



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

## POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

BIOLOGÍA EVOLUTIVA

Genética de poblaciones y Filogeografía de *Cactoblastis cactorum*

## TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**GUADALUPE ANDRACA GÓMEZ**

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JUAN ENRIQUE FORNONI AGNELLI  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRIGUEZ  
IIES, UNAM  
DR. DANIEL PIÑERO DALMAU  
INSTITUTO DE ECOLOGIA, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, MARZO 2017



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Lic. Ivonne Ramirez Wence  
Directora General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas, en su sesión ordinaria del día 31 de octubre de 2016, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de DOCTORA EN CIENCIAS de la alumna ANDRACA GÓMEZ GUADALUPE con número de cuenta 97543222 con la tesis titulada: "GENÉTICA DE POBLACIONES Y FILOGEOGRAFÍA DE *Cactoblastis cactorum*.", realizada bajo la dirección del DR. JUAN ENRIQUE FORNONI AGNELLI

Presidente: DRA. EK DEL VAL DE GORTARI  
Vocal: DRA. ANA LAURA WEGIER BRIUOLO  
Secretario: DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU  
Suplente: DR. JUAN PABLO JARAMILLO CORREA  
Suplente: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 01 de marzo de 2017

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA  
COORDINADORA DEL PROGRAMA



## **Agradecimientos**

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México y al Posgrado en Ciencias Biológicas por brindarme todas las herramientas necesarias para mi formación personal y académica.

Este trabajo fue posible gracias al apoyo de la beca de doctorado y beca mixta para la realización de una estancia de investigación, otorgadas por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. La investigación fue financiada por el proyecto CONABIO JE002.

Quiero agradecer a mi tutor el Dr. Juan Fornoni la confianza para la realización de este trabajo. Gracias por el entusiasmo, el tiempo y la paciencia que siempre mostraste para que este proyecto pudiera realizarse con éxito.

Agradezco a los miembros de mi comité tutor, Dr. Antonio González y Dr. Daniel Piñero por su tiempo, disposición y consejos para la realización de este trabajo y la revisión del documento final.

## **Agradecimientos personales**

La realización de este trabajo involucró la ayuda de muchas personas tanto para las colectas de campo como en el procesamiento de datos. En las colectas en el Caribe, agradezco la ayuda de Karina, César, Juan, Rubén Pérez y Sofía. La ayuda de Mariano Ordano fue fundamental en las colectas en Argentina, haciendo de esos dos meses de búsqueda de plantas, larvas y puestas todo un éxito, gracias no solo por brindarme tu ayuda sino también por abrirme las puertas de tu casa y laboratorio para poder criar las larvas. A Paula Zamudio por ayudarme y enseñarme a criar a las larvas. A Laura y Lahuen, fue un privilegio compartir con ustedes, este viaje.

Agradezco al apoyo técnico prestado por Rubén Pérez Ishiwara, Rosalinda Tapia López, Tania Garrido Garduño y Fabiola Ramírez. A David Flores Dominguez por el apoyo en la elaboración de mapas. A Valeria Alavez por compartir conmigo tips para realizar los análisis de nicho y en especial tu pasión por la danza.

Al Dr. Eric Lombaert por su ayuda en los análisis bayesianos, fundamentales en el capítulo dos de esta tesis, realizados durante mi estancia en el INRA Sofia-Antibes.

A la Dra. Ana Wegier, la Dra. Ek del Val y el Dr. Juan Pablo Jaramillo, miembros del jurado, por el tiempo invertido en las revisiones. Sus correcciones y comentarios fueron muy importantes en el mejoramiento de esta tesis.

A los miembros del laboratorio de interacción planta animal, Inari, Sergio, Michelle, Paulina, Emiliano, Pale, Diego, Brenda, Paula y Fátima, por compartir más que trabajo, un lugar donde platicar e intercambiar todo tipo de experiencias. Especialmente a Xochitl, Sofía y Miguel por escucharme, leerme y alentarme aunque eso los distrajera de sus ocupaciones.

Al laboratorio de genética ecología y evolución por abrirme sus puertas cuando fue necesario, Eunice, Laura Lorena, Memo, Mariana, Marisol, Pily, Rosalinda, Vania y en

especial al Dr. Juan Núñez gracias por hacerme sentir un miembro más de ese laboratorio y seguir compartiendo tiempo para platicar de cualquier inquietud.

Gracias a Aida, Ana, Anaid, Diana, Lislíe, Silvia y Rebe, por que iniciamos compartiendo la pasión por jugar futbol y nos sigue uniendo la pasión por la vida.

A mis amigos Karla, Tona, Aurora, Miriam, por esta amistad a prueba de distancia y tiempo.

