

**UNIVERSIDAD NACIONAL  
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**



**FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL Y AMBIENTAL  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**INFORME DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO  
PROFESIONAL DE INGENIERO AMBIENTAL**

**ESTRUCTURA GENÉTICA DE POBLACIONES DEL  
GORGOJO DE LOS ANDES (*Premnotrypes vorax*) BAJO  
EFECTOS DEL GRADIENTE ALTITUDINAL DE LA  
REGIÓN AMAZONAS**

**Autora: Bach. Evelyn Vanessa Portocarrero Mesia**

**Asesora: Ph.D. Martha Steffany Calderón Ríos**

**Asesor: Ph.D. Danilo Edson Bustamante Mostajo**

**Registro:**

**CHACHAPOYAS - PERÚ**

**2023**

# AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM



## ANEXO 3-H

### AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM

#### 1. Datos de autor 1

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): Portocarrero Mesa Evelyn Vanessa  
DNI N°: 73202011  
Correo electrónico: 3320201132@untrm.edu.pe  
Facultad: Ingeniería Civil y Ambiental  
Escuela Profesional: Ingeniería Ambiental

#### Datos de autor 2

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): \_\_\_\_\_  
DNI N°: \_\_\_\_\_  
Correo electrónico: \_\_\_\_\_  
Facultad: \_\_\_\_\_  
Escuela Profesional: \_\_\_\_\_

#### 2. Título de la tesis para obtener el Título Profesional

Estructura genética de poblaciones del cerro de los Andes (Premnatypus vortex) bajo efectos del gradiente altitudinal de la región Amazónica.

#### 3. Datos de asesor 1

Apellidos y nombres: Ph.D. Calderón Ruiz Martha Steffany  
DNI, Pasaporte, C.E.N°: 44290495  
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>) <https://orcid.org/0000-0003-3611-140X>

#### Datos de asesor 2

Apellidos y nombres: Ph.D. Bustamante Montijo Danilo Edison  
DNI, Pasaporte, C.E.N°: 43496105  
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>) <https://orcid.org/0000-0002-5927-6973>

#### 4. Campo del conocimiento según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos- OCDE (ejemplo: Ciencias médicas, Ciencias de la Salud-Medicina básica-Immunología)

[https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde\\_ford.htm](https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde_ford.htm)  
2.07.00- Ingeniería ambiental ; 4.05.03- Bioquímica, Biología molecular

#### 5. Originalidad del Trabajo

Con la presentación de esta ficha, el(la) autor(a) o autores(as) señalan expresamente que la obra es original, ya que sus contenidos son producto de su directa contribución intelectual. Se reconoce también que todos los datos y las referencias a materiales ya publicados están debidamente identificados con su respectivo crédito e incluidos en las notas bibliográficas y en las citas que se destacan como tal.

#### 6. Autorización de publicación

El(los) titular(es) de los derechos de autor otorga a la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM), la autorización para la publicación del documento indicado en el punto 2, bajo la *Licencia creative commons* de tipo BY-NC: Licencia que permite distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial por lo que la Universidad deberá publicar la obra poniéndola en acceso libre en el repositorio institucional de la UNTRM y a su vez en el Registro Nacional de Trabajos de Investigación-RENATI, dejando constancia que el archivo digital que se está entregando, contiene la versión final del documento sustentado y aprobado por el Jurado Evaluador.

Chchapoyas, 20. / noviembre / 2023

  
Firma del autor 1  
  
Firma del Asesor 1

  
Firma del autor 2  
  
Firma del Asesor 2

## DEDICATORIA

*A Dios,  
por la vida, salud, fortaleza y  
sabiduría.*

*A mis padres, J. Lengner  
Portocarrero Tafur y M. Santos  
Mesia Vargas por sus enseñanzas,  
sacrificios, amor y apoyo  
incondicional.*

*A mi hermana Anelys F. por su  
cariño y apoyo.*

*Evelyn V. Portocarrero Mesia*

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por guiarme y acompañarme a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de flaqueza y por brindarme una vida llena de aprendizajes y experiencias acompañado de excelentes personas.

A mis asesores Ph.D. Martha S. Calderón Ríos y Ph.D. Danilo E. Bustamante Mostajo por brindarme su tiempo, paciencia y dedicación, y sobre todo por orientarme y guiarme con aportes y consejos que me permitieron alcanzar los objetivos de este proyecto de tesis.

A los miembros del jurado Ph.D. Ligia Magali García Rosero, Mg. Erick Stevinsonn Arellanos Carrión e Ing. Wildor Gosgot Angeles por sus recomendaciones, aportes y sugerencias a fin de desarrollar un mejor trabajo.

Al laboratorio de Biología Molecular y Genómica (LBMG) por brindarme las facilidades para realizar el proyecto de investigación, así como los aportes y recomendaciones brindadas por parte de su equipo de trabajo.

A todas las personas que de alguna manera han formado parte de mi vida personal y profesional que me acompañaron y ayudaron durante todo el desarrollo de esta etapa.

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ  
DE MENDOZA DE AMAZONAS**

**Ph.D. Jorge Luis Maicelo Quintana**  
RECTOR

**Dr. Oscar Andrés Gamarra Torres**  
VICERRECTOR ACADÉMICO

**Dra. María Nelly Luján Espinoza**  
VICERRECTORA DE INVESTIGACIÓN

**Ph.D. Ricardo E. Campos Ramos**  
DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL Y AMBIENTAL.

## VISTO BUENO DE LA ASESORA



**UNTRM**

**REGLAMENTO GENERAL**

PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE  
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

### ANEXO 3-L

#### VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM (  )/Profesional externo (  ), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada Estructura genética de poblaciones del gorgojo de los Andes ( *Premnotypus vorax* ) bajo efectos del gradiente altitudinal de la región Amazónica ; del egresado Evelyn Vanessa Portocarrero Mesia de la Facultad de Ingeniería Civil y Ambiental Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental de esta Casa Superior de Estudios.

El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.



Chachapoyas, 13 de noviembre de 2023

Firma y nombre completo del Asesor

Martha Steffany Calderón Piro

## VISTO BUENO DEL ASESOR



**UNTRM**

**REGLAMENTO GENERAL**  
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE  
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

### ANEXO 3-L

#### VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM (X)/Profesional externo ( ), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada Estructura genética de poblaciones del gorgojo de los Andes (*Premnotypus vorax*) bajo efectos del gradiente altitudinal de la región Amazónica; del egresado Evelyn Vanessa Portocarrero Mesia de la Facultad de Ingeniería Civil y Ambiental Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental de esta Casa Superior de Estudios.

El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.

Chachapoyas, 03 de noviembre de 2023

Firma y nombre completo del Asesor  
Daniilo El Bustamante Mostajo



**JURADO EVALUADOR**



---

**Ph.D. Ligia Magali Garcia Rosero**  
PRESIDENTE



---

**Dr. Erick Stevinsonn Arellanos Carrión**  
SECRETARIO



---

**Mg. Wildor Gosgot Angeles**  
VOCAL



## CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS



### ANEXO 3-Q

#### CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

Los suscritos, miembros del Jurado Evaluador de la Tesis titulada:

Estructura genética de poblaciones del género de las Andes (Peromyscus  
reax) bajo aspectos del gradiente altitudinal de la región Amazónica

presentada por el estudiante ( ) /egresado (X) Evelyn Vanessa Particorazon Heria  
de la Escuela Profesional de Tecnología Ambiental

con correo electrónico institucional 7320801172@untrm.edu.pe

después de revisar con el software Turnitin el contenido de la citada Tesis, acordamos:

- La citada Tesis tiene 17 % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es menor (X) / igual ( ) al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM.
- La citada Tesis tiene \_\_\_\_\_ % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es mayor al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM, por lo que el aspirante debe revisar su Tesis para corregir la redacción de acuerdo al Informe Turnitin que se adjunta a la presente. Debe presentar al Presidente del Jurado Evaluador su Tesis corregida para nueva revisión con el software Turnitin.



Chachapoyas, 30 de octubre del 2023

  
SECRETARIO

  
PRESIDENTE

  
VOCAL

OBSERVACIONES:

.....  
.....

# ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL



ANEXO 3-S

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

En la ciudad de Chachapoyas, el día 09 de noviembre del año 2023 siendo las 11:00 horas, el aspirante: Bach. Evelyn Vanossa Porlocarero Mesia, asesorado por Ph.D. Martha Steffany Calderón Ríos y Ph.D. Danilo Edson Bustamante Mostajo defiende en sesión pública presencial () / a distancia ( ) la Tesis titulada: Estructura genética de poblaciones del Gorgojo de los Andes (*Pemophilus vorax*) bajo efectos del gradiente altitudinal de la región Amazonas, para obtener el Título Profesional de Ingeniero Ambiental a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; ante el Jurado Evaluador, constituido por:

Presidente: Ph.D. Ligia Magali García Rosero

Secretario: Dr. Erick Stevinsenn Arellanos Carrón

Vocal: Mg. Wildor Gosget Angeles

Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto de sustentación, para que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida a la sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional, en términos de:

Aprobado () por Unanimidad () / Mayoría ( ) Desaprobado ( )

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en esta misma sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 12:10 horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.

  
SECRETARIO

  
VOCAL

  
PRESIDENTE

OBSERVACIONES:

## ÍNDICE

RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
I.INTRODUCCIÓN.....	16
II.MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
2.1. Recolección de muestras.....	19
2.2. Preparación de las muestras.....	23
2.3. Extracción de ADN.....	24
2.4. Amplificación de ADN por PCR.....	26
2.5. Análisis filogenético.....	28
2.6. Análisis de diversidad genética.....	29
2.7. Análisis de red de haplotipos (Networks) y conectividad genética.....	29
2.8. Distribución altitudinal del gorgojo de los Andes.....	29
III.RESULTADOS.....	31
3.1. Análisis filogenético.....	31
3.2. Diversidad genética.....	37
3.3. Análisis y distribución de la red de haplotipos.....	37
3.4. Estructura genética de poblaciones.....	42
IV.DISCUSIÓN.....	43
4.1. Análisis filogenético.....	43
4.2. Diversidad genética.....	45
4.3. Red de haplotipos.....	47
4.4. Estructura genética.....	48
V.CONCLUSIONES.....	50
VI.RECOMENDACIONES.....	51
VII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
VIII.ANEXOS.....	63

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Información de colección de muestras del gorgojo de los Andes en la región Amazonas.....	20
<b>Tabla 2.</b> Parámetros para la amplificación por PCR.....	27
<b>Tabla 3.</b> Información de los grupos filogenéticos de las poblaciones del gorgojo de los Andes. ....	36
<b>Tabla 4.</b> Diversidad genética del gorgojo de los Andes en la región Amazonas. n: número de individuos; h: número de haplotipos; s: número de sitios polimórficos; Hd: diversidad genética de haplotipos; Pi: diversidad de nucleótidos; k: número promedio de diferencias de nucleótidos por pares. ....	38
<b>Tabla 5.</b> Información de la red de haplotipos de las poblaciones del gorgojo de los Andes en la región Amazonas. Códigos en color azul representan los haplotipos únicos. ....	39
<b>Tabla 6.</b> Distribución de haplotipos presentes en cada una de las poblaciones de gorgojo de los Andes de la región Amazonas. Códigos en negrita representan los haplotipos únicos. ....	39
<b>Tabla 7.</b> Índices de fijación global ( $F_{ST}$ ) de las poblaciones de gorgojo de los Andes en la región Amazonas. Los códigos representan las poblaciones: Luya (LY), Lámud (LM), Leymebamba (LMB), Levanto (LV), Jalca Grande (JG), San Isidro del Maino (SIM), Jalca Grande T (JGT) y Péngote (PNT).....	42
<b>Tabla 8.</b> Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) para las poblaciones de gorgojo de los Andes de la región Amazonas.....	43

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mapa de ubicación de zonas de muestreo del gorgojo de los Andes. ....	20
<b>Figura 2.</b> Orificios circulares en los tubérculos que indican la presencia de larvas. ....	23
<b>Figura 3.</b> Proceso de colecta y almacenamiento de muestras de gorgojo de los Andes.	24
<b>Figura 4.</b> Proceso de extracción de ADN de muestras de gorgojo de los Andes. ....	26
<b>Figura 5.</b> Proceso de amplificación por PCR y purificación de muestras de gorgojo de los Andes.....	28
<b>Figura 6.</b> Proceso de elaboración de mapas temáticos de distribución de gorgojo de los Andes en el gradiente altitudinal de Amazonas.....	31
<b>Figura 7.</b> Árbol filogenético del gen COI basado en el análisis de máxima verosimilitud. Valores por encima de las ramas son los valores de Bootstrap de máxima verosimilitud / probabilidad bayesiana (no se muestran los valores menores a 50/0.7).. ....	33
<b>Figura 8.</b> Árbol filogenético del gen COI basado en el análisis de máxima verosimilitud resaltando los grupos genéticos. Valores por encima de las ramas son los valores de Bootstrap de máxima verosimilitud / probabilidad bayesiana (no se muestran los valores menores a 50/0.7).. ....	35
<b>Figura 9.</b> Red de haplotipos de las poblaciones del gorgojo de los Andes en la región Amazonas. Códigos en azul representan los haplotipos predominantes mientras que los códigos en negro representan los singletons (haplotipos únicos). Barras perpendiculares representan los pasos mutacionales entre cada haplotipo. ....	40
<b>Figura 10.</b> Distribución altitudinal de haplotipos en las poblaciones de gorgojo de los andes en la región Amazonas. Gráficos circulares indican la proporción de haplotipos en cada población. Los códigos representan las poblaciones: Luya (LY), Lamud (LM), Leymebamba (LMB), Levanto (LV), Jalca Grande (JG), San Isidro del Maino (SIM), Jalca Grande T (JGT) y Péngote (PNT). ....	41

## RESUMEN

El conocimiento sobre la estructura genética y las capacidades de expansión de una población son importantes para el desarrollo de estrategias de manejo y control específicas para diferentes organismos. El gorgojo de los Andes es un insecto de importancia económica que ocasiona daños severos en los cultivos de papa de las zonas altoandinas. En Amazonas, la carencia de información acerca de estos insectos dificulta el entendimiento de su dinámica poblacional. En este sentido, el presente estudio busca evaluar la estructura y diversidad genética de las poblaciones del gorgojo de los Andes bajo el gradiente altitudinal de la región Amazonas. Para ello, usando el gen citocromo oxidasa I (COI) se analizaron 91 individuos recolectados de ocho poblaciones diferentes de la región Amazonas (Jalca Grande, Lámud, Levanto, Leymebamba, Luya y San Isidro del Maino). Los análisis revelaron la presencia de 12 linajes y 19 haplotipos (9 haplotipos únicos) del gorgojo de los Andes. Las poblaciones mostraron altos niveles de diversidad haplotípica ( $H_d=0.80439$ ), nucleotídica ( $P_i=0.00587$ ) y conectividad genética ( $F_{ST} = 0.30363$ ). La población con mayor diversidad genética fue San Isidro del Maino (2578-2837 msnm), y la de menor diversidad genética fue la población de Luya (2293-2340 msnm). En general, estos resultados demuestran que la amplia variabilidad genética de las poblaciones de gorgojo de los Andes se atribuye al alto grado de adaptabilidad asociados a factores climáticos, ambientales y biológicos, sumados a la posible introducción de semillas de tubérculos. Esta caracterización de la estructura genética del gorgojo de los Andes contribuye a una mejor comprensión de la dinámica poblacional y permitirá adoptar estrategias de control de protección adecuadas contra insectos de distribución masiva en la región Amazonas.

Palabras clave: Amazonas, COI, conectividad genética, estructura genética, gorgojo de los Andes, plagas de insectos, variabilidad genética.

## ABSTRACT

Knowledge about the genetic structure and the expansion capacities of a population are important for the development of specific management and control strategies for different organisms. The Andean weevil is an economically important insect that causes severe damage to potato crops in high Andean areas. In Amazonas, the lack of information about these insects makes it difficult to understand their population dynamics. In this sense, the present study seeks to evaluate the structure and genetic diversity of Andean weevil populations under the altitudinal gradient of the Amazon region. To do this, using the cytochrome oxidase I (COI) gene, 91 individuals collected from eight different populations in the Amazon region (Jalca Grande, Lámud, Levanto, Leymebamba, Luya and San Isidro del Maino) were analyzed. The analyzes revealed the presence of 12 lineages and 19 haplotypes (9 unique haplotypes) of the Andean weevil. The populations showed high levels of haplotypic ( $H_d=0.80439$ ), nucleotide ( $P_i=0.00587$ ) and genetic connectivity ( $F_{ST} = 0.30363$ ) diversity. The population with the greatest genetic diversity was San Isidro del Maino (2578-2837 masl), while the lowest was the population of Luya (2293-2340 masl). In general, these results show that the genetic expansion of Andean weevil populations is attributed to the high degree of adaptability associated with climatic, environmental, and biological factors, added to the possible introduction of tuber seeds. This characterization of the genetic structure of the Andean weevil will contribute to a better understanding of the population dynamics and will allow the adoption of adequate protection control strategies against insects with a massive distribution in the Amazon region.

Keywords: Amazon, COI, genetic connectivity, genetic structure, Andean weevil, insect pests, genetic conservation.

## I. INTRODUCCIÓN

La dispersión y variación de diversas especies son generadas principalmente por fenómenos resultantes de actividades antrópicas (Cao et al., 2019). Malhi et al. (2021) propusieron que el cambio climático influye en el desarrollo y crecimiento de las poblaciones de plagas de insectos, debido a que éstos son considerados heterotérmicos (Caselli & Petacchi, 2021) y dependen de factores climáticos (por ejemplo: temperatura, humedad) para incrementar o reducir el desarrollo y expansión de sus poblaciones (Kroschel et al., 2020). Este cambio climático tiene impactos significativos en las plagas de insectos (Malhi et al., 2021), creando nichos ecológicos para que éstas se establezcan y se propaguen a nuevas localidades, alterando su distribución geográfica, crecimiento, comportamiento y reproducción (Skendžić et al., 2021). Esto trae como consecuencia desórdenes en su dinámica poblacional (Caselli & Petacchi, 2021), que al intensificarse pueden amenazar la seguridad alimentaria (Malhi et al., 2021) a consecuencia de los elevados porcentajes de pérdidas de cultivos (Kim et al., 2021; Skendžić et al., 2021).

