecular biology. *GERF Bulletin of Biosciences*, 2, 60-61.
- Barnes, W., & Lindsey, A. (1921). The Pterophoridae of America, North of Mexico, By William Barnes and A.W. Lindsey.
- Battisti, A., Stastny, M., Buffo, E., & Larsson, S. (2006). A rapid altitudinal range expansion in the pine processionary moth produced by the 2003 climatic anomaly. *Global Change Biology*, 12(4), 662-671. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01124.x>
- Bentz, B. J., & Jönsson, A. M. (2015). Modeling Bark Beetle Responses to Climate Change. En *Bark Beetles* (pp. 533-553). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417156-5.00013-7>
- Blackwelder, R. E. (1967). *Taxonomy; a text and reference book*. New York, Wiley. [http://archive.org/details/taxonomytextrefe0000blac\\_g4j5](http://archive.org/details/taxonomytextrefe0000blac_g4j5)
- Brownlee, J. (2019, noviembre 5). A Gentle Introduction to Markov Chain Monte Carlo for Probability. *Machine Learning Mastery*. <https://machinelearningmastery.com/markov-chain-monte-carlo-for-probability/>
- Chen, I.-C., Hill, J., Ohlemüller, R., Roy, D. B., & Thomas, C. (2011). Rapid Range Shifts of Species Associated with High Levels of Climate Warming. *Science (New York, N.Y.)*, 333, 1024-1026. <https://doi.org/10.1126/science.1206432>
- Duncan, A. J., Ginane, C., Elston, D. A., Kunaver, A., & Gordon, I. J. (2006). How do herbivores trade-off the positive and negative consequences of diet selection decisions? *Animal Behaviour*, 71(1), 93-99. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2005.03.035>
- Fišer, C., Robinson, C. T., & Malard, F. (2018). Cryptic species as a window into the paradigm shift of the species concept. *Molecular Ecology*, 27(3), 613-635. <https://doi.org/10.1111/mec.14486>

- Frankham, R. (1996). Relationship of Genetic Variation to Population Size in Wildlife. *Conservation Biology*, 10(6), 1500-1508. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1996.10061500.x>
- Gielis, C. (1991). A taxonomic review of the Pterophoridae (Lepidoptera) from Argentina and Chile.
- Gielis, C. (1993). Generic revision of the superfamily Pterophoroidea (Lepidoptera). *Zoologische Verhandelingen*, 290.
- Gielis, C. (2011). Review of the Neotropical species of the family Pterophoridae, part 2: Pterophorinae (Oidaematophorini, Pterophorini) (Lepidoptera). *Zoologische Mededelingen, Leiden*.
- Goodall-Copestake, W. P., Tarling, G. A., & Murphy, E. J. (2012). On the comparison of population-level estimates of haplotype and nucleotide diversity: A case study using the gene *cox1* in animals. *Heredity*, 109(1), 50-56. <https://doi.org/10.1038/hdy.2012.12>
- Grant, W., & Bowen, B. (1998). Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 89(5), 415-426. <https://doi.org/10.1093/jhered/89.5.415>
- Hague, M. T. J., & Routman, E. J. (2016). Does population size affect genetic diversity? A test with sympatric lizard species. *Heredity*, 116(1), 92-98. <https://doi.org/10.1038/hdy.2015.76>
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings. Biological Sciences*, 270(1512), 313-321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Hernández, L. C., Fuentes, L. S., Fajardo, G. E., & Matthews, D. L. (2014). A NEW SPECIES OF OIDAEMATOPHORUS (LEPIDOPTERA: PTEROPHORIDAE) FROM CHINGAZA NATIONAL NATURAL PARK IN COLOMBIA. 7.
- Hoang, D. T., Chernomor, O., von Haeseler, A., Minh, B. Q., & Vinh, L. S. (2018). UFBoot2: Improving the Ultrafast Bootstrap Approximation. *Molecular Biology and Evolution*, 35(2), 518-522. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx281>
- Huang, Z.-F., Fei, W., Wang, M., Chiba, H., & Fan, X.-L. (2016). A preliminary molecular phylogeny of the genus *Scobura*, with a synonym of *Scobura masutaroi* (Lepidoptera, HesperIIDae). *ZooKeys*, 638, 33-44. <https://doi.org/10.3897/zookeys.638.10026>
- Huntly, N. (1991). Herbivores and the Dynamics of Communities and Ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 22(1), 477-503. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.22.110191.002401>
- Innan, H., Terauchi, R., Kahl, G., & Tajima, F. (1999). A Method for Estimating Nucleotide Diversity From AFLP Data. *Genetics*, 151(3), 1157-1164.