Finalmente quiero dedicar este trabajo a las personas que a pesar de todo están ahí, soportando enojos pero sobretodo compartiendo viajes y carcajadas. A mi familia, mis padres Juan y Guadalupe, mis hermanas Adriana y Martha. A Virus, José Pedro y Carlos.

## Índice

Resumen	9
Abstract	10
Introducción General	11
Capítulo 1. Una posible ruta de invasión de <i>Cactoblastis cactorum</i> en la región del Caribe coincide con las trayectorias históricas de los huracanes.	18
Capítulo 2. Análisis de rutas de invasión de <i>Cactoblastis cactorum</i> en la región del Caribe y Florida.	29
Capítulo 3. La importancia del ambiente en la estructuración de <i>Cactoblastis cactorum</i> en Argentina.	63
Discusión general.	95
Bibliografía	100

## Resumen

Las actividades humanas como el transporte, el comercio y las prácticas de control biológico han propiciado el movimiento de distintas especies más allá de sus regiones de distribución nativa. *Cactoblastis cactorum* es una polilla que se alimenta de plantas del género *Opuntia* y fue introducida para su control biológico. Sin embargo, tras su introducción en el Caribe *C. cactorum* es considerada una especie invasora, ya que sus poblaciones se han extendido hacia varias islas llegando incluso a México y los Estados Unidos. Esta expansión pone en grave riesgo a las plantas nativas de *Opuntia* que ahí se distribuyen. Dadas las grandes pérdidas económicas y ecológicas que implica que las poblaciones de *C. cactorum* se sigan expandiendo, es muy importante evaluar qué factores están promoviendo el aumento en su distribución. Para este propósito se realizaron estudios que permitieran analizar qué tan correlacionados están los factores ambientales con el flujo génico y la estructura genética de *C. cactorum* en el área nativa e introducida.

Las pruebas de hipótesis basadas en la estructura genética en la región invadida mostraron que tanto los huracanes como los factores antropogénicos, principalmente el comercio, han favorecido la dispersión de *C. cactorum*. Por otro lado, los análisis de estructura genética y modelado de nicho ecológico en la región nativa, agruparon las 24 poblaciones muestreadas en 6 grupos. La delimitación de estos grupos y una posible divergencia genética parece ser favorecida por factores ambientales como la altitud, el clima y el tipo de suelo. Los resultados muestran que los procesos evolutivos entre poblaciones nativas e introducidas cambian, en la medida que la incidencia de los huracanes en la región del Caribe y Atlántico es continua, el peligro de un reingreso de *C. cactorum* a México es altamente probable. Si tomamos en cuenta que existe un gran número de potenciales hospederos es de suma importancia realizar monitoreos para evitarlo.



## **Abstract**

Human activities such as transport, trade and biological control practices have propitiated the movement of different species beyond their native distribution regions. *Cactoblastis cactorum* is a moth that feeds on plants of the genus *Opuntia* and was introduced for its biological control. However, after its introduction into the Caribbean *C. cactorum* is considered an invasive species, since its populations have spread to several islands even reaching México and the United States. This expansion puts at risk the native *Opuntia* plants that are distributed. Given the great economic and ecological losses that imply that populations of *C. cactorum* continue to their distribution. For this purpose, studies were carried out to analyzed how correlated the environmental factors are with the gene flow and the genetic structure of *C. cactorum* in the native and introduced area.

Evidence of hypotheses based on genetic structure in the invaded region showed that both hurricanes and anthropogenic factors, mainly trade, have favored the dispersal of *C. cactorum*. On the other hand, analyzes of genetic structure an ecological niche modeling in the native region grouped the 24 populations sampled into 6 groups. The delimitation of these groups and a possible genetic divergence seems to be favored by environmental factors such as altitude, climate and soil type. This results show that the evolutionary processes between native and introduced populations change, to the extent that the incidence of hurricanes in the Caribbean and Atlantic region is continuous, the danger of a reentry of *C. cactorum* to México is highly probable. If we take into account that there are a large number of potential host, it is extremely important to carry out monitors to avoid it.