La capacidad de producción de los cultivos de papa se ha visto afectada por el incremento de la población, sobreexplotación del suelo, cambio climático y principalmente por el incremento de plagas de insectos (Walker & Frederick, 2019; Trigo et al., 2020). De las diversas plagas que afectan los cultivos de papa, la más agresiva es la del gorgojo de los Andes por los daños severos generados a los tubérculos de las zonas andinas de Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela (Villami et al., 2015; Kroschel et al., 2020). Las pérdidas de producción y rendimiento en los cultivos de papa son causados por larvas y estadios adultos del gorgojo de los Andes (Alcázar, 2002; Kroschel et al., 2020). Específicamente, las larvas realizan orificios circulares en el tubérculo para completar su desarrollo, mientras que los adultos provocan pérdidas en el área foliar, bases del tallo y estolones de las plantas de cultivo (Skendžić et al., 2021).

El gorgojo de los Andes está compuesto de 14 especies, de las cuales 12 pertenecen al género *Premnotrypes* (Premnotrypini: Entiminae), una a



*Rhigopsidius* (Rhytirrhinini: Rhytirrhinae) (presente en climas áridos de alta montaña al sur de Perú y Bolivia) y una a *Phyrdenus* (Cryptorrhynchini: Chryptorrhynchinae) (presente en los Andes de América por debajo de los 2000 msnm) (Kühne, 2007; Kroschel et al. 2020). Las especies *Premnotrypes latithorax*, *P. suturicallus* y *P. vorax* afectan los tubérculos presentes entre 2500 y 4700 msnm de los Andes del Perú (Alcázar, 2002; Kroschel et al., 2020).

Particularmente, *P. latithorax* se encuentra distribuida en Cusco, *P. suturicallus* en Huancayo y *P. vorax* en Cajamarca (Alcázar, 2002; Tineo, 2019). Tineo (2019) confirmó la presencia del gorgojo de los Andes (identificada como *P. vorax* hasta que se corrobore su taxonomía) en la región Amazonas (Jalca Grande), sin embargo, aún se carecen de estudios que detallen su adecuada posición taxonómica, incluyendo la cuantificación de las pérdidas económicas asociadas al gorgojo de los Andes.

Los gorgojos son nativos de los Andes, y se cree que fueron propagados a toda sudamérica por medio de plantas de siembra importadas (Kühne, 2007). Actualmente, estos gorgojos se reportan entre 2100-3100 msnm en Colombia, entre 2580-3600 msnm en Venezuela y entre 2500-4700 msnm en Bolivia (Alcázar, 2002; Kühne, 2007). Estas especies generan grandes pérdidas (16 - 45 % al año), inclusive la totalidad del cultivo de papa (Kroschel et al., 2020). Con el objetivo de mitigar estos impactos, algunos estudios caracterizaron la dinámica de poblaciones para implementar planes de manejo integrado de plagas (Alarcón et al., 2011; Villami et al., 2015); sin embargo, los actuales mecanismos de control maximizan y persisten en el uso de insecticidas (Alcázar, 2002), generando problemas ambientales y a la salud humana (Göldel et al., 2020).

De cierto modo, el cambio climático ha ocasionado la expansión de especies introducidas (Cao et al., 2019; Skendžić et al., 2021), las cuales cambian sus áreas de distribución hacia latitudes y altitudes más altas en busca de condiciones climáticas adecuadas a las que se adapten (Couet et al., 2022; Goncalves et al., 2022; Lacourse & Adeleve, 2022). El elevado potencial al

cambio altitudinal que presentan estas especies ha permitido amplias tolerancias climáticas (sequías y altas temperaturas), tolerancia a los insecticidas y características filogenéticas que favorecen su rápido establecimiento y crecimiento (Finch et al., 2021; Poland et al., 2021; Skendžić et al., 2021; Adhikari et al., 2022).

Actualmente, el uso de herramientas moleculares en la identificación de la estructura genética y haplotipos y determinación del flujo genético de poblaciones de organismos son fundamentales para entender sus patrones y mecanismos de distribución, especialmente en insectos (Javal et al., 2021; Sañudo et al., 2021; Zhan et al., 2021). Para ello, se han empleado estas técnicas en diversas plagas, con el objetivo de descubrir brotes de plagas (Sañudo et al., 2021) y definir estrategias de control (Zhan et al., 2021). Por ejemplo, Manani et al. (2017) utilizaron marcadores mitocondriales (citocromo oxidasa I) para identificar la diversidad genética de las plagas de moscas blancas (*Bemisia tabaci*) que afectan los cultivos de yuca. Adicionalmente, Zhan et al. (2021) analizaron la diversidad y estructura genética de las poblaciones de *Strongyloides variegatus* que afectan la producción de colza en China utilizando el marcador citocromo oxidasa I (COI) y citocromo B (Cytb). Por otro lado, Javal et al. (2021) identificaron las especies de plagas de *Prioninae* (Coleoptera, Cerambycidae) que afectan a la caña de azúcar usando también el marcador COI.

A pesar de la gran utilidad de estos marcadores, a la actualidad en el Perú se carecen de estudios genéticos relacionados al gorgojo de los Andes. En ese sentido, el presente estudio busca evaluar la estructura y diversidad genética de poblaciones del gorgojo de los Andes (*Premnotrypes vorax*) bajo el gradiente altitudinal de la región Amazonas, a través del uso de herramientas moleculares, para evaluar el grado de conectividad genética e identificar los grupos genéticos únicos (haplotipos) que permitirá conocer su distribución, flujo genético y abundancia, los cuales pueden ser útiles para generar estrategias de conservación y control de los mismos.

## **II. MATERIALES Y MÉTODOS**

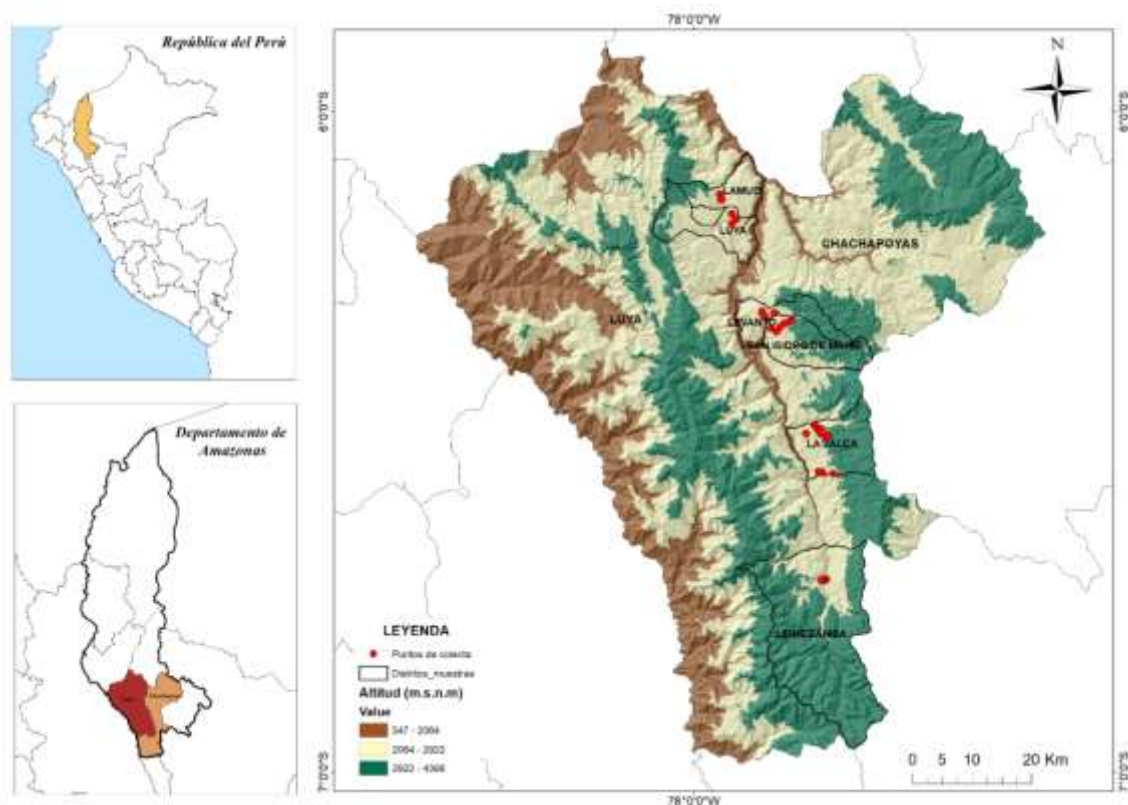
### **2.1.Recolección de muestras**

La captura del gorgojo de los Andes en estado adulto adquiere complejidad por las condiciones agroclimáticas que presenta la región Amazonas y también debido a su prolongado ciclo biológico (Tineo, 2019). De esta manera, el presente estudio optó la colección de gorgojo de los Andes en estado larvario. El muestreo se realizó en las principales zonas productoras de papa de la región Amazonas (Jalca Grande, Lámud, Levanto, Leymebamba, Luya y San Isidro del Maino) ubicadas en las provincias de Chachapoyas y Luya, las cuales se encuentran distribuidas en un gradiente altitudinal entre 2300-3100 msnm (Ramírez, 2010; Tineo, 2019; Barboza & Tuesta, 2019).

Cabe mencionar, que la región Amazonas cuenta con otras zonas productoras de papa que no se encuentran dentro de los 2300-3100 msnm, sin embargo, en este estudio no se consideraron como zonas de muestreo debido a que no reportaban la presencia del gorgojo de los Andes en sus cultivos.

Se colectaron un total de 77 individuos distribuidos aleatoriamente en las zonas productoras de papa, adicionalmente se incluyó 12 muestras obtenidas por Tineo (2019) (Figura 1, Tabla 1).

Para evaluar la presencia de larvas se tomó en cuenta algunas afecciones encontradas en cada cultivo (orificios circulares en tubérculos) (Kroschel et al., 2020) (Figura 2). La colección de larvas se obtuvo por medio de los tubérculos infestados y se realizó de forma manual, posteriormente las muestras recolectadas en cada zona fueron trasladadas en recipientes plásticos (etiquetados) al área de Biología Molecular y Genómica del laboratorio FISIOBVEG de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza.



**Figura 1.** Mapa de ubicación de zonas de muestreo del gorgojo de los Andes.

**Tabla 1.** Información de colección de muestras del gorgojo de los Andes en la región Amazonas.

Zona de colección	Provincia	Fecha de colección	Código	Altitud	Coordenadas	
				(msnm)	latitud	longitud
Leymebamba	Chachapoyas	19/03/2022	G1L	2322	-6.708491667	-77.79972222
Leymebamba	Chachapoyas	19/03/2022	G2L	2322	-6.708491667	-77.79972222
Leymebamba	Chachapoyas	19/03/2022	G3L	2321.8	-6.708494444	-77.79944444
Leymebamba	Chachapoyas	19/03/2022	G4L	2322	-6.708497222	-77.79973056
Leymebamba	Chachapoyas	19/03/2022	G5L	2322.6	-6.708508333	-77.79973611
Leymebamba	Chachapoyas	19/03/2022	G6L	2213	-6.710336111	-77.80313056
Leymebamba	Chachapoyas	19/03/2022	G7L	2214	-6.710377778	-77.80312778
Leymebamba	Chachapoyas	19/03/2022	G8L	2310	-6.710311111	-77.80648611
Leymebamba	Chachapoyas	19/03/2022	G9L	2291	-6.710322222	-77.80647778
Leymebamba	Chachapoyas	19/03/2022	G10L	2297	-6.710455556	-77.80611944
Leymebamba	Chachapoyas	19/03/2022	G11L	2296	-6.710422222	-77.80609722
Leymebamba	Chachapoyas	19/03/2022	G12L	2301	-6.7104	-77.80624722
Leymebamba	Chachapoyas	19/03/2022	G13L	2303	-6.710436111	-77.80628333
Leymebamba	Chachapoyas	19/03/2022	G14L	2304	-6.710425	-77.80628611

Leymebamba	Chachapoyas	19/03/2022	G15L	2296	-6.710219444	-77.80618333
Leymebamba	Chachapoyas	19/03/2022	G16L	2294	-6.710216667	-77.80615278
Luya	Luya	20/03/2022	V01	2340	-6.155019444	-77.94190833
Luya	Luya	20/03/2022	V02	2340	-6.155088889	-77.941925
Luya	Luya	20/03/2022	V03	2339	-6.155147222	-77.94206667
Luya	Luya	20/03/2022	V04	2340	-6.155397222	-77.94193056
Luya	Luya	20/03/2022	V05	2294	-6.163438889	-77.93554722
Luya	Luya	20/03/2022	V06	2293	-6.163441667	-77.93546944
Luya	Luya	20/03/2022	V07	2293	-6.163519444	-77.93554722
Luya	Luya	20/03/2022	V08	2322	-6.169858333	-77.94231389
Luya	Luya	20/03/2022	V09	2321	-6.169775	-77.94228056
Luya	Luya	20/03/2022	V10	2324	-6.169780556	-77.94216667
Lámud	Luya	20/03/2022	L01	2459	-6.126191667	-77.96012778
Lámud	Luya	20/03/2022	L02	2460	-6.126144444	-77.96011944
Lámud	Luya	20/03/2022	L03	2459	-6.126211111	-77.96010833
Lámud	Luya	20/03/2022	L05	2458	-6.126277778	-77.96017222
Lámud	Luya	20/03/2022	L06	2399	-6.133616667	-77.95793056
Lámud	Luya	20/03/2022	L07	2400	-6.133641667	-77.95795278
Lámud	Luya	20/03/2022	L08	2390	-6.133769444	-77.95745833
Lámud	Luya	20/03/2022	L09	2390	-6.133705556	-77.95744167
Lámud	Luya	20/03/2022	L10	2389	-6.133786111	-77.95738611
Levanto	Chachapoyas	21/03/2022	E01	2465.4	-6.305583333	-77.87747222
Levanto	Chachapoyas	21/03/2022	E02	2872	-6.305555556	-77.8775
Levanto	Chachapoyas	21/03/2022	E03	2873.2	-6.305527778	-77.87744444
Levanto	Chachapoyas	21/03/2022	E04	2877	-6.305694444	-77.87763889
Levanto	Chachapoyas	21/03/2022	E05	2880.6	-6.305888889	-77.87758333
Levanto	Chachapoyas	21/03/2022	E06	2746	-6.303577778	-77.89621389
Levanto	Chachapoyas	21/03/2022	E07	2747	-6.303541667	-77.89619444
Levanto	Chachapoyas	21/03/2022	E08	2646.3	-6.303577778	-77.89621389
Levanto	Chachapoyas	21/03/2022	E09	2629	-6.310330556	-77.89298611
Levanto	Chachapoyas	21/03/2022	E10	2626	-6.310466667	-77.89309167
S.I. Maino	Chachapoyas	21/03/2022	G01	2800.7	-6.320833333	-77.86230556
S.I. Maino	Chachapoyas	21/03/2022	G03	2800.7	-6.320833333	-77.86230556
S.I. Maino	Chachapoyas	21/03/2022	G04	2836	-6.317063889	-77.85284167
S.I. Maino	Chachapoyas	21/03/2022	G05	2837	-6.317033333	-77.852825
S.I. Maino	Chachapoyas	21/03/2022	G06	2835	-6.317080556	-77.85285278
S.I. Maino	Chachapoyas	21/03/2022	G07	2835	-6.317075	-77.85281667
S.I. Maino	Chachapoyas	21/03/2022	G08	2836	-6.317055556	-77.85281111
S.I. Maino	Chachapoyas	21/03/2022	G09	2839	-6.317013889	-77.85277778
S.I. Maino	Chachapoyas	21/03/2022	G10	2834	-6.3171	-77.85276944

S.I. Maino	Chachapoyas	21/03/2022	G14	2877	-6.328072222	-77.88293611
S.I. Maino	Chachapoyas	21/03/2022	G15	2578	-6.332927778	-77.87481111
S.I. Maino	Chachapoyas	21/03/2022	G16	2471	-6.332877778	-77.875025
S.I. Maino	Chachapoyas	21/03/2022	G17	2578	-6.332783333	-77.874725
S.I. Maino	Chachapoyas	21/03/2022	G18	2588	-6.333130556	-77.87453889
S.I. Maino	Chachapoyas	21/03/2022	G19	2449	-6.326611111	-77.86915278
Jalca Grande	Chachapoyas	22/03/2022	J01	3075	-6.49175	-77.79805556
Jalca Grande	Chachapoyas	22/03/2022	J03	3085.8	-6.49225	-77.79755556
Jalca Grande	Chachapoyas	22/03/2022	J04	3076.5	-6.491944444	-77.79686111
Jalca Grande	Chachapoyas	22/03/2022	J05	3076.6	-6.493083333	-77.79930556
Jalca Grande	Chachapoyas	22/03/2022	J06	3033	-6.490888889	-77.79725
Jalca Grande	Chachapoyas	22/03/2022	J07	3097.5	-6.491305556	-77.79636111
Jalca Grande	Chachapoyas	22/03/2022	J08	3096.5	-6.491305556	-77.79636111
Jalca Grande	Chachapoyas	22/03/2022	J10	3085.8	-6.49225	-77.79755556
Jalca Grande	Chachapoyas	22/03/2022	J11	2524	-6.475022222	-77.81718611
Jalca Grande	Chachapoyas	22/03/2022	J12	2500	-6.475005556	-77.81718889
Jalca Grande	Chachapoyas	22/03/2022	J14	2673	-6.476347222	-77.81571944
Jalca Grande	Chachapoyas	22/03/2022	J15	2680	-6.476411111	-77.81565
Jalca Grande	Chachapoyas	22/03/2022	J16	2690	-6.476536111	-77.81564444
Jalca Grande	Chachapoyas	22/03/2022	J17	2851	-6.480747222	-77.81209444
Jalca Grande	Chachapoyas	22/03/2022	J18	2853	-6.480677778	-77.81208611
Jalca Grande	Chachapoyas	22/03/2022	J19	2702	-6.487433333	-77.82954167
Jalca Grande	Chachapoyas	22/03/2022	J20	2700	-6.48745	-77.82959444
Jalca Grande	Chachapoyas	2019	GAM2	2805	-6.482553	-77.811077
Jalca Grande	Chachapoyas	2019	GAM3	2808	-6.483577	-77.811184
Jalca Grande	Chachapoyas	2019	GAM4	2863	-6.480505	-77.807903
Jalca Grande	Chachapoyas	2019	GAM5	2853	-6.48081	-77.808718
Jalca Grande	Chachapoyas	2019	GAM6	2876	-6.488397	-77.8079
Péngote	Chachapoyas	2019	GAM7	2944	-6.548221	-77.788467
Péngote	Chachapoyas	2019	GAM8	2714	-6.54618	-77.805302
Péngote	Chachapoyas	2019	GAM9	2522	-6.54524	-77.81128
Péngote	Chachapoyas	2019	GAM10	2833	-6.545134	-77.811339