- Kim, S., Byun, B.-K., Park, K.-T., & Lee, S. (2010). Taxonomic study of the tribe Oidaematophorini (Lepidoptera: Pterophoridae) from Korea, with descriptions of the two new species. *Journal of Natural History*, 44(23-24), 1377-1399. <https://doi.org/10.1080/00222931003679006>
- Klomp, D. A. (2019). The Use of Phylogenetic Comparative Methods in the Study of Evolution and Visual Signalling. En J. C. Choe (Ed.), *Encyclopedia of Animal Behavior (Second Edition)* (pp. 581-588). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.90782-9>
- Kohli, M. K., Sahlén, G., Kuhn, W. R., & Ware, J. L. (2018). Extremely low genetic diversity in a circumpolar dragonfly species, *Somatochlora sahlbergi* (Insecta: Odonata: Anisoptera). *Scientific Reports*, 8(1), 15114. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32365-7>
- Korshunova, T., Picton, B., Furfaro, G., Mariottini, P., Pontes, M., Prkić, J., Fletcher, K., Malmberg, K., Lundin, K., & Martynov, A. (2019). Multilevel fine-scale diversity challenges the ‘cryptic species’ concept. *Scientific Reports*, 9(1), 6732. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42297-5>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Leigh, J. W., & Bryant, D. (2015). popart: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(9), 1110-1116. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>
- Lemoine, N. P., Burkepille, D. E., & Parker, J. D. (2014). Variable effects of temperature on insect herbivory. *PeerJ*, 2. <https://doi.org/10.7717/peerj.376>
- Logan, J. A., Régnière, J., & Powell, J. A. (2003). Assessing the impacts of global warming on forest pest dynamics. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 1(3), 130-137. [https://doi.org/10.1890/1540-9295\(2003\)001\[0130:ATIOWG\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1540-9295(2003)001[0130:ATIOWG]2.0.CO;2)
- Lohman, D. J., Peggie, D., Pierce, N. E., & Meier, R. (2008). Phylogeography and genetic diversity of a widespread Old World butterfly, *Lampides boeticus* (Lepidoptera: Lycaenidae). *BMC Evolutionary Biology*, 8(1), 301. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-8-301>
- Mackintosh, A., Laetsch, D. R., Hayward, A., Charlesworth, B., Waterfall, M., Vila, R., & Lohse, K. (2019). The determinants of genetic diversity in butterflies. *Nature Communications*, 10(1), 3466. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11308-4>
- Matos-Maraví, P., Wahlberg, N., Antonelli, A., & Penz, C. M. (2019). Species limits in butterflies (Lepidoptera: Nymphalidae): reconciling classical taxonomy with the multispecies coalescent. *Systematic Entomology*, 44(4), 745-756. <https://doi.org/10.1111/syen.12352>

- Minh, B. Q., Nguyen, M. A. T., & von Haeseler, A. (2013). Ultrafast Approximation for Phylogenetic Bootstrap. *Molecular Biology and Evolution*, 30(5), 1188-1195. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst024>
- Müller, K. F. (2005). The efficiency of different search strategies in estimating parsimony jackknife, bootstrap, and Bremer support. *BMC Evolutionary Biology*, 5(1), 58. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-5-58>
- Muñoz, C. (2015). *Notas ecológicas sobre la interacción entre Oidaematophorus espeletiae y Espeletia grandiflora en el Parque Nacional Natural Chingaza*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.19958.19527>
- Nguyen, L.-T., Schmidt, H. A., von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2015). IQ-TREE: A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 32(1), 268-274. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
- Parmesan, C. (2006). Ecological and Evolutionary Responses to Recent Climate Change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37(1), 637-669. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.37.091305.110100>
- Pattengale, N. D., Alipour, M., Bininda-Emonds, O. R. P., Moret, B. M. E., & Stamatakis, A. (2009). *How Many Bootstrap Replicates Are Necessary?* 17.
- Posada, D., & Crandall, K. (1998). Modeltest: Testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 14, 817-818. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/14.9.817>
- Robinet, C., & Roques, A. (2010). Direct impacts of recent climate warming on insect populations. *Integrative Zoology*, 5(2), 132-142. <https://doi.org/10.1111/j.1749-4877.2010.00196.x>
- Rozas, J. (2009). DNA sequence polymorphism analysis using DnaSP. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 537, 337-350. [https://doi.org/10.1007/978-1-59745-251-9\\_17](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-251-9_17)
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E., & Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Data Sets. *Molecular Biology and Evolution*, 34(12), 3299-3302. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>
- Salinas, C., Fuentes, luz S., & Hernandez, L. (2013). Caracterización de los lepidópteros fitófagos asociados a la herbivoría de frailejones en la microcuena de la quebrada Calostros del Parque Nacional Natural Chingaza / *Revista Mutis*. <https://revistas.utadeo.edu.co/index.php/mutis/article/view/838>
- Schowalter, T. D. (2006). 12—Herbivory. En T. D. Schowalter (Ed.), *Insect Ecology (Second Edition)* (pp. 347-382). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012088772-9/50038-8>