## **Introducción general.**

En los sistemas naturales y cultivados constantemente se introducen (intencional y accidentalmente) organismos no nativos cuya dispersión hubiese sido casi imposible sin la intervención del hombre. Inicialmente el comercio y posteriormente el turismo han promovido el ingreso de especies exóticas en todo el mundo (Williamson & Fitter 1996). De la capacidad de establecimiento, expansión, así como de los daños ecológicos y económicos dependerá el estatus y peligrosidad de estas especies no nativas (Figura 1) (Blackburn *et al.* 2011). Solo el 10% de las especies exóticas llegan a establecerse y el 1% se pueden considerar invasores, es decir especies que sobreviven a la introducción y expanden sus poblaciones (Figura 1). Aunque este porcentaje sugiere que la probabilidad de invasión es relativamente baja, los efectos negativos de las invasiones biológicas sobre la biodiversidad se consideran entre los más peligrosos a nivel global (Everett 2000). Los organismos invasores alteran los procesos ecológicos y evolutivos en las comunidades nativas (New 2016). Tan preocupantes son los efectos en la biodiversidad y sistemas agrícolas que se ha creado una base de datos donde expertos de todo el mundo van registrando las especies invasoras en sus zonas de estudio. Esta base la “Global invasive species database” ha registrado entre 2012 y 2016 cerca de 868 especies. Para México CONABIO ha destinado una página con información relevante sobre las especies invasoras donde incluye información importante respecto a las rutas de introducción, impactos, estrategia nacional de manejo, así como un listado de especies. En el listado proporcionado por CONABIO se en listan para México 115 especies de plantas invasoras; 183 de animales confirmadas como invasoras y cerca de 100 especies de todos los grupos que representan una amenaza para México.

Uno de los fenómenos que más ha fomentado la entrada de organismos a nuevas áreas de distribución es por un lado la producción de alimentos y por otro la práctica de control biológico para maximizar su producción. Con esta práctica se busca erradicar o controlar la presencia de plagas, de cultivos principalmente, mediante la introducción de

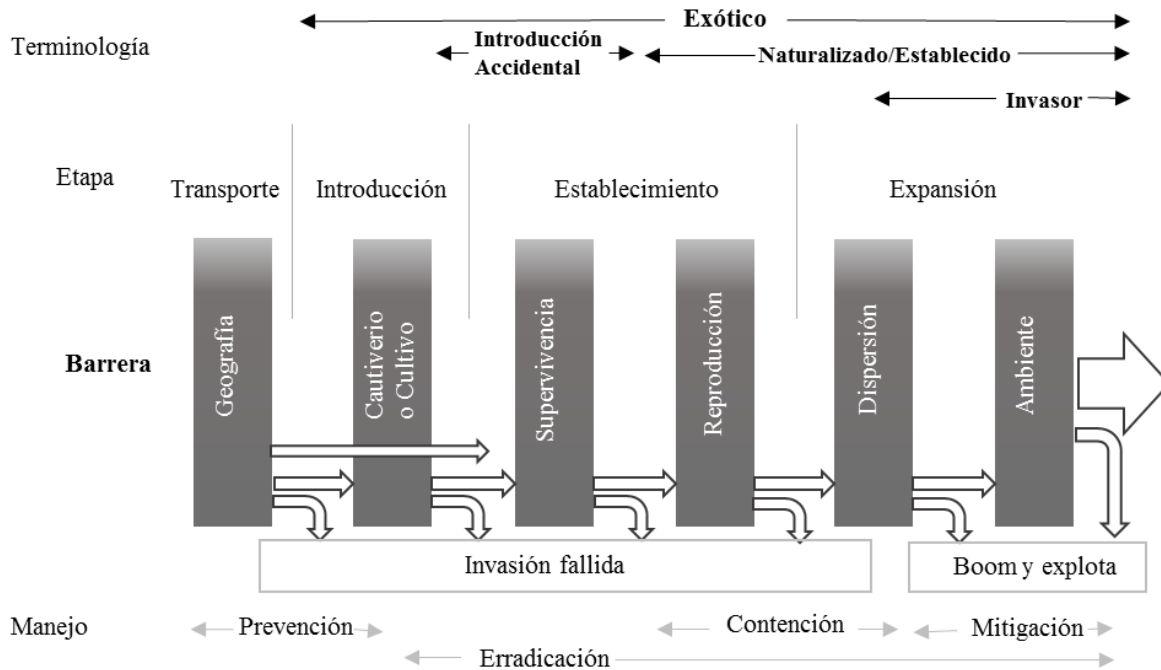
sus enemigos naturales. El control biológico es controversial, ya que en general no existen regulaciones adecuadas y los protocolos no previenen consecuencias como el establecimiento de interacciones con especies no blanco (Simberloff & Stiling 1996); además de que en la mayoría de los casos no se realiza un análisis y seguimiento post introducción, para evitar una posible expansión. Por ejemplo, más de 50 de las especies de insectos invasores registrados en Hawái fueron introducidas con fines de control biológico (Pemberton 1995; New 2016). La falta de evaluación a largo plazo de los programas de control biológico refleja la percepción generalizada durante varias décadas sobre la estabilidad evolutiva de las interacciones especializadas entre los cultivos y sus enemigos naturales. Muchos de los ejemplos de invasiones biológicas exitosas han sido resultado de la evolución de las especies introducidas frente a nuevas condiciones ambientales e interacciones bióticas en una comunidad no nativa. Aunque la evidencia sugiere que el control biológico con especies no nativas es una práctica potencialmente riesgosa, todavía existen muchos ejemplos de invasiones biológicas derivadas de prácticas de control biológico con especies no nativas que no han sido erradicadas o controladas (New 2016).