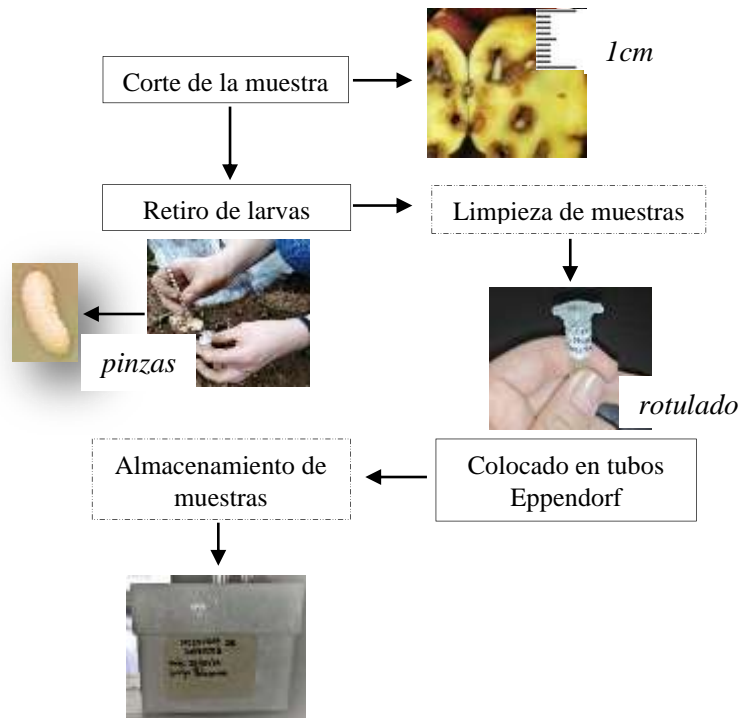


**Figura 2.** Orificios circulares en los tubérculos que indican la presencia de larvas.

## **2.2.Preparación de las muestras**

Los tubérculos infestados recolectados se cortaron cuidadosamente en trozos pequeños (1 cm de altura) (Márquez, 2005). Con la ayuda de pinzas se retiraron las larvas de los tubérculos, y con el fin de corroborar la especie del género *Premnotrypes* de las muestras (Garipey et al., 2021) se utilizó las claves taxonómicas elaborados por Alcázar (2002) y Kroschel et al. (2020).

Las larvas fueron limpiadas con agua destilada estéril (Xu et al., 2019) y se dejaron secar a temperatura ambiente. Los especímenes colectados se colocaron en tubos Eppendorf de 1,5 ml (Chávez-Medina et al., 2016; Tineo et al., 2020). Posteriormente, las muestras de gorgojos (larvas de último estadio) fueron sumergidas en nitrógeno líquido y trituradas por un equipo de congelación y aplastamiento (Disruptor SK-10, Japón).



**Figura 3.** Proceso de colecta y almacenamiento de muestras de gorgojo de los Andes.

### 2.3.Extracción de ADN

Para extraer el ADN genómico de las muestras se empleó el Kit Wizard® SV Genomic DNA Purification System de Promega (Promega, Madison, Estados Unidos) (Carapelli et al., 2017; Medrano et al., 2018; Mendieta et al., 2023), según las indicaciones del fabricante, optando por las siguientes modificaciones.

- Las muestras fueron transferidas a *bead tubes* para facilitar su trituración y se añadió una solución de 255 ul [200 ul de Nuclei lysis solution, 50 ul de EDTA (0.5 M), 5 ul RNase A solution], agitando durante 2 minutos en un vórtex para incubar las muestras a 65° C durante 2 horas.
- Pasado ese tiempo se adicionó 250 ul de Wizard SV lysis buffer, agitando por 5 minutos e incubando a 65° C por 30 minutos, centrifugados a 11,000 rpm por 1 minuto. Posteriormente, el sobrenadante se retiró y se transfirió a una columna de filtración Wizard SV en un tubo de colección, se centrifugaron a 11,000 rpm por 2 minutos y se retiró el sobrenadante del tubo de colección.



- Para el proceso de lavado, se añadió 600 ul de Wash solution, se centrifugó a 11,000 rpm por 2 minutos y se desechó el flujo (proceso realizado por dos veces). Finalmente se transfirió la columna de filtración Wizard SV a un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml agregando 50 ul de Nuclease-free water directamente a la matriz de la columna, centrifugados a 13,000 rpm durante 3 minutos para eludir el ADN. Este procedimiento se repitió dos veces hasta completar 100 ul de elución de ADN.

Terminado el proceso de extracción; la cantidad de ADN extraído se determinó mediante el equipo cuantificador Quantus<sup>TM</sup> (Promega, Madison, Estados Unidos) y el Kit de cuantificación Qubit<sup>TM</sup> dsDNA BR Assay (Invitrogen, California, Estados Unidos). Por otro lado, la calidad de ADN extraído se determinó en geles de agarosa al 1 % corridos en tampón TAE 1X (Trisborato 0.045M; EDTA 0.001M) durante 12 minutos, los geles se tiñeron con Safer DNA Gel Stain. Finalmente, el ADN obtenido se almacenó en un ultracongelador a -80°C para su conservación.



**Figura 4.** Proceso de extracción de ADN de muestras de gorgojo de los Andes.

#### 2.4. Amplificación de ADN por PCR

Se seleccionó el gen mitocondrial citocromo oxidasa I (COI), ya que es utilizado ampliamente para estudiar la genética de poblaciones en insectos (Girad et al., 2022; Meng-gi et al., 2023). Se amplificó el gen COI de 77 muestras de gorgojo de los Andes utilizando los primers HCO-2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') y LCO-1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') (Donga & Meadow, 2018) mediante la reacción en cadena de Polimerasa (PCR) con el uso de reactivos Bioneer (Bioneer, Daejeon, Corea). La reacción de amplificación tuvo una mezcla total de 10 uL conteniendo 5 µL de Master mix, 2,6 µL de agua destilada, 0,2 µL de Primers directo y reverso de 5–10 µM y 2 µL de ADN genómico (Zhang et al., 2019; Zhan et al., 2021). El protocolo del PCR siguió las siguientes condiciones:

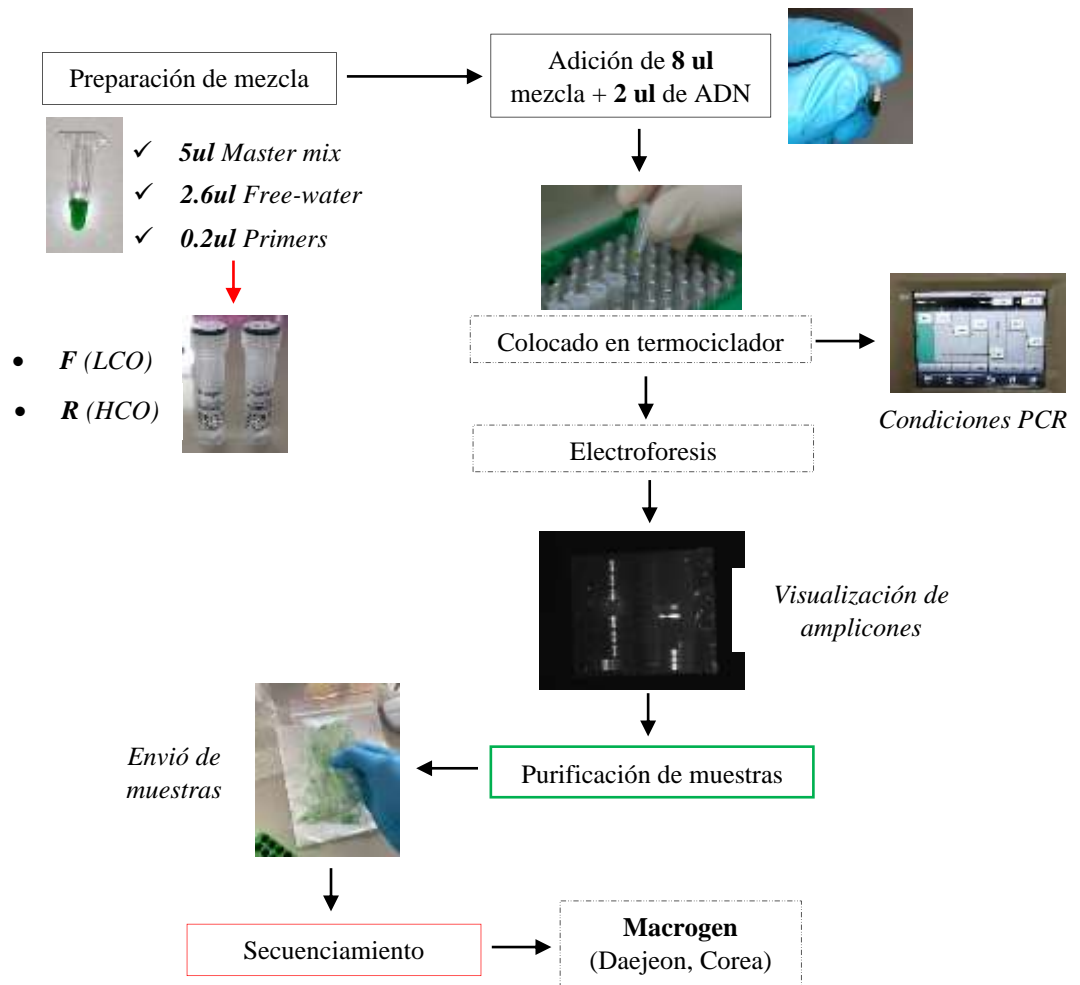
**Tabla 2.** *Parámetros para la amplificación por PCR.*

Marcador	Fases	Condiciones de PCR		Ciclos
		Temperatura	Tiempo	
COI	Pre-desnaturalización	95 C°	1'	1x
	Desnaturalización	94 C°	30''	
	Annealing	48 C°	30''	40x
	Extención	68 C°	45''	
	Extensión final	72 C°	5'	1x

Los amplicones obtenidos durante la PCR se visualizaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 1% en un tampón (Tris-borato 0.045M; EDTA 0.001M) durante el tiempo de 15 minutos a 100V (Pathirage et al., 2021; Ponce et al., 2021). Los amplicones con bandas claras fueron purificados. La purificación se realizó con el kit de limpieza kit Wizard® SV Genomic DNA Purification System de Promega (Promega, Madison, Estados Unidos) (Mendieta et al., 2023) siguiendo las instrucciones del fabricante.

- Se agregó 45 ul de Binding Buffer a la solución de los tubos de PCR, se transfirió la mezcla a una columna de limpieza Wizard SV en un tubo de colección centrifugándose a 12,000 rpm durante 1 minuto, luego se desechó el sobrenadante.
- Para el proceso de lavado se agregó 200 ul de Wash Buffer, se centrifugó a 12,000 rpm durante 1 minuto, se desechó el sobrenadante y el tubo de colección y se colocó la columna de limpieza Wizard SV en un tubo de microcentrífuga de 1,5.
- Finalmente, se agregó 10 ul de Elution Buffer directamente a la matriz de la columna, centrifugándose a 12,000 rpm durante 2 minutos, este procedimiento se repitió dos veces hasta completar 20 ul de elución de ADN.

Posteriormente, los amplicones purificados fueron secuenciados comercialmente por MacroGen (Daejeon, Corea) (Tineo et al., 2020).



**Figura 5.** Proceso de amplificación por PCR y purificación de muestras de gorgojo de los Andes.

## 2.5. Análisis filogenético

Las secuencias del marcador mitocondrial COI se editaron utilizando el programa Chromas (Mamani et al., 2017). Las secuencias generadas se alinearon con otras secuencias descargadas de GenBank utilizando el algoritmo MUSCLE y se ajustaron manualmente con el software MEGA6 (Hernandez & Benjumea, 2011; Sañudo et al., 2021). Para el análisis filogenético del gorgojo de los Andes de Amazonas se usaron las especies de *Lachnopus* sp. (HQ891469) y *Artipus* sp. (HQ891429) como grupos externos (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

El modelo de evolución se seleccionó utilizando PartitionFinder v. 2.1.1 (Lanfear et al., 2016). Además, se usó el método Maximum likelihood (Bustamante et al., 2019; Ilinsky et al., 2022) mediante el programa RaxML GUI v. 2.0.0 beta 10 con un análisis de Bootstrap con 1000

réplicas para confirmar la significancia estadística de los grupos genéticos. Adicionalmente, la inferencia Bayesiana (BI) se realizó con el software MrBayes v. 3.2.5 para 2 000 000 de generaciones (Ronquist et al., 2012; Mamani et al., 2017; Zhang et al., 2019).

## **2.6. Análisis de diversidad genética**

El análisis de diversidad genética del gorgojo de los Andes se basó en el cálculo del número de haplotipos ( $h$ ), índices de diversidad genética ( $H_d$ ), índice de diversidad de nucleótidos ( $P_i$ ) y test de Tajima's  $D$  (usado para determinar el estado poblacional en cuanto a expansión o estabilidad) se determinaron mediante el software DNA Sequences Polymorphism (DnaSP) v. 6.1 (López-Martínez et al., 2020; Garipey et al., 2021; Pathirage et al., 2021; Zhan et al., 2021).

## **2.7. Análisis de red de haplotipos (Networks) y conectividad genética**

El análisis de las relaciones entre los haplotipos se realizó con el método de la red de unión mediana (MJ-Median Joining Network) mediante el software PopArt v.2.1 (Leigh & Bryant, 2015).

El análisis del nivel de conectividad genética entre las poblaciones del gorgojo de los Andes se determinó calculando los valores de correlación entre distancias genéticas ( $F_{ST}$ ) mediante el uso de ARLEQUIN v. 3.5.1.2 (Kim et al., 2021). Además, se calculó el número de migrantes por generación ( $N_m$ ) entre poblaciones y para determinar la estructura genética de las poblaciones se usó el análisis molecular de varianza (AMOVA) (Guernaoui et al., 2020; Ponce et al., 2021).

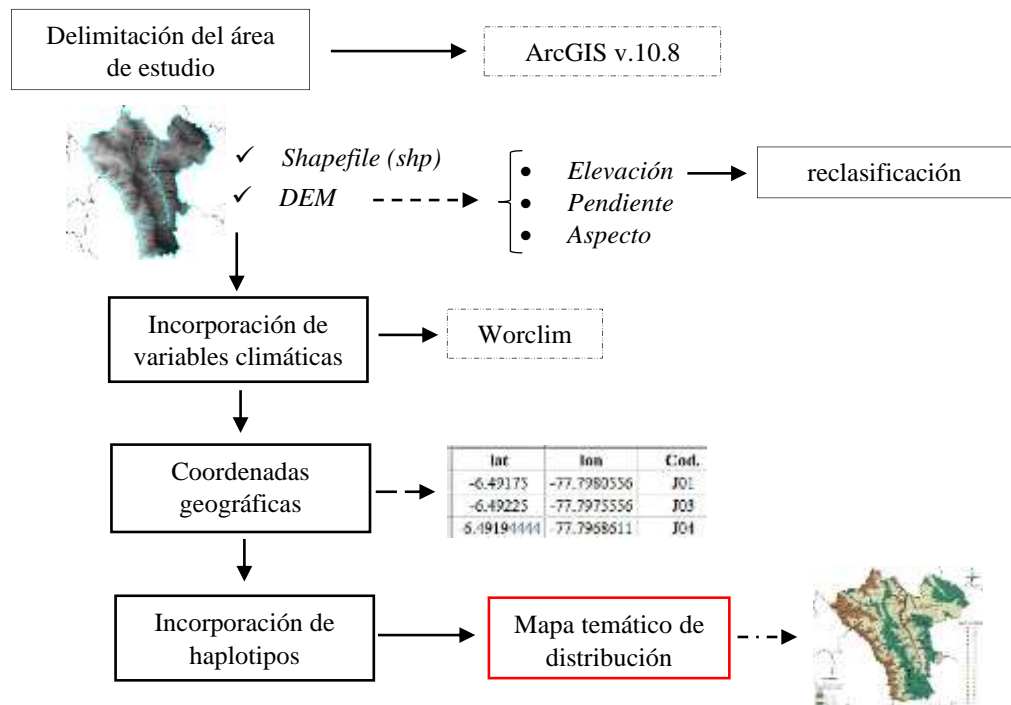
## **2.8. Distribución altitudinal del gorgojo de los Andes**

Para analizar la distribución del gorgojo de los Andes a lo largo del gradiente altitudinal de la región Amazonas se elaboró un mapa temático que reflejó el número de grupos (haplotipos) encontrados en cada una de las zonas de muestreo. Para ello, el área de estudio se delimitó en el programa ArcGIS v.10.8 mediante un shapefile (shp) de la región Amazonas, además se utilizó un modelo de elevación digital (DEM,

ALOS PALSAR) (Rojas et al., 2019; Trigos et al., 2020) para calcular datos de elevación, pendiente y aspecto.