- Schowalter, T. D. (2012). Insect responses to major landscape-level disturbance. *Annual Review of Entomology*, 57, 1-20. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120710-100610>
- Scott, A. L., York, P. H., Duncan, C., Macreadie, P. I., Connolly, R. M., Ellis, M. T., Jarvis, J. C., Jinks, K. I., Marsh, H., & Rasheed, M. A. (2018). The Role of Herbivory in Structuring Tropical Seagrass Ecosystem Service Delivery. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2018.00127>
- Stange, E. E., & Ayres, M. P. (2010). Climate Change Impacts: Insects. En John Wiley & Sons, Ltd (Ed.), *Encyclopedia of Life Sciences* (p. a0022555). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0022555>
- Steel, M., & McKenzie, A. (2001). Properties of phylogenetic trees generated by Yule-type speciation models q. *Mathematical Biosciences*, 22.
- Subramanian, S. (2016). The effects of sample size on population genomic analyses – implications for the tests of neutrality. *BMC Genomics*, 17, 123. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2441-8>
- Talamas, E., Buffington, M., & Hoelmer, K. (2013). New synonymy of *Trissolcus halyomorphae* Yang. *Journal of Hymenoptera Research*, 33, 113-117. <https://doi.org/10.3897/jhr.33.5627>
- Templeton, A. R., Crandall, K. A., & Sing, C. F. (1992). A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics*, 132(2), 619-633.
- Tixier, M.-S., Tsolakis, H., Ragusa, S., Poinso, A., Ferrero, M., Okassa, M., Kreiter, S., (2011). Integrative taxonomy demonstrates the unexpected synonymy between two predatory mite species: *Cydnodromus idaeus* and *C. picanus* (Acari : Phytoseiidae). *Invertebrate Systematics*, 25(4), 273-281. <https://doi.org/10.1071/IS11025>
- Vargas, H. A. (2021). New distribution records, first host plant record and DNA barcoding of the Neotropical plume moth *Oidaematophorus pseudotrachyphloeus* Gielis (Lepidoptera, Pterophoridae). *Biodiversity Data Journal*, 9, e77167. <https://doi.org/10.3897/BDJ.9.e77167>
- Vargas, H. A., & Parra, L. E. (2005). Una nueva especie de *Lioptilodes* Zimmerman (Lepidoptera: Pterophoridae) de Chile. *Neotropical Entomology*, 34, 403-406. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2005000300007>
- Walker, L. R. (1999). *Ecosystems of Disturbed Ground*. Elsevier.
- Wiens, J. J., Lapoint, R. T., & Whiteman, N. K. (2015). Herbivory increases diversification across insect clades. *Nature Communications*, 6(1), 8370. <https://doi.org/10.1038/ncomms9370>

**Números de acceso tomados de las bases de datos, de Genbank y Boldsystem.**

<b>Número de acceso</b>	<b>Especie</b>	<b>Ubicación</b>	<b>Autor</b>
<b>BIOUG0145 2-C07</b>	<i>Hellinsia unicolor</i>	USA	Biobus
<b>BIOUG0156 8-F02</b>	<i>Hellinsia subochraceus</i>	USA	Biobus
<b>HQ968804.1</b>	<i>Hellinsia osteodactyla</i>	ITALIA	Huemer P.
<b>GU694505.1</b>	<i>Hellinsia lacteodactylus</i>	USA	J.Cossey, K.Perez
<b>KM553439.1</b>	<i>Hellinsia pectodactylus</i>	CANADA	Hebert, P.D.N.,Ratnasingham,S., Zakharov,E.V., Telfer,A.C., Levesque-Beaudin,V.Milton,M.A., Pedersen,S., Jannetta,P. and DeWaard,J.R.
<b>HM391885.1</b>	<i>Hellinsia carphodactyla</i>	ALEMANIA	Andreas H. Segeres
<b>BIOUG0145 1-A11</b>	<i>Hellinsia glenni</i>	USA	Biobus
<b>BIOUG0156 3-H01 biobus</b>	<i>Hellinsia grandis</i>	USA	Biobus
<b>IM08-0878</b>	<i>Hellinsia balanotes</i>	AUSTRIA	McMillan Ian
<b>TLMF Lep 17863</b>	<i>Hellinsia didactylites</i>	AUSTRIA	Huemer P.
<b>HM428463.1</b>	<i>Oidaematophorus brucei</i>	USA	S.McCubbin, A.Borisenko