Es importante realizar estudios para tratar de analizar todas las fases reconocidas dentro del proceso de introducción de especies potencialmente invasoras (Figura 1) para poder proponer las mejores estrategias para prevenir y controlar sus consecuencias ecológicas y económicas, ayudándonos a entender la dispersión e introducción a nuevos ambientes y el establecimiento exitoso (Sakai *et al.* 2001, Lee 2002, Allendorf & Lundquist 2003).

Los estudios de genética de poblaciones y filogeografía se basan en el análisis de la distribución de la variación de marcadores neutrales, como los microsátélites y las secuencias mitocondriales, para inferir que procesos evolutivos asociados a la deriva, el flujo génico y la selección que hayan afectado a las poblaciones a nivel histórico (Wang 2010). Con las estimaciones de flujo génico y las correlaciones de los patrones de dispersión con factores ambientales como las montañas, corrientes de viento, temperatura o tipos de vegetación se pueden establecer si la estructura genética de las poblaciones ha sido influenciada por ellos permitiendo o inhibiendo la conexión entre poblaciones (Rollins *et al.* 2009, Fitpatrick *et al.* 2011). En especies invasoras la comparación de la diversidad genética con los procesos demográficos entre las poblaciones invadidas y nativas puede

ayudar a entender qué procesos evolutivos se han visto modificados durante la invasión (Tsutsui *et al.* 2000, Tsutsui & Case 2001); ayudan a tener evidencias sobre los factores que están promoviendo que una especie se vuelva invasora.

Por otro lado han permitido no solo comparar la variación genética de las especies invasoras en las poblaciones nativas e invadidas para poder estimar si ha existido una o más introducciones, sino también probar diferentes hipótesis sobre las posibles rutas de invasión que han seguido (Coisi *et al.* 2008, Estoup & Guillemaud 2010, Estoup *et al.* 2012, Lombaert *et al.* 2010, Lombaert *et al.* 2014). Conocer los patrones de dispersión es muy importante, ya que las especies una vez establecidas pueden funcionar como poblaciones fuente y a partir de ahí expandirse. Analizar la dispersión es importante ya que permite suponer el origen de muchas especies invasoras y entender si provienen de regiones lejanas o bien se trata de un proceso natural de expansión del área de distribución. Otro aspecto importante del análisis de dispersión es evaluar si la especie es capaz de moverse a larga o corta distancia, y si ese movimiento está relacionado con factores que faciliten el movimiento o de las capacidades propias de las especies. Se podría suponer factores antropogénicos si, por ejemplo, poblaciones lejanas tienen una diversidad genética similar y por el contrario entre poblaciones cercanas no existe evidencia de flujo (LaRue *et al.* 2011). Se podría encontrar que existe aislamiento por distancia resultado de migración paso a paso o una correlación de corrientes de viento o marítimas que hasta ahora se han propuesto como posibles factores que facilitan la dispersión y flujo entre las poblaciones favoreciendo la expansión de las invasiones, como en el Caribe que se ha observado la formación de poblaciones invasoras posteriormente al paso de huracanes (Pratt *et al.* 2006, Johnston & Purkis 2011).



**Figura 1.** Esquema propuesto de las fases de introducción de una especie invasora (Modificado de Blackburn *et al.* 2011)

*Cactoblastis cactorum* (Berg) (Pyralidae: Phycitidae), conocida como “la polilla del nopal”, es originaria de Sudamérica y se alimenta de un gran número de especies de *Opuntia*. *C. cactorum* se alimenta de cactus durante sus diferentes estadios larvales introduciéndose en las pencas, mientras que el adulto es de vida libre y no se alimenta (Robertson & Hoffmann 1989, Zimmermann *et al.* 2007). Por esta razón fue utilizada en el control biológico de especies de *Opuntia* que habían sido introducidas en Australia y Sudafrica. *C. cactorum* fue considerada inicialmente como una agente de control biológico y luego se convirtió en una especie invasora. En 1920 se transportaron 2750 larvas desde Argentina hasta Australia para controlar especies invasoras de *Opuntia stricta*, de ahí se llevaron 112600 puestas a Sudáfrica y posteriormente, en 1957, a Nevis y Antigua en el Caribe. En 1980, se detectaron individuos en Guantánamo (Cuba), y para 1989 se reportó el primer registro en los cabos de la Florida. En general, no se conoce la fecha exacta de colonización del resto de las islas del Caribe, sin embargo Habeck y Bennett (1990) suponen que la introducción en Cuba y otras islas se produjo de forma natural. Al llegar al

Caribe, y en especial a Estados Unidos, la invasión ha sido muy rápida (dispersión de 120 km por año). A partir de la entrada en Estados Unidos, se estableció una alerta para México ya que su entrada representaría un desastre ecológico y económico.