Los datos de altitud proporcionados por el modelo de elevación digital se reclasificaron con el fin de crear un nuevo estándar de clasificación, adicionalmente se incorporaron algunas variables meteorológicas climáticas como la temperatura y precipitación, las cuales influyen en el ciclo de vida del gorgojo de los Andes y están sujetas a cambios ambientales continuos ocasionados principalmente por el cambio climático (Malhi et al., 2021). Estos datos (temperatura y precipitación) se obtuvieron de la base de datos de worclim (Fick & Hijmans, 2017; Hatefard et al., 2021).

Posteriormente, se importaron los datos de los grupos identificados del gorgojo de los Andes con la información recolectada en cada punto de muestreo (coordenadas geográficas) a cada una de las variables en el programa ArcGIS v.10.8. Como resultado se obtuvo un mapa temático final (altitud) de distribución de gorgojo de los Andes en el gradiente altitudinal de la región Amazonas, que están complementados con una tabla que contiene información de la distribución del gorgojo de los Andes.

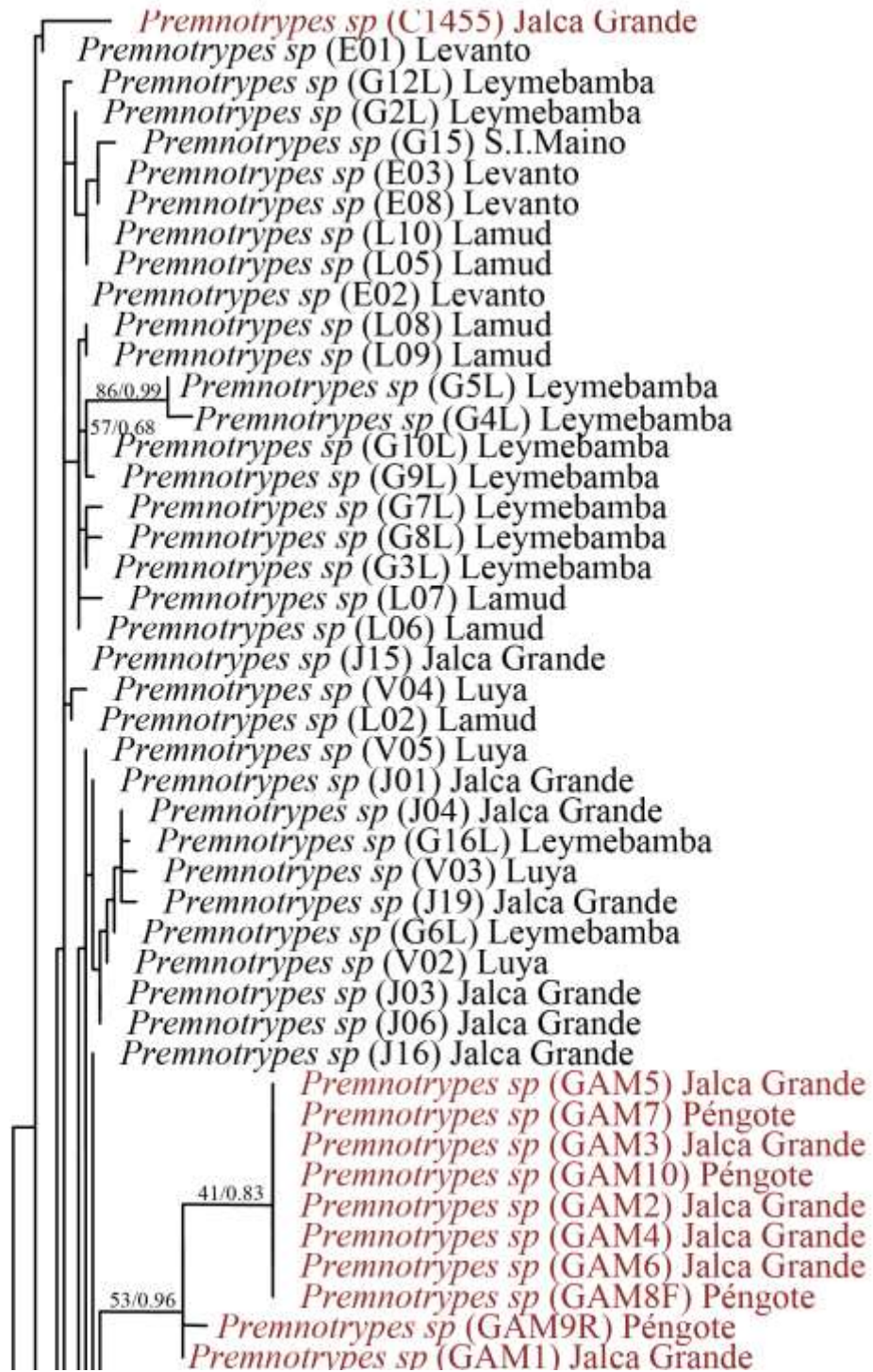


**Figura 6.** Proceso de elaboración de mapas temáticos de distribución de gorgojo de los Andes en el gradiente altitudinal de Amazonas.

### III. RESULTADOS

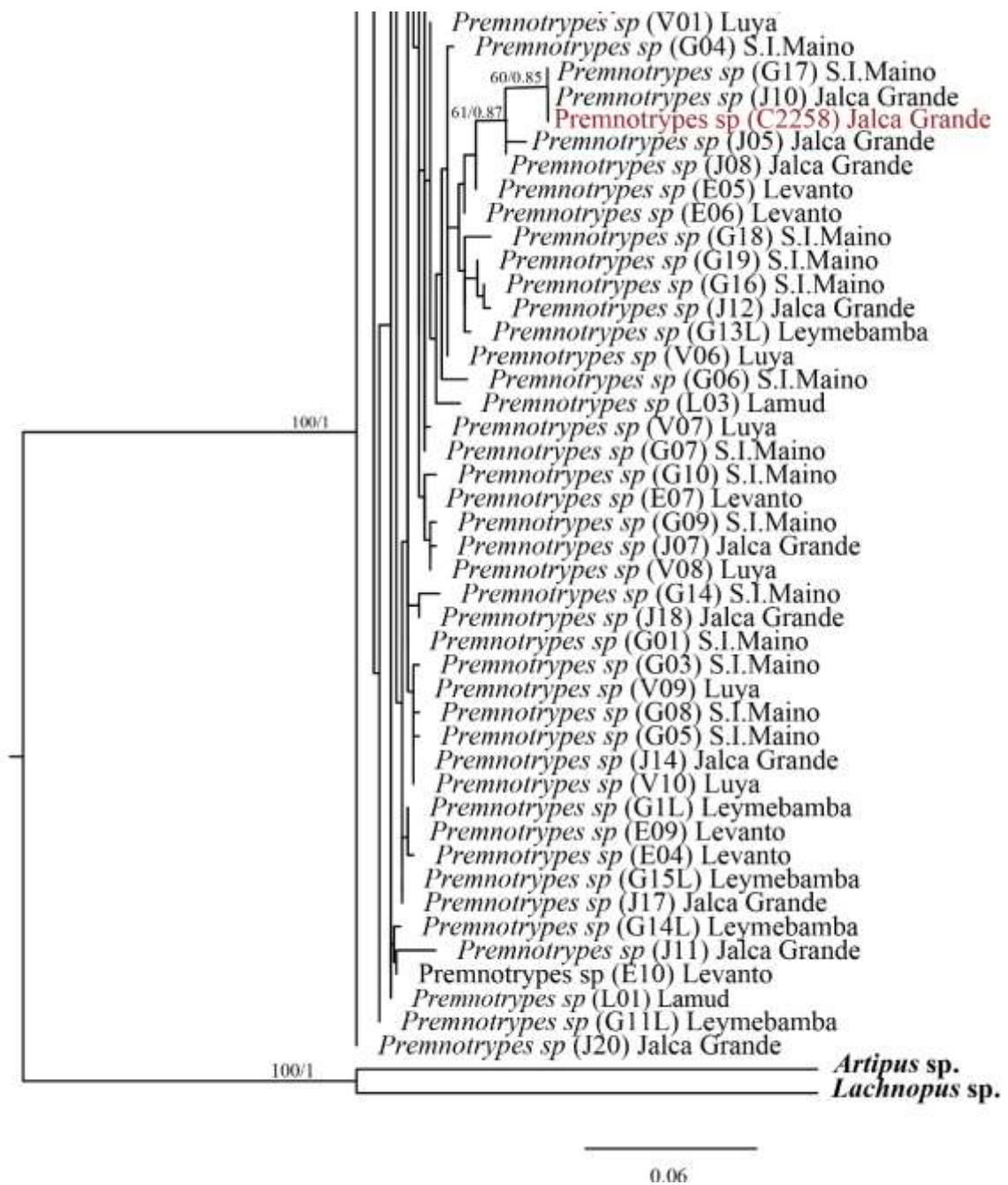
#### 3.1. Análisis filogenético

El análisis filogenético del gorgojo de los Andes (*Premnotrypes sp.*) se realizó con los análisis de máxima verosimilitud e inferencia bayesiana con un total de 91 secuencias con una longitud de 675 pares de bases (pb). El análisis filogenético incluyó 77 secuencias de individuos colectados en las principales zonas productoras de papa de la región Amazonas y 12 secuencias fueron obtenidas por Tineo (2019). Adicionalmente, se incluyeron 2 secuencias de las especies de *Lachnopus sp.* y *Artipus sp.* como grupos externos (Figura 7). Cabe resaltar que en este análisis no se incluyó la única secuencia de GenBank etiquetada como *Premnotrypes vorax* (MN343974) de Ecuador, debido a que se encontraba incompleta, lo que dificultó el alineamiento con las secuencias de gorgojo de los Andes.



*Figura 7. Continua*





**Figura 7.** Árbol filogenético del gen COI basado en el análisis de máxima verosimilitud. Valores por encima de las ramas son los valores de Bootstrap de máxima verosimilitud / probabilidad bayesiana (no se muestran los valores menores a 50/0.7).

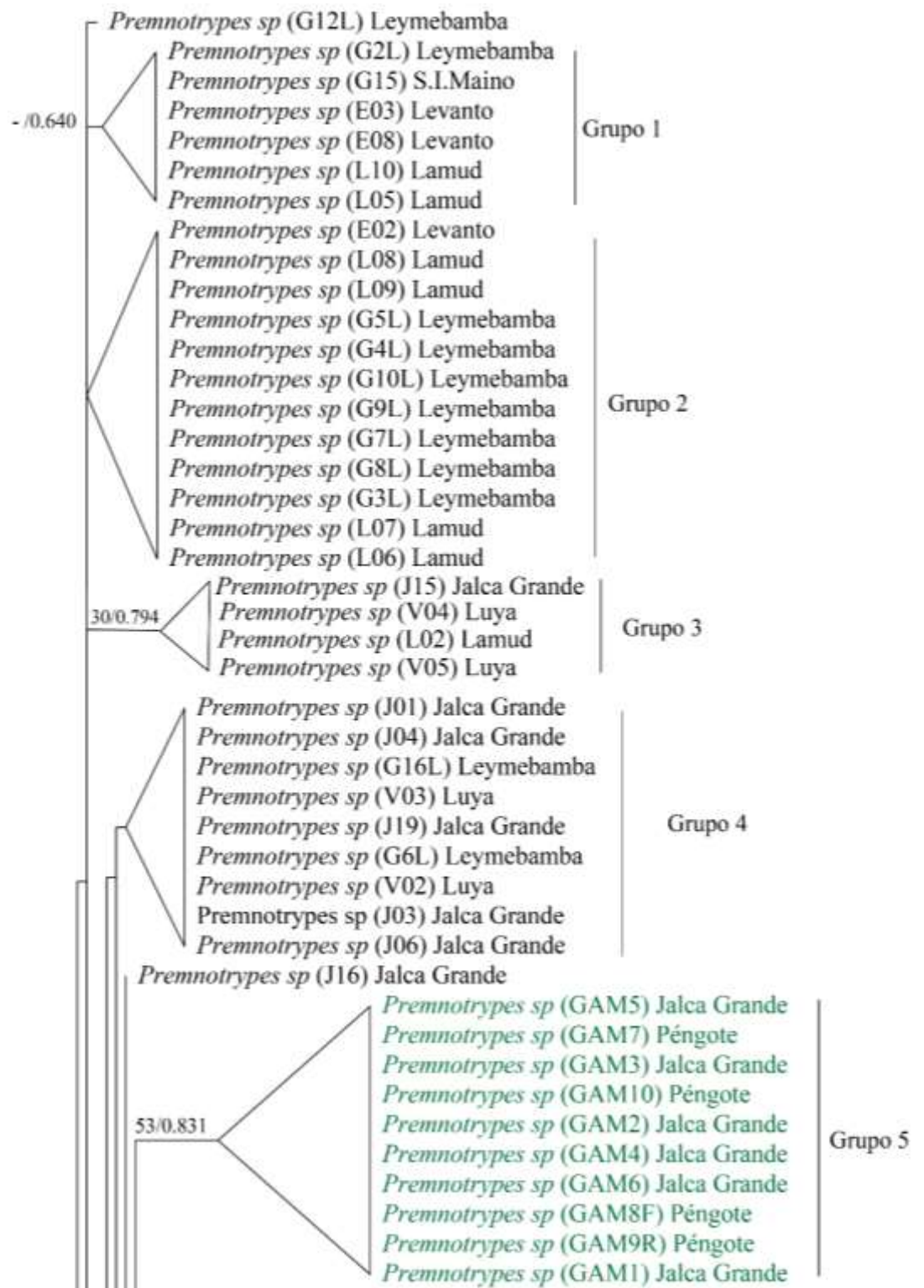
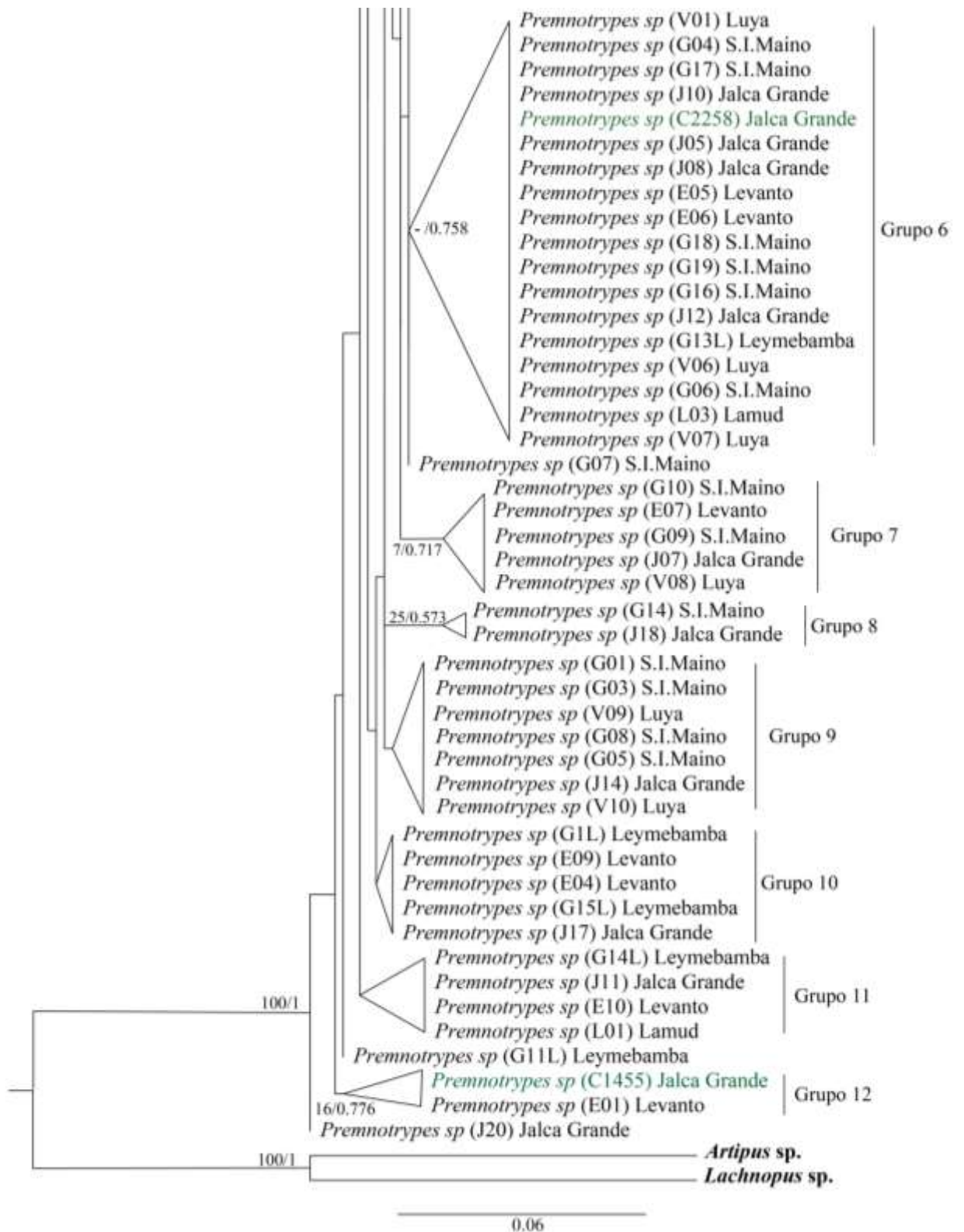


Figura 8. Continua



**Figura 8.** Árbol filogenético del gen COI basado en el análisis de máxima verosimilitud resaltando los grupos genéticos. Valores por encima de las ramas son los valores de Bootstrap de máxima verosimilitud / probabilidad bayesiana (no se muestran los valores menores a 50/0.7).