<b>KM554098.1</b>	<i>Oidaematophorus mathewianus</i>	CANADA	Hebert,P.D.N., Ratnasingham,S., Zakharov,E.V., Telfer,A.C., Levesque-Beaudin,V., Milton,M.A., Pedersen,S., Jannetta,P. and DeWaard,J.R
<b>KM553044.1</b>	<i>Oidaematophorus homodactylus</i>	CANADA	Hebert,P.D.N. Ratnasingham,S., Zakharov,E.V., Telfer,A.C., Levesque-Beaudin,V., Milton,M.A., Pedersen,S., Jannetta,P. and DeWaard,J.R.
<b>KM550521.1</b>	<i>Oidaematophorus lyndsei</i>	CANADA	Hebert,P.D.N., Ratnasingham,S., Zakharov,E.V., Telfer,A.C.,Levesque-Beaudin,V., Milton,M.A., Pedersen,S., Jannetta,P. and DeWaard,J.R.
<b>KM547348.1</b>	<i>Oidaematophorus sp</i>	CANADA	Hebert,P.D.N., Ratnasingham,S., Zakharov,E.V., Telfer,A.C.,Levesque-Beaudin,V., Milton,M.A., Pedersen,S., Jannetta,P. and DeWaard,J.R
<b>KM539538.1</b>	<i>Oidaematophorus alaskensis</i>	CANADA	Hebert,P.D.N., Ratnasingham,S., Zakharov,E.V., Telfer,A.C., Levesque-Beaudin,V., Milton,M.A., Pedersen,S., Jannetta,P. and DeWaard,J.R.
<b>HQ968978.1</b>	<i>Oidaematophorus lithodactyla</i>	ITALIA	Huemer p.
<b>HM381420.1</b>	<i>Oidaematophorus rogenhoferi</i>	ITALIA	Huemer p.
<b>KT782517.1</b>	<i>Oidaematophorus vafradactylus</i>	ESTONIA	Kari Nupponen
<b>CCDB-20274-H07</b>	<i>Oidaematophorus guttatus</i>	USA	M.Pogue, M.Metz
<b>CCDB-20274-D11</b>	<i>Oidaematophorus balsamorizhae</i>	FINLANDIA	D.Matthews, T.A.Lott, A.K.Lott

<b>CCDB-20275-C08</b>	<i>Oidaematophorus grisescens</i>	USA	R.W.Hodges
<b>CCDB-20274-H06</b>	<i>Oidaematophorus cineraceus</i>	FINLANDIA	M.Pogue, M.Metz
<b>ABKWR103-07</b>	<i>Xesquita perquiritata</i>	USA	Zahiri,R., Lafontaine,J.D., Schmidt,B.C., Dewaard,J.R., Zakharov,E.V. and Hebert,P.D.N.
<b>HQ962311.1</b>	<i>Hebomoia glaucippe</i>	TAILANDIA	Eastwood
<b>Secuencia tipo</b>	<i>Oidaematophorus espeletiae</i> (Hernández et al.,2014)	AGTCTTTTAATTTCGAGCAGAATTAGGAAATCCTGGATCATTAAATTGGAGATGATC AAATTTATAATACTATTGTAACCGCACACGCTTTCATTATAATTTTTTTTATAGTA ATACCAATTATAATTGGAGGATTTGGAAATTGATTAGTACCTTTAATGTTAGGAG CCCCTGATATGGCATTTCACGAATAAATAACATAAGATTTTGATTACTTCCTCCT TCAATTATTCTATTAATTTCAAGAAGAATTGTTGAAAATGGAGCCGGAACAGGAT GAACAGTTTATCCACCTTTATCTGCAAACATTGCTCATAGAGGAGCTTCTGTCGAT TTAGCAATTTTTTCATTACATCTTGCAGGAATTTCTTCTATTTTAGGGGCAATTAAT TTTATTACTACTATTATCAATATACGATTAATAATAATATAATATTTGATCAACTCCC ATTATTTGTGTGAGCTGTTGGAATTACAGCTTTACTACTTTTATTATCTTTACCTGT TTTAGCTGGAGCTATTACAATACTTCTAACTGACCGAAACTTAAATACCTCTTTCT TTGACC	