Desde la perspectiva ecológica, significaría un riesgo para las casi 93 especies de *Opuntia* registradas para México. Especies que constituyen el componente dominante de la flora mexicana, especialmente en los estados de Chihuahua y Sonora; contribuyendo a la estabilidad del suelo, además de ser un componente importante en la dieta de algunos mamíferos como venado y roedores y zonas de anidación de algunas aves (Zimmerman *et al.* 2007).

Económicamente la entrada de *C. cactorum* significaría grandes pérdidas, ya que durante años se han utilizado y comercializado los cladodios y frutos de *Opuntia* para el consumo humano (Soberón *et al.* 2001). SAGARPA reporta una producción anual de nopal de aproximadamente 812 mil toneladas, siendo el estado de México y Morelos los principales productores. Sin embargo otros estados como Nuevo León, Hidalgo y Puebla también han desarrollado cultivos de *Opuntia*, fomentando también su uso para forraje.

El éxito que ha tenido *C. cactorum* en las poblaciones invadidas podría estar relacionado con el número de individuos que fueron llevados desde su región nativa Argentina; indicando que la diversidad genética presente en las poblaciones introducidas ha sido suficiente para mantener la adaptabilidad a los nuevos ambientes. Por otro lado, existe la hipótesis de que los huracanes han favorecido la dispersión de *C. cactorum* a través de las islas del Caribe (Johanson & Stiling 1998).

Se han realizado dos estudios de filogeografía previos, en ambos se utilizó el marcador mitocondrial Citocromo oxidasa I (COI). Simonsen *et al.* (2008) estudió varias poblaciones invadidas (20 poblaciones en República Dominicana, Australia, Sudáfrica, Florida y México) observando poca variación (5 haplotipos para 80 individuos); aunque las poblaciones de origen no fueron incluidas en el estudio. Marsico *et al.* (2011) analizó 46 sitios en Argentina y Florida, y encontró mayor diversidad en las poblaciones de origen que en las introducidas. También mostró una estructura en la distribución de los haplotipos; por ejemplo, pudo establecer 4 regiones en Argentina y una división entre las poblaciones del Golfo de México y las del Atlántico en Florida. Finalmente, encontró que lo más

importante para el establecimiento de *C. cactorum* es la presencia de hospederos potenciales (Brooks *et al.* 2012; Brooks *et al.* 2014).

Dadas las características anteriores, *C. cactorum* es un excelente modelo para entender el proceso de dispersión y la manera en que diferentes factores ambientales promueven o limitan el movimiento y establecimiento de las poblaciones. En ese sentido, los análisis de diversidad genética y caracteres de historia de vida sugieren que el ambiente juega un papel importante en el establecimiento de las poblaciones. Sin embargo, a pesar de la evidencia disponible, aún no es posible establecer si las poblaciones de *C. cactorum* podrían seguir expandiéndose. Para entender este proceso de expansión es necesario contestar dos preguntas 1) ¿Qué factores facilitan la dispersión? 2) ¿Existe alguna característica en el ambiente que pueda frenar su dispersión y establecimiento. Para responder la primera pregunta, en los capítulos uno y dos de este trabajo se evaluaron dos hipótesis sobre los factores que favorecieron la expansión de *C. cactorum* en la región del Caribe; en primer lugar los huracanes y en segundo la dispersión antropogénica, utilizando marcadores neutrales (COI y microsatélites nucleares). En el capítulo uno se integraron a los registros ya existentes en el GeneBank para el gen COI; la colecta de ocho poblaciones invadidas, de orígenes desconocidos para la mayoría de los casos, en las islas del Caribe. Estas poblaciones eran muy importantes ya que significa tener datos de las poblaciones donde fue introducido *C. cactorum* para control biológico como Antigua y Nevis. Por otro lado las poblaciones de Cuba y Jamaica son puntos dentro de la trayectoria de los huracanes en la región del Caribe y el Atlántico. Si tomamos en cuenta que los procesos evolutivos pueden llevar varias generaciones en reflejarse en la variación genética, en el capítulo dos se utilizó una serie de marcadores con una tasa de mutación más alta (microsatélites) para probar hipótesis a través de análisis bayesianos sobre los patrones de migración. Por ejemplo, fueron los huracanes o los factores antropogénicos como el comercio los que han favorecido la migración hacia el norte del mar del Caribe? Ya que no solo el hospedero puede determinar el establecimiento de un herbívoro, sino también los factores ambientales, en el capítulo tres se analizó la distribución de la variación genética de *C. cactorum* en las poblaciones nativas de Argentina. En este capítulo se evaluó si el ambiente podría favorecer la estructuración de las poblaciones mediante la correlación de la variación y características ambientales. Los análisis realizados en este trabajo aportan pruebas de cómo los procesos

evolutivos se modifican al cambiar las zonas de distribución. Por ejemplo, cómo las tasas de flujo génico se pueden modificar entre las poblaciones nativas e introducidas de *C. cactorum*, a partir del hecho de que en las nuevas áreas de distribución existe un agente que facilita su dispersión.