En el árbol filogenético se identificó la presencia de 12 clados o grupos genéticos y la presencia de 5 singletons (Figura 8). Los grupos con mayor número de individuos fueron 1, 2, 4, 5, 6, 7, 9 y 10; mientras que los de menor número de individuos fueron 3, 8, 11 y 12. Dentro del primer grupo se encuentran 6 individuos provenientes de las poblaciones de Lámud, Leymebamba, Luya y San Isidro del Maino. El segundo grupo está conformado por 12 individuos de las poblaciones de Lámud, Levanto y Leymebamba. El cuarto clado agrupa 9 individuos pertenecientes a las poblaciones de la Jalca Grande, Leymebamba y Luya. El grupo 5 está conformado por 10 individuos de las poblaciones de la Jalca Grande y Péngote, las cuales pertenecen a las colectas de Tineo (2019). El sexto clado es el más grande agrupando a 18 individuos e incluyendo a todas las poblaciones (Jalca Grande, Lámud, Levanto, Leymebamba, Luya y San Isidro del Maino). En el grupo 9 se encuentran 7 individuos de las poblaciones de la Jalca Grande, San Isidro del Maino y Luya. Los grupos 7 y 10 están conformados por 5 individuos que en su mayoría pertenecen a las poblaciones de Levanto y San Isidro del Maino. Finalmente, los grupos 3, 8, 11 y 12 están conformados por 2-4 individuos que en su mayoría pertenecen a las poblaciones de Jalca Grande y Luya.

**Tabla 3.** Información de los grupos filogenéticos de las poblaciones del gorgojo de los Andes.

<b>N° de grupos</b>	<b>N° de individuos</b>	<b>Población geográfica</b>
Grupo 1	6	Lámud, Leymebamba, Luya, S.I. Maino
Grupo 2	12	Lámud, Levanto, Leymebamba
Grupo 3	4	Jalca, Lámud, Luya
Grupo 4	9	Jalca Grande, Leymebamba, Luya.
Grupo 5	10	Jalca Grande, Péngote
Grupo 6	18	Jalca Grande, Lámud, Levanto, Leymebamba, Luya, S.I. Maino
Grupo 7	5	Jalca Grande, Levanto, Luya, S.I. Maino
Grupo 8	2	Jalca Grande, S.I. Maino
Grupo 9	7	Jalca Grande, S.I. Maino, Luya
Grupo 10	5	Jalca Grande, Levanto, Leymebamba
Grupo 11	4	Jalca Grande, Lámud, Levanto, Leymebamba
Grupo 12	2	Jalca Grande, Levanto

### **3.2. Diversidad genética**

El análisis de las secuencias de ADN mitocondrial del gorgojo de los Andes mostró 18 sitios polimórficos y 19 haplotipos con una alta diversidad haplotípica ( $H_d=0.80439$ ). La diversidad nucleotídica de las ocho poblaciones fue relativamente alta ( $P_i=0.00587$ ) (Tabla 4).

Las poblaciones con el mayor número de haplotipos fueron San Isidro del Maino ( $h=9$ ), Jalca Grande ( $h=7$ ) y Levanto ( $h=6$ ), mientras Pégote ( $h=2$ ) fue la población con el menor número de haplotipos. Las poblaciones con la más alta diversidad de haplotipos fueron Levanto ( $H_d=0.88889$ ), San Isidro del Maino ( $H_d=0.88571$ ) y la Jalca Grande ( $H_d=0.76471$ ).

La población con el mayor número de sitios polimórficos ( $s=11$ ), alta diversidad de nucleótidos ( $P_i=0.00753$ ) y mayor número promedio de diferencias de nucleótidos por pares ( $k=2.38095$ ) fue San Isidro del Maino. Contrariamente, la población con el menor número de sitios polimórficos ( $s=2$ ), menor diversidad de nucleótidos ( $P_i=0.00232$ ) y menor número promedio de diferencias de nucleótidos por pares ( $k=0.73333$ ) fue Luya.

El test de Tajima's D para las poblaciones de Lámud, Jalca Grande, San Isidro del Maino, Leymebamba, Levanto y Pégote resultó negativo ( $P < 0.05$ ), lo que puede indicar que estas poblaciones tuvieron un barrido selectivo reciente y posterior expansión de la población después de un cuello de botella reciente.

### **3.3. Análisis y distribución de la red de haplotipos**

El análisis de la red de haplotipos basado en el método de la Red de unión mediana (Median Joining Network) para las poblaciones de gorgojo de los Andes de la región Amazonas reveló la presencia de 9 grupos y 10 singletons [H4 (especimen L03); H6 (especimen L07); H9 (especimen J11); H10 (especimen J20); H11 (especimen G05); H12 (especimen G06); H14 (especimen G18); H15 (especimen G4L); H17 (especimen C1455) y H19 (especimen GAM9R)] (Tabla 4, Figura 9). Los haplotipos 1 (H1) y 2 (H2) se encuentran distribuidos en la mayoría de las poblaciones del área de estudio y presentan la mayor cantidad de individuos, mientras que los

haplotipos 3 (H3), 13 (H13) y 16 (H16) presentan una menor predominancia de individuos.

El haplotipo 1 (H1) está conformado por 11 individuos procedentes de las poblaciones de Luya (3), Levanto (3), Leymebamba (2), San Isidro del Maino (2) y Jalca Grande (1). El haplotipo 2 (H2) es el que posee mayor diversidad y está conformado por 36 individuos pertenecientes a las poblaciones de Leymebamba (10), Jalca Grande (8), Luya (6), Lamud (5), San Isidro del Maino (5) y Levanto (2). El haplotipo 3 (H3) está conformado por 2 individuos de las poblaciones de Luya y Jalca Grande. El haplotipo 5 (H5) está conformado por 7 individuos procedentes de las poblaciones de Lamud (2), Leymebamba (2), Levanto (2) y San Isidro del Maino (1). El haplotipo 7 (H7) está conformado por 6 individuos pertenecientes a las poblaciones de la Jalca Grande (4), Levanto (1) y San Isidro del Maino (1). El haplotipo 8 (H8) está conformado por 4 individuos que pertenecen a las poblaciones de la Jalca Grande (2), Levanto (1) y San Isidro del Maino (1). El haplotipo 13 (H13) está formado por 2 individuos pertenecientes a la población de San Isidro del Maino. El haplotipo 16 (H16) está conformado por 2 individuos pertenecientes a las poblaciones de Leymebamba y Levanto. El haplotipo 18 (H18) está conformado por 9 individuos pertenecientes a las poblaciones de la Jalca Grande (6) y Péngote (3).

**Tabla 4.** Diversidad genética del gorgojo de los Andes en la región Amazonas. *n*: número de individuos; *h*: número de haplotipos; *s*: número de sitios polimórficos; *Hd*: diversidad genética de haplotipos; *Pi*: diversidad de nucleótidos; *k*: número promedio de diferencias de nucleótidos por pares.

Poblaciones	n	H	S	Hd	Pi	k	Tajima's D
Luya	10	3	2	0.60000	0.00232	0.73333	0.80445
Lamud	9	4	5	0.69444	0.00457	1.44444	-0.32636
Jalca Grande	17	7	7	0.76471	0.00614	1.94118	-0.12081
San Isidro del Maino	15	9	11	0.88571	0.00753	2.38095	-0.32944
Leymebamba	16	5	4	0.60833	0.00280	0.88333	-0.20253
Levanto	10	6	5	0.88889	0.00563	1.77778	-0.46399
Jalca Grande T	8	3	8	0.46429	0.00633	2.00000	-1.55452
Péngote	4	2	2	0.50000	0.00318	1.00000	-0.70990
<b>Total</b>	<b>89</b>	<b>19</b>	<b>18</b>	<b>0.80439</b>	<b>0.00587</b>	<b>1.85546</b>	<b>-0.36289</b>

**Tabla 5.** Información de la red de haplotipos de las poblaciones del gorgojo de los Andes en la región Amazonas. Códigos en color azul representan los haplotipos únicos.

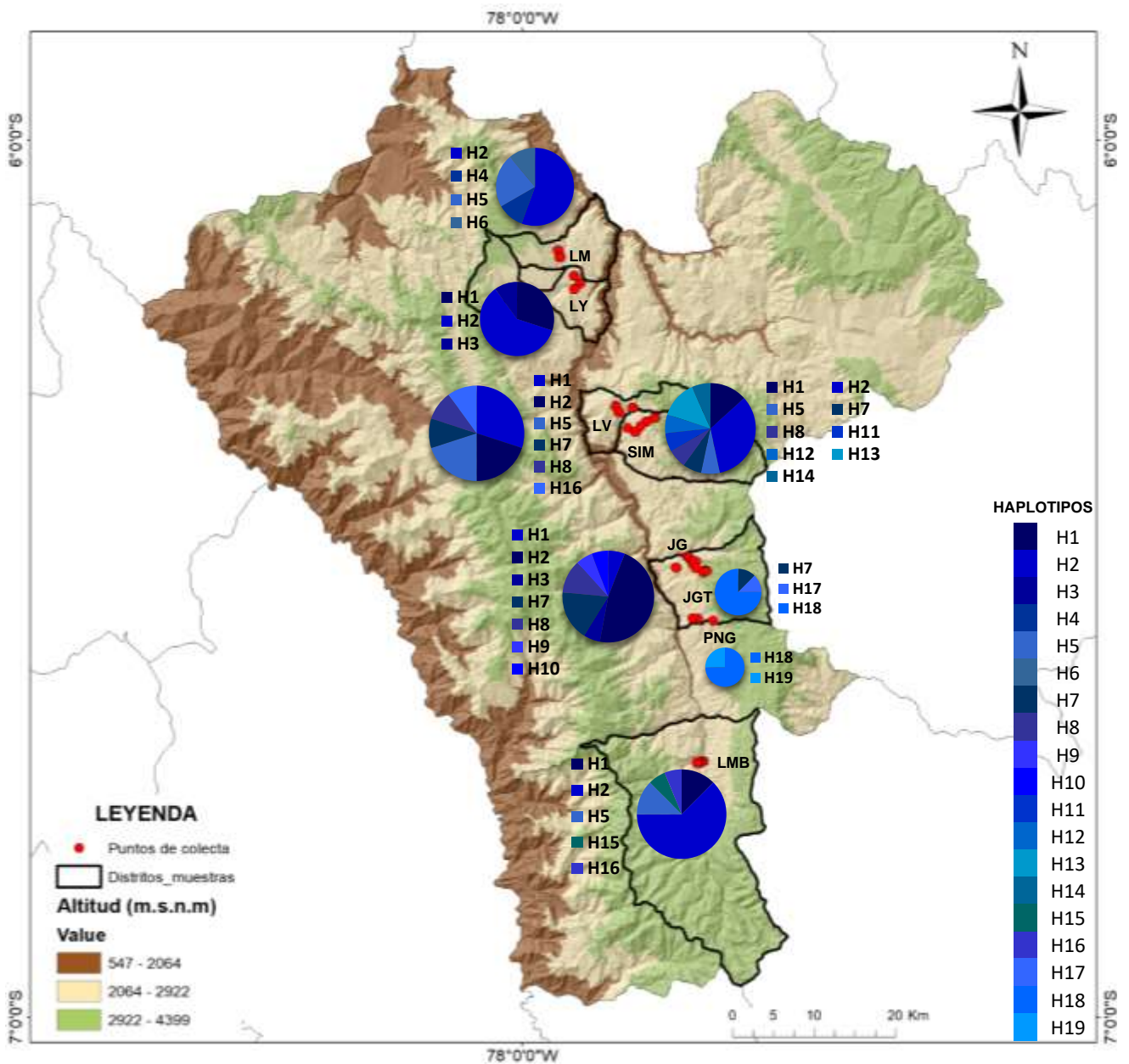
Hap	Freq.	Poblaciones y Códigos
<b>H1</b>	11	Luya ( <b>V01, V06, V08</b> ); Jalca grande ( <b>J16</b> ); S.I. Maino ( <b>G07, G09</b> ); Leymebamba ( <b>G1L, G13L</b> ); Levanto ( <b>E04, E07, E09</b> )
<b>H2</b>	36	Luya ( <b>V02, V03, V04, V05, V09, V10</b> ); Lámud ( <b>L01, L02, L06, L08, L09</b> ); Jalca Grande ( <b>J01, J03, J04, J06, J14, J15, J17, J18</b> ); S.I. Maino ( <b>G01, G03, G04, G14, G15</b> ); Leymebamba ( <b>G3L, G6L, G7L, G8L, G9L, G10L, G12L, G14L, G15L, G16L</b> ); Levanto ( <b>E02, E10</b> )
<b>H3</b>	2	Luya ( <b>V07</b> ); Jalca Grande ( <b>J12</b> )
H4	1	Lámud ( <b>L03</b> )
<b>H5</b>	7	Lámud ( <b>L05, L10</b> ); S.I. Maino ( <b>G08</b> ); Leymebamba ( <b>G2L, G5L</b> ); Levanto ( <b>E03, E08</b> )
H6	1	Lamud ( <b>L07</b> )
<b>H7</b>	6	Jalca Grande ( <b>J05, J08, J10</b> ); S.I. Maino ( <b>G17</b> ); Levanto ( <b>E05</b> ); Jalca Grande ( <b>C2258</b> )
<b>H8</b>	4	Jalca Grande ( <b>J07, J19</b> ); S.I. Maino ( <b>G10</b> ); Levanto ( <b>E06</b> )
H9	1	Jalca Grande ( <b>J11</b> )
H10	1	Jalca Grande ( <b>J20</b> )
H11	1	S.I. Maino ( <b>G05</b> )
H12	1	S.I. Maino ( <b>G06</b> )
<b>H13</b>	2	S.I. Maino ( <b>G16, G19</b> )
H14	1	S.I. Maino ( <b>G18</b> )
H15	1	Leymebamba ( <b>G4L</b> )
<b>H16</b>	2	Leymebamba ( <b>G11L</b> ); Levanto ( <b>E01</b> )
H17	1	Jalca Grande ( <b>C1455</b> )
<b>H18</b>	9	Jalca Grande ( <b>GAM1, GAM2, GAM3, GAM4, GAM5, GAM6</b> ); Péngote ( <b>GAM7, GAM8F, GAM10</b> )
H19	1	Péngote ( <b>GAM9R</b> )

**Tabla 6.** Distribución de haplotipos presentes en cada una de las poblaciones de gorgojo de los Andes de la región Amazonas. Códigos en negrita representan los haplotipos únicos.

Poblaciones	N° Hap	Haplotipos	Altitud
<b>Luya</b>	3	<b>H1; H2; H3</b>	2293 - 2340
<b>Lamud</b>	4	<b>H2; H4; H5; H6</b>	2389 - 2460
<b>Jalca Grande</b>	7	<b>H1; H2; H3; H7; H8; H9; H10</b>	2524 - 3097.5
<b>S.I. Maino</b>	9	<b>H1; H2; H5; H7; H8; H11; H12; H13; H14</b>	2578 - 2837
<b>Leymebamba</b>	5	<b>H1; H2; H5; H15; H16</b>	2291 - 2322.6
<b>Levanto</b>	6	<b>H1; H2; H5; H7; H8; H16</b>	2629 - 2880.6
<b>Jalca Grande T</b>	3	<b>H7; H17; H18</b>	2805 - 2876
<b>Péngote</b>	2	<b>H18; H19</b>	2522 - 2944







*Figura 10. Distribución altitudinal de haplotipos en las poblaciones de gorgojo de los Andes en la región Amazonas. Gráficos circulares indican la proporción de haplotipos en cada población. Los códigos representan las poblaciones: Luya (LY), Lamud (LM), Leymebamba (LMB), Levanto (LV), Jalca Grande (JG), San Isidro del Maino (SIM), Jalca Grande T (JGT) y Pégote (PNT).*

### 3.4. Estructura genética de poblaciones

El índice de fijación global ( $F_{ST}$ ) basado en el cálculo de valores de correlación entre distancias genéticas fue de  $F_{ST} = 0.30363$ , el cual representa un alto nivel de conectividad genética entre las poblaciones. Adicionalmente, las poblaciones con mayor nivel de conectividad genética fueron Pénegote y Luya ( $F_{ST} = 0.71836$ ), Pénegote y Leymebamba ( $F_{ST} = 0.71698$ ) seguidas de las poblaciones de la Jalca Grande y Leymebamba ( $F_{ST} = 0.69043$ ). Contrariamente, las poblaciones con menor nivel de conectividad genética fueron Pénegote y Jalca Grande ( $F_{ST} = -0.147476$ ) (muestras obtenidas por Tineo, 2019), Leymebamba y Lamud ( $F_{ST} = -0.04546$ ) y las poblaciones de San Isidro del Maino y Levanto ( $F_{ST} = -0.03091$ ) (Tabla 7).

El análisis molecular de varianza (AMOVA) de las poblaciones de Gorgojo de los Andes reveló que la mayor parte de la estructuración y/o diferenciación genética se observó dentro de las poblaciones (71.97%,  $P < 0.05$ ;  $F_{ST} = 0.30563$ ), de las cuales, las poblaciones de San Isidro del Maino y la Jalca Grande resultaron ser las más divergentes debido a que sus grupos genéticos albergan 9 y 7 haplotipos diferentes respectivamente, mientras que, el menor porcentaje de variaciones genéticas ocurren entre poblaciones (28.03 %,  $P < 0.05$ ;  $F_{CT} = 0.31144$ ) (Tabla 8).

**Tabla 7.** Índices de fijación global ( $F_{ST}$ ) de las poblaciones de gorgojo de los Andes en la región Amazonas. Los códigos representan las poblaciones: Luya (LY), Lamud (LM), Leymebamba (LMB), Levanto (LV), Jalca Grande (JG), San Isidro del Maino (SIM), Jalca Grande T (JGT) y Pénegote (PNT).

<b>Poblaciones</b>	<b>LY</b>	<b>LM</b>	<b>LMB</b>	<b>LV</b>	<b>JG</b>	<b>SIM</b>	<b>JGT</b>	<b>PNT</b>
<b>LY</b>	0.00000							
<b>LM</b>	-0.01433	0.00000						
<b>LMB</b>	0.01431	-0.04546	0.00000					
<b>LV</b>	0.03356	-0.00348	0.08722	0.00000				
<b>JG</b>	0.00703	0.02692	0.07152	0.01269	0.00000			
<b>SIM</b>	0.02766	0.03073	0.10541	-0.03091	-0.02711	0.00000		
<b>JGT</b>	0.65995	0.61571	0.69043	0.51850	0.48859	0.48581	0.00000	
<b>PNT</b>	0.71836	0.63520	0.71698	0.51832	0.46485	0.46742	-0.14776	0.00000

**Tabla 8.** Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) para las poblaciones de gorgojo de los Andes de la región Amazonas.