## **Capítulo 1:**

**Una posible ruta de invasión de *Cactoblastis cactorum* en la región del Caribe coincide con las trayectorias históricas de huracanes**

# A potential invasion route of *Cactoblastis cactorum* within the Caribbean region matches historical hurricane trajectories

Guadalupe Andraca-Gómez · Mariano Ordano · Karina Boege · César A. Domínguez · Daniel Piñero · Rubén Pérez-Ishiwara · Jacqueline Pérez-Camacho · Maikel Cañizares · Juan Fornoni

Received: 8 December 2013 / Accepted: 13 October 2014 / Published online: 22 October 2014  
© Springer International Publishing Switzerland 2014

**Abstract** The cactus moth, *Cactoblastis cactorum* mainly distributed throughout central and northeastern Argentina was intentionally introduced in the Caribbean region in 1957 as a biological control agent of cacti species of the genus *Opuntia*. This moth invaded during the last 20–30 years the North American continent, threatening the major center of biodiversity of native *Opuntia* species. Although human induced and natural dispersal have been invoked to explain its expansion in the non-native distribution range, there is still no evidence to support natural dispersal. In particular, hurricanes are one of the major environmental factors affecting species dispersal in the region. In this study we used mitochondrial DNA to examine

whether the spatial distribution of haplotype variation of *C. cactorum* is at least partially explained by hurricane trajectories within the Caribbean region. DNA sequences for the mitochondrial gene cytochrome oxidase I were obtained for a sample of 110 individuals from the Antillean islands. This information was combined with existing sequences in the GenBank for the same gene for the Caribbean and Florida (N = 132 sequences). Genetic diversity descriptors, a haplotypic network, a spatial analyses of molecular variance and a landscape genetic analysis of migration conditioned by hurricane tracks were conducted to test our hypothesis. Our results revealed a significant spatial grouping of haplotypes consistent with the more frequent hurricane trajectories in the Caribbean region. Significant isolation by distance conditioned by hurricane tracks was detected. Populations of Florida were genetically closer to those of Cuba than to the rest of the population sampled. Within the region, Cuba appears as a reservoir of genetic diversity increasing the risk of invasion to

---

This paper constitutes a partial fulfillment of the Graduate Program in Biological Sciences of the National Autonomous University of México (UNAM).

---

**Electronic supplementary material** The online version of this article (doi:10.1007/s10530-014-0802-2) contains supplementary material, which is available to authorized users.

---

G. Andraca-Gómez · K. Boege · C. A. Domínguez · D. Piñero · R. Pérez-Ishiwara · J. Fornoni (✉)  
Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 Distrito Federal, Mexico  
e-mail: jfornoni@ecologia.unam.mx

M. Ordano  
Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251,  
T4000JFE San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina

M. Ordano  
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), San Miguel de Tucumán, Argentina

J. Pérez-Camacho · M. Cañizares  
Instituto de Ecología y Sistemática, Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, Carretera de Varona km 3½, Boyeros, La Habana 19 CP 11900, Cuba

Mexico and the US. Despite commercial transportation of *Opuntia* promoted dispersal to Florida, our results support the hypothesis that natural disturbances such as hurricanes played a role dispersing this invasive insect. Future conservation programs of North American *Opuntia* species requires taking into account hurricane mediated dispersal events and permanent whole regional monitoring and international control policies to prevent future range expansions of *C. cactorum*.

**Keywords** Cytochrome oxidase I · Biological invasions · Cactus moth · *Cactoblastis cactorum* · Dispersal · Phylogeography

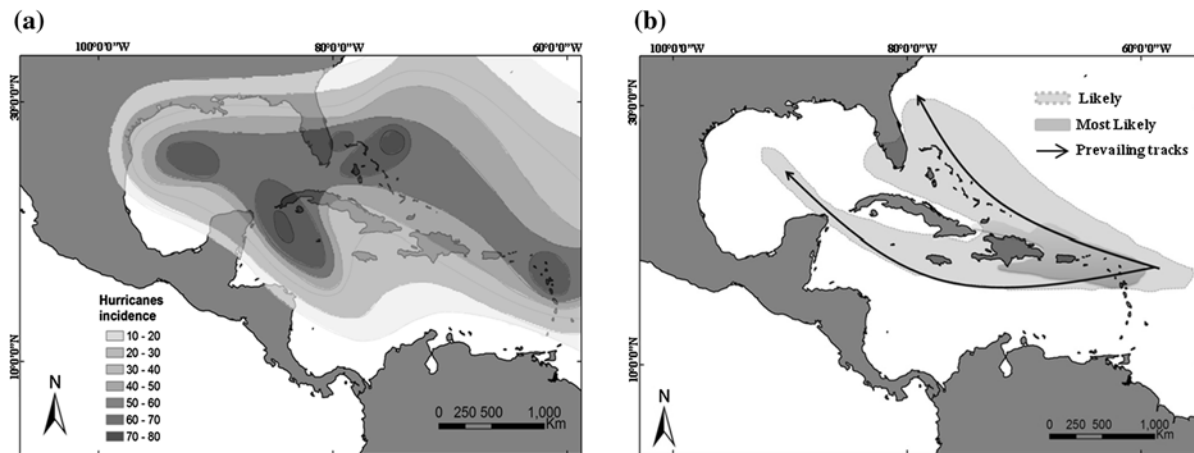
## Introduction

Biological invasions are currently one of the major threats to biodiversity worldwide (Vitousek et al. 1996; Alonso et al. 2001; Richardson 2011), and identifying the factors that explain dispersal patterns of invasive species within non-native regions becomes a central issue for conservation biology, emergence of novel diseases and eradication programs (Abdelkrim et al. 2007; Estoup and Guillemaud, 2010). Invasive species arrive to non-native habitats following human commercial routes, deliberated or unconscious human mediated introductions, or through the breakdown of historical barrier to dispersal due to climate changes (Cadotte et al. 2006; Nentwig 2007; Richardson 2011). After establishment, dispersal of invasive species within their non-native range depends on the interaction among anthropogenic, physical and biotic factors (Sakai et al. 2001; Levine et al. 2004) and understanding the role of contemporary ecological–environmental factors as dispersal agents or as barriers to migration within non-native habitats is one of the central challenges to control invasive species (Estoup and Guillemaud 2010; Lombaert et al. 2011; Boucher et al. 2013; Richardson 2011).

The cactus moth, *Cactoblastis cactorum*, inhabiting Uruguay, Paraguay, central and northeastern Argentina, and south of Brasil (Heinrich 1939), is an oligophagous herbivore of several cacti species within the subfamily Opuntioidea including most of the species of the genus *Opuntia* (Zimmermann et al. 2007). Out of its native range it can also consume

species of the genus *Cylindropuntia* and *Consolea* (Zimmermann et al. 2007). Driven by biological control policies, this moth was introduced in Australia in 1926 to control the demographic expansion of alien *O. stricta* populations that had negative effects on crop and livestock production (Julien and Griffiths 1998). Given the success of this biological agent, it was subsequently introduced to South Africa (1933), New Caledonia (1933), and Hawaii (1950) (Zimmermann and Pérez-Sandi 2006; Zimmermann et al. 2007) to control *O. ficus-indica* and other invasive *Opuntia* species. Larvae from this moth intentionally arrived to the Caribbean in 1957 promoted by human efforts to control weedy native populations of *Opuntia* in the island of Nevis (Bennett and Habeck 1995). This occurred without taking into account the negative side effects of introducing invasive alien species to control native species (Louda et al. 2003). Dispersal within the Caribbean may have presumably occurred by explicit human induced introductions in other islands (US Virgin Islands, Antigua, Montserrat), incidental transportation with ornamental cacti (Pemberton 1995) and/or by natural factors like hurricanes and tropical storms (Drake and Farrow 1988; Torres 1992; Courtenay 1995; Stiling 2002; Pratt et al. 2006; Zimmermann et al. 2007). During the late 1980s, this invasive species arrived to Florida where it started an aggressive expansion favored by the presence of available host species throughout the southeastern United States (Habeck and Bennet 1990). To date, the cactus moth has expanded northward to Bull Islands (South Carolina) through the Atlantic coast of US and through the Gulf of Mexico coast reaching Terrebonne Parish (Louisiana; Rose et al. 2011). In 2007, the species was detected in Isla Mujeres (México), 6 km offshore from the Yucatán Peninsula (NAPPO 2006) but was rapidly eliminated by Mexican environmental authorities (Zimmermann et al. 2007). In contrast to other parts of the world invaded by *Opuntia*, there is a high risk of losing cacti biodiversity within the Americas (see Jezorek et al. 2012). Thus understanding the causal agents of dispersal behind the expansion of this invasive insect in the Caribbean region remains a central issue for conservation of cacti biodiversity (Johnson and Stiling 1998; Zimmermann et al. 2004).