<i>Fuente de variación</i>	<i>d.f.</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Componentes de varianza</i>	<i>% de variación</i>	<i>Índices de fijación</i>
Entre poblaciones	9	66.549	0.94985 Va	28.03	F <sub>CT</sub> = 0.31144
Dentro de las poblaciones	79	184.985	2.15388 Vb	71.97	F <sub>ST</sub> = 0.30563
<b>Total</b>	88	251.534	3.10373		

#### IV. DISCUSIÓN

La ocurrencia del gorgojo de los Andes (tradicionalmente asociado al género *Premnotrypes*) se ha registrado en varias regiones andinas de Sudamérica, encontrándose distribuido también en la región de Cajamarca y Amazonas (Alcázar, 2002; Kühne, 2007; Pérez-Álvarez et al., 2010; Tineo, 2019). La expansión del gorgojo de los Andes hacia nuevas áreas se ve facilitada por el comercio e introducción de tubérculos de siembra (Cao et al., 2019; Bessette et al., 2022; Fernández et al., 2022), expandiéndose a menudo a lugares donde no se puede mitigar su impacto (Sañudo et al., 2021). El presente estudio ha reportado la presencia de este gorgojo en un gradiente altitudinal (mínimo: 2293, máximo: 3097.5) de la región Amazonas mediante el uso de herramientas moleculares. Esta expansión de su distribución podría estar generando dificultades para su control y tratamiento (Alcázar, 2002; Pathirage et al., 2021; Postic et al., 2021).

##### 4.1. Análisis filogenético

El análisis filogenético de este estudio confirma la presencia de 12 linajes en una sola especie dentro de lo que se conoce como “gorgojo de los Andes” en la región Amazonas. Según Tineo (2019), el “gorgojo de los Andes” de Amazonas no se encuentra inmersa en el género *Premnotrypes* y, adicionalmente, es especie hermana a los géneros *Artipus* y *Lachnopus*. Tineo (2019) sugirió características morfológicas de este gorgojo que tampoco serían propias de la especie de *Premnotrypes vorax* (larvas de tipo ápodas, aspecto robusto y curvada, color blanco cremoso). El gorgojo de los Andes

comprende 12 especies que pertenecen al género *Premnotrypes* (análogos morfológicamente en estado larvario), y 2 especies que pertenecen a los géneros *Rhigopsidius* y *Phyrdenus* (Anexo A1), cuya ocurrencia se encuentra por debajo de los 2000 msnm (Kühne, 2007). Así mismo, estas especies se alimentan de las raíces de los tubérculos generando pérdidas mínimas en los cultivos (2-10 %) (Alcázar, 2002; Kroschel et al., 2020). Estos hallazgos sumados a la caracterización molecular del presente estudio sugieren que el gorgojo de los Andes de la región Amazonas podría pertenecer a una especie distinta de *Premnotrypes vorax* y probablemente una nueva.

La presencia de los 12 linajes dentro del concepto de gorgojo de los Andes sugiere una gran variabilidad genética (Janes & Batista, 2016) que puede ser explicada por el flujo de genes debido a factores antropogénicos (como expansión de la población, sobreexplotación del suelo e intercambio y comercialización de tubérculos) y genéticos (como mutaciones aleatorias, deriva genética y selección natural) (Giardina, 2013; Wang et al., 2017; Bessette et al., 2022). Sin embargo, la adaptabilidad de este gorgojo a la región Amazonas también podría atribuirse a factores, como el clima, disponibilidad de alimento, resistencia a los insecticidas, humedad y altitud (Kroschel et al., 2020; Denlinger et al., 2021), factores que son de predilección para el gorgojo de los Andes a lo largo de lugares húmedos entre los 2500-4700 msnm (Alcázar 2002). De hecho, Kroschel et al. (2020) corroboraron que las poblaciones de gorgojo de los Andes son susceptibles a altas temperaturas (>25 °C), mientras que las tasas de supervivencia más altas se producen entre los 11-15 °C. Así mismo, se encontró que existe mayor abundancia de poblaciones de gorgojo de los Andes a medida que la humedad, precipitación y altitud incrementan (Loayza, 2021), confirmando su adaptación a condiciones climáticas frías (Bragard et al., 2020). Por su parte, la región Amazonas se caracteriza por poseer un clima lluvioso y húmedo que alcanza temperaturas mínimas de 11-17 °C (SENAMHI, 2023), condiciones que estarían facilitando la adaptación del gorgojo de los Andes.

Por otro lado, la región de Amazonas cuenta con extensas áreas de cultivos de tubérculos, por lo que la probabilidad de competencia entre especies es mínima, además el gorgojo de los Andes no posee enemigos naturales y/o

predadores capaces de controlar y reducir sus poblaciones (Rios & Kroschel, 2011; Bragard et al., 2020). Adicionalmente, esta adaptabilidad podría estar relacionada a factores biológicos que intervienen en su dinámica poblacional, tales como patrones de apareamiento, tiempo de duración de las generaciones, tasas de mortalidad y migraciones (Wang et al., 2017).

La región Amazonas es considerada un hotspot de biodiversidad genética y de especies (Bush et al., 2004; MINAM, 2013). Esto se ve confirmado por los recientes hallazgos de nuevas especies de microorganismos (Bustamante et al. 2019; 2020) y plantas (Tineo et al., 2020; 2022), y aquellos que reportan un alta la diversidad genética de especies de la región, tales como los realizados por Olano (2022) y Chuquizuta (2023). Sorprendentemente, el presente estudio confirma esta elevada diversidad de linajes también en insectos. Sin embargo, esta amplia diversidad de plagas en la región supone limitaciones bióticas que afectan el rendimiento de los cultivos (Philpott, 2013), sumados al empleo de insecticidas para su control, los cuales pueden tener importantes efectos negativos sobre la biodiversidad y servicios ecosistémicos (Zytynska & Meyer, 2019; Skendzić et al., 2021), sumado a esto la aparición de brotes de plagas secundarias y la mortalidad de enemigos naturales (Denlinger et al., 2021).

#### **4.2. Diversidad genética**

La diversidad genética es causada por la variación del material genético e influenciada por las tasas de mutación, el tamaño efectivo de la población, el cambio ambiental y el flujo genético (Janes & Batista, 2016; Zhan et al., 2021; Li et al., 2022). En este estudio, el análisis reveló una alta diversidad de haplotipos ( $H_d = 0.80439$ ) y de nucleótidos ( $P_i = 0.00587$ ), sugiriendo que las poblaciones del gorgojo de los Andes poseen una fuerte adaptabilidad al medio ambiente (Elameen et al., 2020; Li et al., 2022). Esto facilita la explosión demográfica de las poblaciones y su propagación a gran escala (Zhang et al., 2019; Sañudo et al., 2021).

La mayor diversidad genética se registró en la población de San Isidro del Maino ( $h=9$ ,  $H_d = 0.88571$ ,  $P_i = 0.00753$ ,  $s=11$ ) mientras que la población de Luya reveló la diversidad genética más baja. Esto podría ser una

subestimación generada por los menores números de especímenes colectados en Luya (Ya'cob et al., 2016). Sin embargo, la gran diversidad en San Isidro del Maino estaría influenciada por la altitud (2571-2877 msnm), debido a que poblaciones de altitudes elevadas presentan mayor diversidad genética y nivel de adaptación que aquellas de altitudes más bajas (Polato et al., 2017). Esto sumando a la gran diversidad biológica de San Isidro del Maino generada por el bosque montano, pajonales y valles de la microcuenca de Tilacancha permite una mayor diversificación del gorgojo de los Andes em (Lozada, 2013; Ramírez, 2013, Veneros et al., 2020).

Los valores de Tajima's D para todas las poblaciones, excepto Luya fueron significativamente negativos ( $P < 0.05$ ). Esto sugiere que estas poblaciones podrían haber experimentado un "efecto de cuello de botella" (variación de la estructura genética ocasionada por drásticas reducciones en el tamaño de las poblaciones) reciente seguido de un breve período de expansión demográfica de la población (Bergamo et al., 2020; Mayoke et al., 2020; Zhou et al., 2020; Li et al., 2022). Este evento pudo ser causado por condiciones ambientales deterioradas, como la ecología de las tierras de cultivo y efectos de aplicación de insecticidas (Bergamo et al., 2020; Guo et al., 2020; Mahalle et al., 2022). En los últimos años, las poblaciones de gorgojo de los Andes han sido controladas con insecticidas altamente tóxicos, como furadan, oxamil y triazophos utilizados ampliamente en cultivos de papas (Coronado et al., 2018; Gonzales, 2021). Adicionalmente, la gran diversidad genética del gorgojo de los Andes puede ser consecuencia de la elevada introducción de semillas de papa obtenidas a través del comercio (Alcázar, 2002); tal y como se ha reportado en el gorgojo del pimiento (*Anthonomus eugenii*) (Fernández et al., 2022) y el escarabajo de madera (*Aromia bungii*) (Tamura & Shoda-Kagaya, 2022).

El entendimiento de la demografía histórica de estos organismos permitirá comprender los efectos de los factores ambientales externos en desarrollo y distribución de estas poblaciones. Esto contribuirá al desarrollo de estrategias de control demográfico de estos insectos (Zhang et al., 2019; Li et al., 2022; Mahalle et al., 2022).

### 4.3.Red de haplotipos

En este estudio, los haplotipos 1 (H1) y 2 (H2) fueron los más predominantes y con un mayor número de conexiones mutacionales. Estos haplotipos son considerados ancestrales por esta predominancia (Mahalle et al., 2022) y la estructura que presentan es típico de poblaciones en expansión (Li et al., 2022) al encontrarse distribuidos en seis poblaciones (Jalca Grande, Lamud, Levanto, Leymebamba, Luya y San Isidro del Maino) de la Región Amazonas. Esto fue respaldado por los valores negativos de Tajima's D obtenidos en este estudio (Fernández et al., 2022). Además, la diversidad de estos haplotipos es considerablemente alta en las seis poblaciones sugiriendo que las poblaciones del gorgojo de los Andes podrían ser resultado de múltiples introducciones (Zhan et al., 2021). Por otro lado, los haplotipos 3 (H3), 13 (H13) y 16 (H16) fueron los menos abundantes, con apenas 2 individuos. Esto indicaría que algún tipo de simpatría estaría impidiendo el flujo genético de estos haplotipos entre las poblaciones (Baird et al., 2021). Adicionalmente, se cree que la escasa predominancia de estos haplotipos estaría relacionada con la altitud, debido a que estos haplotipos se encuentran entre 2293-2500 msnm, debajo del umbral altitudinal de adaptación del gorgojo de los Andes (2500-4700 msnm) (Baird et al., 2021).

Los 19 haplotipos encontrados en el presente estudio muestran un nivel elevado de haplotipos; sin embargo, se ha observado un mayor número en otras poblaciones de insectos, como, por ejemplo, del gorgojo del pimiento (44 haplotipos de *Anthonomus eugeni*) (Fernández et al., 2022), del escarabajo pulga del cáñamo (48 haplotipos de *Psylliodes attenuata*) (Guo et al., 2020) y del gorgojo de la zanahoria (23 haplotipos de *Listronotus oregonensis*) (Bessette et al., 2022). Estas diferencias se asocian básicamente al tamaño de las áreas de colección y al número de muestras encontradas en cada población (268 individuos de *Anthonomus eugeni*, 281 de *Psylliodes attenuata*, 220 individuos de *Listronotus oregonensis*) (Guo et al., 2020; Bessette et al., 2022; Fernández et al., 2022). Probablemente, colecciones adicionales del gorgojo de los Andes permitirían encontrar haplotipos adicionales.

#### 4.4. Estructura genética

El índice de fijación global para las poblaciones del gorgojo de los Andes de la Región Amazonas resultó superior ( $F_{ST} = 0.30363$ ) a índices de poblaciones del gorgojo del pino (*Hylobius abietis*,  $F_{ST} = 0.030$ ) (Conord et al., 2006); de insectos de arroz (*Chlorops oryzae*,  $F_{ST} = 0.1174$ ) (Zhou et al., 2020); de escarabajo del frijol (*Cerotoma trifurcata*,  $F_{ST} = 0.182$ ) (Tiroesele et al., 2014); y de polilla de leguminosas (*Maruca vitrata*,  $F_{ST} = 0.13912$ ) (Mahalle et al., 2022). Estas estimaciones sugieren que en la región Amazonas hay un alto nivel de conectividad genética, mientras que las otras poblaciones de insectos reflejarían bajos niveles de diversidad genética (Li et al., 2022). Adicionalmente, entre las poblaciones de Péngote y Luya ( $F_{ST} = 0.71836$ ) se mostraron altos niveles de diferenciación genética, posiblemente asociados a la distancia entre estas poblaciones (~30 km), aislamiento geográfico (Río Utcubamba) y factores ambientales como la altitud (2293-2944 msnm) (Conord et al., 2006). Por otro lado, las poblaciones con menor nivel de diferenciación genética ( $F_{ST} = -0.147476$ ) fueron Péngote y Jalca Grande. Esto podría asociarse al número de haplotipos (2 y 3) comunes y al tamaño pequeño de individuos colectados en estas poblaciones.

Los análisis moleculares de varianza (AMOVA) confirmaron que la mayor parte de diversidad genética del gorgojo de los Andes se encuentra dentro de cada población (71.97 %). Esto sugiere una baja diferenciación genética entre poblaciones, e indica que la mayor fuente de variación podría deberse a introducciones, factores más locales y/o variaciones entre los individuos (mutaciones espontáneas), en vez de aislamientos por barreras geográficas entre las poblaciones (Zhan et al., 2021). Esto sugiere que la hipótesis de introducciones numerosas de semillas de papa sería el escenario más probable.

En síntesis, las poblaciones del gorgojo de los Andes de Amazonas presentan alta diversidad y conectividad genética, que son explicados en su mayoría por el grado de adaptabilidad que poseen, lo que facilita su propagación y expansión a gran escala. Cabe destacar que el Gorgojo de los Andes de Amazonas no se encuentra dentro de la especie de *Premnotrypes vorax* y probablemente pertenecería a una especie distinta. La información generada



de este estudio permitirá guiar el desarrollo de estrategias de control de protección adecuadas contra insectos de distribución masiva en la región Amazonas. La taxonomía del gorgojo de los Andes es compleja y poco estudiada en la región, por lo que su identificación sin duda representa un desafío para el éxito de los planes de manejo integrado de plagas, los cuales serán un área importante de investigación futura para una producción sostenible en regiones productoras de papa, lo que a su vez reducirá la dependencia a los insecticidas.

## V. CONCLUSIONES

- Con el uso de herramientas moleculares, se confirmó la presencia de 12 linajes de gorgojo de los Andes en Amazonas, lo que evidencia la gran variabilidad y diversidad genética de insectos en la región, asociados a factores climáticos, genéticos, biológicos, ambientales y antropogénicos.
- La elevada diversidad de haplotipos y nucleótidos reflejan un alto grado de adaptabilidad en las poblaciones de gorgojo de los Andes, las cuales podrían haber experimentado un “efecto de cuello de botella” debido al constante uso de insecticidas. Sin embargo, también se propone que esta elevada diversidad podría deberse a la introducción de numerosas semillas de papa infectadas.
- La población de San Isidro del Maino presenta mayor diversidad genética la cual estaría influenciada por la mayor altitud (2571-2877 msnm). Contrariamente, la población de Luya tiene menor diversidad genética asociada posiblemente a los menores niveles de altitud (2293-2500 msnm).
- De los 19 haplotipos encontrados, los haplotipos H1 y H2 presentan mayor predominancia y se encuentran distribuidos en seis poblaciones (Jalca Grande, Lamud, Levanto, Leymebamba, Luya y San Isidro del Maino) de la región Amazonas, indicando un alto grado de expansión.
- Los haplotipos H3, H13 y H16 mostraron una baja abundancia en las poblaciones, causado probablemente por la altitud, ya que estos haplotipos se encuentran debajo del umbral de adaptación del gorgojo de los Andes.
- Las poblaciones de Péngote y Luya mostraron altos niveles de diferenciación genética asociados a la distancia entre poblaciones, aislamiento geográfico y altitud.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Se recomienda realizar las colectas de los insectos en el mismo campo (cortar y retirar las larvas) para evitar trasladar innecesariamente tubérculos que no contienen insectos al área de estudio y así minimizar expansión involuntaria de estos organismos.
- Abarcar un mayor número de individuos por cada población para evitar subestimaciones, con la finalidad de comprender mejor la dinámica evolutiva de las poblaciones de gorgojo de los Andes frente a escenarios de cambio climático. Además, se recomienda abarcar una mayor extensión geográfica para comprender los patrones de distribución y poder elegir estrategias de control adecuadas.
- Adaptar los protocolos de extracción de ADN las muestras de gorgojo de los Andes para maximizar la obtención de ADN de calidad.
- Se recomienda realizar monitoreos a las diversas zonas productoras de papa de la región Amazonas con el fin de identificar más zonas con presencia de insectos del gorgojo de los Andes para maximizar el alcance de la investigación.
- Identificar el flujo de obtención de las semillas de tubérculos, debido a que influye en la expansión del gorgojo de los Andes.
- Se recomienda el uso de herramientas moleculares a otro tipo de organismos de importancia económica, social y ambiental, para desarrollar estrategias de preservación y conservación bajo efectos del cambio climático y asociados a amenazas resultantes de actividades antrópicas.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A. De Biase., E. Colonnelli., C. Baviera., C., Bellò., R. Casalini., A. Corso & A. La Marca. (2021). Molecular analyses of flightless weevils *Chiloneus* from Sicily and adjoining islands revealed new synonymy (Coleoptera: Curculionidae). *The European Zoological Journal*, 88(1), 948-958. <https://doi.org/10.1080/24750263.2021.1960443>
- Adhikari, P., Lee, Y. H., Adhikari, P., Hong, S. H., & Park, Y-S. (2022). Climate change-induced invasion risk of ecosystem disturbing alien plant species: An evaluation using species distribution modelling. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 1-13. <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.880987>
- Alarcón, J., Arévalo, E., Díaz, A., Galindo, J., Rivero, M., & Tovar, E. (2011). Manejo fitosanitario del cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* subsp. andigena y *S. phureja*), medidas para la temporada invernal. *Produmedios*, Bogotá D.C.5-16
- Alcázar, J. (2002). Biología del gorgojo de los Andes *Premnotrypes* spp. (Coleoptera: Curculionidae). Manual de capacitación, Fascículo 1. Centro internacional de la Papa.
- Baird, H.P., Shin, S., Oberprieler, R.G., Hullé, M., Vernon, P., Moon, K.L., Adams, R.H., Mckenna, D., & Chown, S.L. (2021). Fifty million Years of beetle evolution along the Antarctic Polar Front. *Biological sciences*, 118(24). <https://doi.org/10.1073/pnas.2017384118>
- Barboza Inga, J.F., & Tafur Tuesta, D. (2019). Propuesta de la cadena comercial de la papa para mejorar la competitividad del Distrito de Levanto- Provincia de Chachapoyas- Región Amazonas- 2017. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza. <http://repositorio.untrm.edu.pe/handle/UNTRM/1708>
- Bergamo, L.W., Silva-Brandão, K.L., Vicentini, R., Fresia, P., & Azeredo-Espin, M.L. (2020). Genetic Differentiation of a New World Screwworm Fly Population from Uruguay Detected by SNPs, Mitochondrial DNA and Microsatellites in two Consecutive Years. *Insects*, 11(8), 539. <https://doi.org/10.3390/insects11080539>
- Bessette, M., Ste-Croix, D.T., Brodeur, J., Mimee, B., & Gagnon, A. (2022). Population Genetic structure of the carrot weevil (*Listronotus oregonensis*) in North America.

- Evolutionary Applications*, 15(2), 300-315. <https://doi.org/10.1111%2Feva.13343>
- Bush, M.B., Silman, M.R., & Urrego, D.H. (2004). 48,000 Years of Climate and Forest Change in a Biodiversity Hot Spot. *Science*, 303, 827. <https://doi.org/10.1126/science.1090795>
- Bustamante, D. E., Won, B.Y., Lindstrom, S.C., & Cho, T. O. (2019). The new genus *Symphyocладиella* gen. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) based on *S. bartlingiana* comb. nov. from the Pacific Ocean. *Phycologia*, 58(1), 9–17. <https://doi.org/10.1080/00318884.2018.1517240>
- Bragard, C., Schmutz, K., Di, F., Gonthier, P., Jacques, M., Miret, J., Justesen, A., Magnusson, C., Milonas, P., Navas-Cortes, J., Parnell, S., Potting, R., Reignault, P., Thulke, H., Werf, W., Vicent, A., Yuen, J., Zappalà, L., Czwienecze, E., Streissl, F., & MacLeod, A. (2020). Pest categorization of the Andean Potato Weevil (APW) complex (Coleoptera: Curculionidae). *EFSA Journal*, 18(7):6176. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6176>
- Cao, L. J., Gao, Y. F., Gong, Y. J., Chen, J. C., Chen, M., Hoffmann, A., & Wei, S. J. (2019). Population analysis reveals genetic structure of an invasive agricultural thrips pest related to invasion of greenhouses and suitable climatic space. *Evolutionary Applications*, 12(10), 1868–1880. <https://doi.org/10.1111/eva.12847>
- Carapelli, A., Leo, C., & Frati, F. (2017). High levels of genetic structuring in the Antarctic springtail *Cryptopygus terranovus*. *Antarctic Science*, 311-323. <https://doi.org/10.1017/S0954102016000730>
- Caselli, A., & Petacchi, R. (2021). Climate Change and Major Pests of Mediterranean Olive Orchards: Are We Ready to Face the Global Heating?. *Insects*, 12,802. <https://doi.org/10.3390/insects12090802>
- Conord, C., Lempérière, G., & Després, L. (2006). Genetic structure of the forest pest *Hylobius abietis* on conifer plantations at different spatial scales in Europe. *Heredity*, 97, 46-55. <https://www.nature.com/articles/6800837>
- Coronado, C., Caehuapoma, P., Alcázar, J., Sporleder, M., & Kroschel, J. (2019). Distribución regional y abundancia del Gorgojo de los Andes (*Premnotrypes suturicallus* Kuschel) mediante un modelo fenológico y geográfico bajo escenarios de cambio climático. *Atmospheric Sciences*. 1(15).

<https://www.researchgate.net/publication/337769319>

- Couet, J., Marjakangas, E., Santangeli, A., Kålås, A., Lindström, Å., & Lehikoinen, A. (2022). Short-lived species move uphill faster under climate change. *Oecologia*, *198*, 877-888. <https://doi.org/10.1007/s00442-021-05094-4>
- Chaisiri, C., Liu, X., Lin, Y., Fu, Y., Zhu, F., & Luo, C. (2021). Phylogenetic and haplotype network analyses of diaporphes species in china based on sequences of multiple loci. *Biology*, *10*(3), 1–21. <https://doi.org/10.3390/biology10030179>
- Chávez-Medina, J., García-Negroe, C., Soto-López, F., Góngora-Gómez, A., Flores-Zamora, G., Gómez-Peraza, R., & Martínez-Carrillo, L. (2016). Estandarización de la técnica de extracción del DNA de *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) colectados en maíz en Guasave, Sinaloa. *Entomología Mexicana*, *3*, 781–785. [http://www.socmexent.org/entomologia/revista/2016/FTBM/Em 781-785.pdf](http://www.socmexent.org/entomologia/revista/2016/FTBM/Em%20781-785.pdf)
- Czajkowska, M., Dawidowicz, Ł., Borkowska, A., Dziekańska, I., & Sielezniew, M. (2020). Population genetic structure and demography of the critically endangered chequered blue butterfly (*Scolitantides orion*) in a highly isolated part of its distribution range. *Insects*, *11*(9), 1–17. <https://doi.org/10.3390/insects11090608>
- Denlinger, D. S., Hudson, S. B., Keweshan, N. S., Gompert, Z., & Bernhardt, S. A. (2021). Standing genetic variation in laboratory populations of insecticide-susceptible *Phlebotomus papatasi* and *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) for the evolution of resistance. *Evolutionary Applications*, *14*, 1248-1262. <https://doi.org/10.1111/eva.13194>
- Donga, T. K., & Meadow, R. (2018). Determination of genetic diversity in *chilo partellus*, *busseola fusca*, and *spodoptera frugiperda* infesting sugarcane in southern Malawi using DNA barcodes. *Insects*, *9*(3). <https://doi.org/10.3390/insects9030074>
- Elameen, A., Klütsch, C.F., Fløystad, I., Knudsen, G.K., Tasin, M., Hagen, S.B., & Eiken, H.G. (2020). Large-scale Genetic admixture suggests high dispersal in an Insect pest, the apple fruit moth. *PLOS ONE*, *15* (18). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236509>
- Fernández, D.C., VanLaerhoven, S.L., Rodríguez-Leyva, E., Zhang, Y.M., & Labbé, R. (2022). Population Structure and Genetic Diversity of the *Pepper Weevil* (Coleoptera: Curculionidae) Using the COI Barcoding Region. *Journal of Insect*

*Science*, 25, 1-10. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieac012>

- Fick, S. E., & Hijmans, R. J. (2017). WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 37(12), 4302–4315. <https://doi:10.1002/joc.5086>
- Finch, D. M., Butler, J. L., Runyon, J. B., Fetting, C. J., Kilkenny, F. F., Shibu, J., Frankel, S. J., Cushman, S. A., Cobb, R. C., Dukes, J. S., Hicke, J. A., & Amelon, S. A. (2021). Effects of Climate Change on Invasive Species. *Biomedical and life Sciences*.57-85. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-45367-1\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-030-45367-1_4)
- Garipey, T. D., Musolin, D. L., Konjević, A., Karpun, N. N., Zakharchenko, V. Y., Zhuravleva, E. N., Tavella, L., Bruin, A., & Haye, T. (2021). Diversity and distribution of cytochrome oxidase I (COI) haplotypes of the brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* Stål (Hemiptera, Pentatomidae), along the eastern front of its invasive range in Eurasia. *NeoBiota*, 68, 53–77. <https://doi.org/10.3897/neobiota.68.68915>
- Giardina, E. (2013). Brenner’s Encyclopedia of Genetics (Second Edition): DNA Fingerprinting. *Biomedical Sciences*, 356-359. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.00419-8>
- Girad, E. B., Langerak, A., Jompa, J., Wangensteen, O. S., Macher, J. N., & Renema, W. (2022). Mitochondrial Cytochrome Oxidase Subunit 1: A Promising Molecular Marker for Species Identification in Foraminifera. *Frontiers in Marine Science*, 1-14. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.809659>
- Goncalves, E., Herrera, I., Alexander, J., Duarte, M., Cavieres, L.A., Morales-Salinas, L., & Bustamante, R.O. (2022). The Upper Range Limit of Alien Plants Is Not in Equilibrium with Climate in the Andes of Central Chile. *Plants*, 11(2345), 1-13. <https://doi.org/10.3390/plants11182345>
- Gonzales, M. (2021). El gorgojo de los Andes y el Clima. Centro Internacional de la papa. 1-7. <https://gestionparticipativa.pe.iica.int/getattachment/0b46c5ab-ad3e-491a-b4d4-e7994775accf/Texto-de-Debate-5-3-El-Gorgojo-de-Los-Andes-y-el-C.aspx>
- Göldel, B., Lemic, D., & Bažok, R. (2020). Alternatives to synthetic insecticides in the control of the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* say) and their environmental benefits. *Agriculture (Switzerland)*, 10(12), 1–27.

<https://doi.org/10.3390/agriculture10120611>

- Guernaoui, S., Hamarsheh, O., Garcia, D., Fontenille, D., & Sereno, D. (2020). Population genetics of phlebotomus papatasi from endemic and nonendemic areas for zoonotic cutaneous leishmaniasis in morocco, as revealed by cytochrome oxidase gene subunit I sequencing. *Microorganisms*, 8(7), 1–12. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071010>
- Guo, L., Gao, F., Cheng, Y., Gao, C., Chen, J., Li, Z., Wang, T., & Xu, J. (2020). Mitochondrial COI Sequence Variations within and among Geographic Samples of the Hemp Pest *Psylliodes attenuata* from China. *Insects*, 11(6), 370. <https://doi.org/10.3390/insects11060370>
- Hateffard, F., Mohammed, S., Alsafadi, K., Enaruvbe, G. O., Heidari, A., Abdo, H. G., & Rodrigo-Comino, J. (2021). CMIP5 climate projections and RUSLE-based soil erosion assessment in the central part of Iran. *Scientific Reports*, 11–7273. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86618-z>
- Hernandez, S. H.; & Benjumea, S. C. (2011). Haplotype identification within *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) Corn and Rice Strains from Colombia. *Neotropical Entomology*, 40(4), 421–430. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2011000400002>
- Ilinsky, Y., Demenkova, M., Bykov., & Bugrov, A. (2022). Narrow Genetic Diversity of Wolbachia Symbionts in Acrididae Grasshopper Hosts (Insecta, Orthoptera). *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 853. <https://doi.org/10.3390/ijms23020853>
- Janes, J.K., & Batista, P.D. (2016). Chapter Two - The Role of Population Genetic Structure in Understanding and Managing Pine Beetles. *Advances in Insect Physiology*, 75-100. <https://doi.org/10.1016/bs.aiip.2016.01.001> 75-100
- Javal, M., Terblanche, J. S., Conlong, D. E., Delahaye, N., Grobbelaar, E., Benoit, L., Lopez-Vaamonde, C., & Haran, J. M. (2021). DNA barcoding for bio-surveillance of emerging pests and species identification in Afrotropical Prioninae (Coleoptera, Cerambycidae). *Biodiversity Data Journal*, 9, 1–16. <https://doi.org/10.3897/BDJ.9.e64499>
- Kim, H., Kim, S., Kim, S., Lee, Y., Lee, H., Lee, S., Choi, D., Jeon, J., & Lee, J. (2021).



- Population Genetics for Inferring Introduction Sources of the Oriental Fruit Fly , *Bactrocera dorsalis*: A Test for Quarantine Use in Korea. *Insects*, 1–23. <https://doi.org/10.3390/insects12100851>
- Kühne, M. (2007). The Andean potato weevil *Premnotrypes suturicallus*-Ecology and interactions with the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. 178. <http://ediss.uni-goettingen.de/handle/11858/00-1735-0000-000D-F23B-A?locale-attribute=de>
- Kroschel, J., Mujica, N., Okonya, J., & Alyokhin, A. (2020). Insect pests affecting potatoes in tropical, subtropical, and temperate regions. In *The Potato Crop: Its Agricultural, Nutritional and Social Contribution to Humankind*, 4(12). [https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5_8)
- Lacourse, T., & Adeleye, M. A. (2022). Climate and Species Traits Drive Changes in Holocene Forest Composition Along an Elevation Gradient in Pacific Canada. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 1-14. <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.838545>
- Lanfear, R., Frandsen, P.B., Wright, A. M., Senfeld, T., & Calcott, B. (2016). PartitionFinder 2: New Methods for Selecting Partitioned Models of Evolution for Molecular and Morphological Phylogenetic Analyses. *Mol Biol Evol.* Mar 1;34(3):772-773. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw260>. PMID: 28013191.
- Leigh, J.W., & Bryant, D. (2015). POPART: Full-featured software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6, 1110-1116. <http://datadryad.org/resource/doi:10.5061/dryad.4n4j1>
- Li, X., Wu, S., Xu, Y., Liu, Y., & Wan, J. (2022). Population Genetic Structure of *Chlorops oryzae* (Diptera, Chloropidae) in China. *Insect*, 13, 327. <https://doi.org/10.3390/insects13040327>
- Loayza, A. (2021). Patrones de distribución del Gorgojo de los Andes (*Premnotrypes Spp.*, Coleoptera, Curculionidae, Entiminae) en la Región Andina del Cusco. (Tesis de pregrado). 112. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/5890>
- López-Martínez, H., Romero-Mélendez, U., Lazcano, D., Gadsden, H., Ávila-Rodríguez, V., & García de la Peña, C. (2020). Population genetic structure of the sand lizard, *Uma exsul* Schmidt and Bogert, 1974, in the Chihuahuan desert.

- Biotecnia*, 22(1), 102-108. <http://dx.doi.org/10.18633/biotecnia.v22i1.1156>
- Lozada, G. S. (2013). Género, recursos naturales y percepciones ambientales de las comunidades de San Isidro del Maino y Levanto, propietarias del ACP Tilacancha. *Apeco*, 1-60. [https://pdf.usaid.gov/pdf\\_docs/PA00KXKN.pdf](https://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PA00KXKN.pdf)
- Mahalle, R.M., Chakravarty, S., & Srivastava. C.P. (2022). Population Genetic Differentiation and Structure of *Muraca vitrata* (Lepidoptera: Crambidae) in India. *Diversity*, 14, 546. <https://doi.org/10.3390/d14070546>
- Malhi, G. S., Kaur, M., & Kaushik, P. (2021). Impact of Climate Change on Agriculture and Its Mitigation Strategies : A Review. *Sustainability*, 1–21. <https://doi.org/10.3390/su13031318>
- Manani, D. M., Ateka, E. M., Nyanjom, S. R. G., & Boykin, L. M. (2017). Phylogenetic Relationships among Whiteflies in the Bemisia tabaci ( Gennadius ) Species Complex from Major Cassava Growing Areas in Kenya. *Insects*, 1–14. <https://doi.org/10.3390/insects8010025>
- Márquez, J. (2005). Técnicas de colecta y preservación de insectos. *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*, 37, 385–408.
- Mayoke, A., Muya, S.M., Bateta, R., Mireji, P.O., Okoth, S.O., Onyoyo, S.G., Auma, J.E., & Ouma, J.O. (2020). Genetic diversity and phylogenetic relationships of tsetse flies of the palpalis group in Congo Brazzaville based on mitochondrial cox1 gene sequences. *Parasites Vectors*, 13, 253. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04120-3>
- Medrano, L. E., M'Rabet, S. M., Chablé-Iuit, L. R., Pozo, C., Hénaut, Y., & Legal, L. (2018). Effect of Climatic Conditions and Land Cover on Genetic Structure and Diversity of Eunica tatila (Lepidoptera) in the Yucatan Peninsula, Mexico. *Diversity*, 10(3), 79. <https://doi.org/10.3390/d10030079>
- Mendieta, D., Vásquez, V., Jaén, L., Pineda, V., Saldaña, A., Calzada, J.E., Samudio, F. (2023). Insights into the Genetic Diversity of Leishmania (Viannia) panamensis in Panama, Inferred via Multilocus Sequence Typing (MLST). *Pathogens*, 12, 747. <https://doi.org/10.3390/pathogens12050747>
- Meng-qi, W., Hong-rui, Z., Yu-qiang, X., Gao-ping, W., Man, Z., Li-juan, Z., & Xian-ru, G. (2023). Population genetic variation and historical dynamics of the natural enemy

- insect *Propylea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae) in China. *Journal of Integrative Agriculture*, 2456-2469. <https://doi.org/10.1016/j.jia.2022.08.025>
- Olano Camán, Y.M. (2022). Análisis de la estructura genética en poblaciones de truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de la región Amazonas. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza-UNTRM.
- Pathirage, D. R. K., Weeraratne, T. C., Senanayake, S. C., Parakrama Karunaratne, S. H. P., & Karunaweera, N. D. (2021). Genetic diversity and population structure of *Phlebotomus argentipes*: Vector of *Leishmania donovani* in Sri Lanka. *PLoS ONE*, 16(9), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256819>
- Pavičić, M., Žužul, I., Matić-Skoko, S., Triantafyllidis, A., Grati, F., Durieux, E.H., Celić, I., & Šegvić-Bubić, T. (2020). Population Genetic Structure and Connectivity of the European Lobster *Homarus gammarus* in the Adriatic and Mediterranean Seas. *Evolutionary and Population Genetics*, 11(1). <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.576023>
- Philpott, S. (2013). Biodiversity and Pest Control Services. *Encyclopedia of Biodiversity*, 373-385. [https://people.ucsc.edu/~sphilpot/Philpott\\_Lab/Publications\\_files/Philpott\\_2013\\_Encyclopedia\\_344.pdf](https://people.ucsc.edu/~sphilpot/Philpott_Lab/Publications_files/Philpott_2013_Encyclopedia_344.pdf)
- Poland, T. M., Patel-Weynand, T., Finch, D. M., Miniati, C. F., Hayes, D. C., Lopez, V. M. (2021). Invasive Species in Forests and Rangelands of the United States. A Comprehensive Science Synthesis for the United States Forest Sector. *Springer, Cham*, 1-484. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-45367-1>
- Polato, N. R., Gray, M. M., Gill, B. A., Becker, C. G., Casner, K. L., Flecker, A. S., Kondratieff, B. C., Encalada, A. C., Poff, N. L., Funk, W. C., & Zamudio, K. R. (2017). Genetic diversity and gene flow decline with elevation in montane mayflies. *Heredity*, 119, 107-116. <https://www.nature.com/articles/hdy201723#Sec16>
- Ponce, P., Muñoz-Tobar, S., Carrasco-Montalvo, A., Villota, S. D., Coloma, J., Wang, C., Holechek, S., & Cevallos, V. (2021). Two haplotypes of *aedes aegypti* detected by nd4 mitochondrial marker in three regions of Ecuador. *Insects*, 12(3), 1–14. <https://doi.org/10.3390/insects12030200>
- Pérez-Álvarez, R., Argüelles-Cárdenas, J., & Garramuño, E.A. (2010). Distribución

- espacial de *Premnotrypes vorax* (Hustache)(Coleoptera: Curculionidae) en cultivos de papa. *Ciencia y tecnología agropecuaria*, 11(1), 11-20. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol11\\_num1\\_art:190](https://doi.org/10.21930/rcta.vol11_num1_art:190)
- Postic, E., Outreman, Y., Derocles, S., Granado, C., & Le Ralec, A. (2021). Genetics of wild and mass-reared populations of a generalist aphid parasitoid and improvement of biological control. *PLoS ONE*, 16(4), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249893>
- Ramírez, J. (2010). Uso actual de la tierra, informe temático. Proyecto Zonificación Ecológica y Económica del departamento de Amazonas, convenio entre el IIAP y el Gobierno Regional de Amazonas. Iquitos - Perú
- Ramírez, H. (2013). Inventario y tipología de chacras de las comunidades campesinas de Levanto y San Isidro del Maino, Chachapoyas, Amazonas-Perú. *Apeco*, 1-41. [https://pdf.usaid.gov/pdf\\_docs/PA00KXS1.pdf](https://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PA00KXS1.pdf)
- Rojas Briceño, N. B., Barboza Castillo, E., Maicelo Quintana, J. L., Oliva Cruz, S. M., & Salas López, R. (2019). Deforestación en la Amazonía peruana: índices de cambios de cobertura y uso del suelo basado en SIG. *Boletín de La Asociación de Geógrafos Españoles*, 81, 1–34. <https://doi.org/10.21138/bage.2538><sup>a</sup>
- Rios, A. A., & Kroschel, J. (2011). Evaluation and implications of Andean potato weevil infestation sources for its management in the Andean region. *Journal of Applied Entomology*, 738–748. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2011.01631.x>
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., & Huelsenbeck, J. P. (2012). Mrbayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61(3), 539–542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
- Sañudo, I., Perin, C., Cavaletto, G., Ortis, G., Fontana, P., & Mazzon, L. (2021). Studying genetic population structure to shed light on the demographic explosion of the rare species *Barbitistes vicetinus* (Orthoptera, Tettigoniidae). *PLoS ONE*, 16(5), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250507>
- Skendžić, S., Zovko, M., Živković, I. P., Lešić, V., & Lemić, D. (2021). The impact of climate change on agricultural insect pests. *Insects*, 12,440. <https://doi.org/10.3390/insects12050440>

- Tamura, S., & Shoda-Kagaya, E. (2022). Genetic Differences among Established Populations of *Aromia bungii* (Faldermann, 1835) (Coleoptera: Cerambycidae) in Japan: Suggestion of Multiple Introductions. *Insects*, 13(2), 217. <https://doi.org/10.3390/insects13020217>
- Tineo, D. (2019). Actividad biológica de hongos entomopatógenos sobre gorgojo de los Andes (Coleoptera: Curculionidae) bajo condiciones de laboratorio, Chachapoyas, Amazonas. (Tesis de pregrado). 67.Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza. <http://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/UNTRM/1696/Tineo Flores Daniel.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Tineo, D., Bustamante, D. E., Calderon, M. S., Mendoza, J. E., Huaman, E., & Oliva, M. (2020). An integrative approach reveals five new species of highland papayas (Caricaceae, *Vasconcellea*) from northern Peru. *PLoS ONE*, 15(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242469>
- Tiroesele, B., Skoda, S.R., Hunt, T.E., Lee, D.J., Molina-Ochoa, J., & Foster, J.E. (2014). Population structure, genetic variability, and gene flow of the bean leaf beetle, *Cerotoma trifurcata*, in the Midwestern United States. *Journal of Insect Science*, 14, 62. <https://doi.org/10.1093%2Fjiss%2F14.1.62>
- Trigoso, I. D., Salas, L. R., Rojas, B. N., Silva, L. J., Gómez, F.D., Oliva, M., Quiñones, H. L., Terrones, M. R., Castillo, B. E., & Barrena, G. M. (2020). Land Suitability Analysis for Potato Crop in the Jucusbamba and Tincas Microwatersheds (Amazonas, NW Peru): AHP and RS–GIS Approach. *Agronomy*, 10, 1898. <https://doi.org/10.3390/agronomy10121898>
- Veneros, J., García, L., Morales, E., Gómez, V., Torres, M., & López-Morales, F. (2020). Application of remote sensors for the analysis of vegetation cover and water bodies. *Idesia*, 38(4), 99-107. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292020000400099>
- Villami C, Jorge Enrique & Martínez O, John Wilson (2015). Evaluación de aislamientos nativos de *Beauveria* spp., sobre *Tecia Solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) in vitro. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 31(1), 92-105. <https://revistas.udenar.edu.co/index.php/rfacia/article/download/1940/2327>
- Walker, K., & Frederick, R. (2019). Entomological Risks of Genetically Engineered Crops. *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*, 306–314.

<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-409548-9.11677-x>

- Wang, Y. Z., Li, B. Y., Hoffmann, A. A., Cao, L. J., Gong, Y. J., Song, W., Zhu, J. Y., & Wei, S. J. (2017). Patterns of genetic variation among geographic and host-plant associated populations of the peach fruit moth *Carposina sasakii* (Lepidoptera: Carposinidae). *BMC Evolutionary Biology*, 17:256. <https://doi.org/10.1186/s12862-017-1116-7>
- Xu, You., Zhang, H. W., Wang, M., & Li, G. (2019). Mitochondrial gene sequence (COI) reveals the genetic structure and demographic history of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Erebidae: Lymantriinae) in and around China. *Insects*, 10(146), 1–22. <https://doi.org/10.3390/insects10050146>
- Zhan, H. X., Hao, Z. P., Tang, R., Zhu, L. N., Zhou, J. J., & Hou, S. M. (2021). High genetic diversity and strong genetic structure of *Strongyloides variegatus* populations in oilseed rape production areas of China. *BMC Ecology and Evolution*, 21(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s12862-021-01752-6>
- Zhang, L., Zhao, W., Wang, F., & Qin, D. (2019). Genetic diversity and population structure of natural *Lycorma delicatula* (white) (hemiptera: Fulgoroidea) populations in China as revealed by microsatellite and mitochondrial markers. *Insects*, 10(10), 1–13. <https://doi.org/10.3390/insects10100312>
- Zhou, A., Tian, P., Li, Z., Li, W., Tan, X., Zhang, Z., Qiu, L., He, H., Ding, W., & Li, Y. (2020). Genetic diversity and differentiation of populations of *Chlorops oryzae* (Diptera, Chloropidae). *BMC Ecology*, 20, 22. <https://doi.org/10.1186/s12898-020-00293-8>
- Zytynska, S. E., & Meyer, S.T. (2019). Effects of biodiversity in agricultural landscapes on the protective microbiome of insects – a review. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 167: 2 (13). <https://doi.org/10.1111/eea.12751>

## VIII. ANEXOS

**Tabla A1.** Taxonomía del gorgojo de los andes

Order and family	Tribe and Subfamily	Genus and species	Author		
Coleoptera: Curculionidae	Premnotrypini: Entiminae	<i>Premnotrypes solaniperda</i>	Kuschel (1956)		
		<i>P. latithorax</i>	(Pierce) (1914)		
		<i>P. sanfordi</i>	(Pierce) (1918)		
		<i>P. pusillus</i>	Kuschel (1956)		
		<i>P. piercei</i>	Alcalá (1979)		
		<i>P. suturicallus</i>	Kuschel (1956)		
		<i>P. fractirostris</i>	Marshall (1936)		
		<i>P. solani</i>	Pierce (1914)		
		<i>P. vorax</i>	(Hustache) (1933)		
		<i>P. solanivorax</i>	(Heller) (1935)		
		<i>P. clivosus</i>	Kuschel (1956)		
		<i>P. zischkai</i>	Kuschel (1956)		
			Rhytirrhinini: Rhytirrhinae	<i>Rhigopsidius tucumanus</i>	Heller (1906)
				<i>R. piercei</i>	Heller (1936)
	Cryptorrhynchini: Chryptorrhynchinae	<i>Phyrdenus muriceus</i>	(Germar) (1824)		

**Fuente.** Kühne, 2007

**Tabla A2.** Información de la distribución de haplotipos por cada muestra colectada del gorgojo de los Andes.

Zona de colección	Provincia	Código	Haplotipos	Altitud (msnm)	Coordenadas	
					latitud	longitud
Leymebamba	Chachapoyas	G1L	H1	2322	-6.708491667	-77.79972222
Leymebamba	Chachapoyas	G2L	H5	2322	-6.708491667	-77.79972222
Leymebamba	Chachapoyas	G3L	H2	2321.8	-6.708494444	-77.79944444
Leymebamba	Chachapoyas	G4L	H15	2322	-6.708497222	-77.79973056
Leymebamba	Chachapoyas	G5L	H5	2322.6	-6.708508333	-77.79973611
Leymebamba	Chachapoyas	G6L	H2	2213	-6.710336111	-77.80313056
Leymebamba	Chachapoyas	G7L	H2	2214	-6.710377778	-77.80312778
Leymebamba	Chachapoyas	G8L	H2	2310	-6.710311111	-77.80648611
Leymebamba	Chachapoyas	G9L	H2	2291	-6.710322222	-77.80647778
Leymebamba	Chachapoyas	G10L	H2	2297	-6.710455556	-77.80611944
Leymebamba	Chachapoyas	G11L	H16	2296	-6.710422222	-77.80609722
Leymebamba	Chachapoyas	G12L	H2	2301	-6.7104	-77.80624722
Leymebamba	Chachapoyas	G13L	H1	2303	-6.710436111	-77.80628333
Leymebamba	Chachapoyas	G14L	H2	2304	-6.710425	-77.80628611
Leymebamba	Chachapoyas	G15L	H2	2296	-6.710219444	-77.80618333
Leymebamba	Chachapoyas	G16L	H2	2294	-6.710216667	-77.80615278
Luya	Luya	V01	H1	2340	-6.155019444	-77.94190833
Luya	Luya	V02	H2	2340	-6.155088889	-77.941925

Luya	Luya	V03	H2	2339	-6.155147222	-77.94206667
Luya	Luya	V04	H2	2340	-6.155397222	-77.94193056
Luya	Luya	V05	H2	2294	-6.163438889	-77.93554722
Luya	Luya	V06	H1	2293	-6.163441667	-77.93546944
Luya	Luya	V07	H3	2293	-6.163519444	-77.93554722
Luya	Luya	V08	H1	2322	-6.169858333	-77.94231389
Luya	Luya	V09	H2	2321	-6.169775	-77.94228056
Luya	Luya	V10	H2	2324	-6.169780556	-77.94216667
Lámud	Luya	L01	H2	2459	-6.126191667	-77.96012778
Lámud	Luya	L02	H2	2460	-6.126144444	-77.96011944
Lámud	Luya	L03	H4	2459	-6.126211111	-77.96010833
Lámud	Luya	L05	H5	2458	-6.126277778	-77.96017222
Lámud	Luya	L06	H2	2399	-6.133616667	-77.95793056
Lámud	Luya	L07	H6	2400	-6.133641667	-77.95795278
Lámud	Luya	L08	H2	2390	-6.133769444	-77.95745833
Lámud	Luya	L09	H2	2390	-6.133705556	-77.95744167
Lámud	Luya	L10	H5	2389	-6.133786111	-77.95738611
Levanto	Chachapoyas	E01	H16	2465.4	-6.305583333	-77.87747222
Levanto	Chachapoyas	E02	H2	2872	-6.305555556	-77.8775
Levanto	Chachapoyas	E03	H5	2873.2	-6.305527778	-77.87744444
Levanto	Chachapoyas	E04	H1	2877	-6.305694444	-77.87763889
Levanto	Chachapoyas	E05	H7	2880.6	-6.305888889	-77.87758333
Levanto	Chachapoyas	E06	H8	2746	-6.303577778	-77.89621389
Levanto	Chachapoyas	E07	H1	2747	-6.303541667	-77.89619444
Levanto	Chachapoyas	E08	H5	2646.3	-6.303577778	-77.89621389
Levanto	Chachapoyas	E09	H1	2629	-6.310330556	-77.89298611
Levanto	Chachapoyas	E10	H2	2626	-6.310466667	-77.89309167
S.I. Maino	Chachapoyas	G01	H2	2800.7	-6.320833333	-77.86230556
S.I. Maino	Chachapoyas	G03	H2	2800.7	-6.320833333	-77.86230556
S.I. Maino	Chachapoyas	G04	H2	2836	-6.317063889	-77.85284167
S.I. Maino	Chachapoyas	G05	H11	2837	-6.317033333	-77.852825
S.I. Maino	Chachapoyas	G06	H12	2835	-6.317080556	-77.85285278
S.I. Maino	Chachapoyas	G07	H1	2835	-6.317075	-77.85281667
S.I. Maino	Chachapoyas	G08	H5	2836	-6.317055556	-77.85281111
S.I. Maino	Chachapoyas	G09	H1	2839	-6.317013889	-77.85277778
S.I. Maino	Chachapoyas	G10	H8	2834	-6.3171	-77.85276944
S.I. Maino	Chachapoyas	G14	H2	2877	-6.328072222	-77.88293611
S.I. Maino	Chachapoyas	G15	H2	2578	-6.332927778	-77.87481111
S.I. Maino	Chachapoyas	G16	H13	2471	-6.332877778	-77.875025
S.I. Maino	Chachapoyas	G17	H7	2578	-6.332783333	-77.874725
S.I. Maino	Chachapoyas	G18	H14	2588	-6.333130556	-77.87453889
S.I. Maino	Chachapoyas	G19	H13	2449	-6.326611111	-77.86915278
Jalca Grande	Chachapoyas	J01	H2	3075	-6.49175	-77.79805556
Jalca Grande	Chachapoyas	J03	H2	3085.8	-6.49225	-77.79755556
Jalca Grande	Chachapoyas	J04	H2	3076.5	-6.491944444	-77.79686111
Jalca Grande	Chachapoyas	J05	H7	3076.6	-6.493083333	-77.79930556
Jalca Grande	Chachapoyas	J06	H2	3033	-6.490888889	-77.79725
Jalca Grande	Chachapoyas	J07	H8	3097.5	-6.491305556	-77.79636111
Jalca Grande	Chachapoyas	J08	H7	3096.5	-6.491305556	-77.79636111
Jalca Grande	Chachapoyas	J10	H7	3085.8	-6.49225	-77.79755556
Jalca Grande	Chachapoyas	J11	H9	2524	-6.475022222	-77.81718611
Jalca Grande	Chachapoyas	J12	H3	2500	-6.475005556	-77.81718889
Jalca Grande	Chachapoyas	J14	H2	2673	-6.476347222	-77.81571944



Jalca Grande	Chachapoyas	J15	H2	2680	-6.476411111	-77.81565
Jalca Grande	Chachapoyas	J16	H1	2690	-6.476536111	-77.81564444
Jalca Grande	Chachapoyas	J17	H2	2851	-6.480747222	-77.81209444
Jalca Grande	Chachapoyas	J18	H2	2853	-6.480677778	-77.81208611
Jalca Grande	Chachapoyas	J19	H8	2702	-6.487433333	-77.82954167
Jalca Grande	Chachapoyas	J20	H10	2700	-6.48745	-77.82959444
Jalca Grande	Chachapoyas	GAM2	H17	2805	-6.482553	-77.811077
Jalca Grande	Chachapoyas	GAM3	H18	2808	-6.483577	-77.811184
Jalca Grande	Chachapoyas	GAM4	H18	2863	-6.480505	-77.807903
Jalca Grande	Chachapoyas	GAM5	H18	2853	-6.48081	-77.808718
Jalca Grande	Chachapoyas	GAM6	H18	2876	-6.488397	-77.8079
Péngote	Chachapoyas	GAM7	H18	2944	-6.548221	-77.788467
Péngote	Chachapoyas	GAM8	H18	2714	-6.54618	-77.805302
Péngote	Chachapoyas	GAM9	H19	2522	-6.54524	-77.81128
Péngote	Chachapoyas	GAM10	H18	2833	-6.545134	-77.811339