Previous genetic studies suggest that at least three independent introductions of this moth in Florida (Simonsen et al. 2008; Marsico et al. 2011) are likely related to commercial transportation of ornamental



**Fig. 1** Spatial distribution of hurricane frequency in the Caribbean region. **a** Values of isopleths represent the frequency of hurricanes that hit a given area between 1871 and 1986 (figure taken from Lugo et al. 2000). **b** Prevailing hurricane tracks for

July and August in Caribbean and Atlantic Ocean area following Landsea (1993), Landsea et al. (1996) and NOAA (<http://www.nhc.noaa.gov/climo/>)

cacti from Puerto Rico and Rep. Dominicana between 1981 and 1993, highlighting the role of human mediated dispersal (Pemberton 1995; Zimmermann et al. 2000a, b). However, because there has been no direct examination of the potential role of natural dispersal towards continental areas in North America, this hypothesis cannot be ruled out (Johnson and Stiling 1998).

In other regions, invasive insects are known to be favored by warm winds promoting dispersal (Grapputo et al. 2005; Dudaniec et al. 2008). In Isla Mujeres (7 km from the Yucatán Peninsula in Mexico), the arrival of the moth was associated with the occurrence of hurricane Stan in 2005 (Zimmermann and Pérez-Sandi 2006). Parallel to their devastating environmental consequences (Lugo et al. 2000; Chazdon 2003), hurricanes in the Caribbean are known to reduce population size in several species exposing them to genetic bottlenecks (Hurtado et al. 2012; Szczys et al. 2012; but see Vega et al. 2007), and to promote dispersal among isolated islands (Fleming and Murray 2009). Within the Caribbean region, the historical records of winds and hurricanes indicate a consistent spatio-temporal pattern (Landsea 1993; Landsea et al. 1996; Lugo et al. 2000; Muscarella et al. 2011) characterized by two major east–west trajectories (Fig. 1). One that enters the Gulf of Mexico and a second trajectory that passes through the Bahama’s archipelago reaching the Atlantic coast of Florida (Landsea 1993; Landsea et al. 1996; Lugo et al. 2000).

If these two major patterns of winds and hurricane promoted *C. cactorum* dispersal to the continent, at least two sources of invasion matching the geographic patterns of this environmental agent should be observed. In turn, such a pattern could also explain the presence in Florida of two genetically different groups of haplotypes recorded in previous studies, one on the Gulf coast of Florida and the other on the Atlantic coast (Simonsen et al. 2008; Marsico et al. 2011). On the other hand, if commercial transportation were the main source of dispersal to Florida, continental individuals should be genetically closer to those belonging to Rep. Dominicana and Puerto Rico than to those of the rest of the islands in the Caribbean (Simonsen et al. 2008).

In this study we used a mitochondrial gene (cytochrome oxidase I) to identify: (a) whether potential dispersal routes of the invasive cactus moth (*C. cactorum*) within the Caribbean and Florida matches or not major wind and hurricane trajectories and (b) if Rep. Dominicana and Puerto Rico still appears as important sources of commercial dispersal towards Florida.

## Materials and methods

### Insect collection and DNA sampling

We sampled several Antillean islands between 2011 and 2012, searching for the presence of *Cactoblastis*

**Table 1** Geographic locations and host species of sampled populations of *C. cactorum* in the Caribbean islands

Country	Population	Geographic coordinates		Host species
1. St. Kitt—Nevis	Nevis	17°6′51.2″N	62°32′53.2″W	<i>O. dilleni</i>
2. Antigua	Antigua	16°59′52.8″N	61°45′16.5″W	<i>O. dilleni</i>
3. Puerto Rico	Guanica	17°56′52.7″N	66°52′42.2″W	<i>O. ficus-indica</i>
4. Rep. Dominicana	La Romana	18°29′45.4″N	68°59′23.3″W	<i>O. ficus-indica</i>
5. Jamaica	Palisadores	17°56′52.7″N	66°52′42.2″W	<i>O. tuna</i>
6. Cuba	Santiago de Cuba	19°57′42.3″N	75°41′23.6″W	<i>O. dilleni</i>
7. Cuba	Trinidad	21°45′43.2″N	80°0′33.9″W	<i>O. dilleni</i>
8. Cuba	Pinar del Río	22°8′23.2″N	83°58′13″W	<i>O. stricta</i> var. <i>dilleni</i>

*cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) on all possible host cacti species following Zimmermann and Pérez-Sandi (2006). In all infested plant populations we sampled one larvae per plant for a total of 110 larvae (7–17 larvae collected at each population) throughout the region. Our sample included eight populations across six countries (Table 1): one population in the island of Nevis where the insect was intentionally introduced in 1957 (Simmonds and Bennett 1966), one population in the island of Antigua where the insect was also introduced in 1960, one population in Rep. Dominicana (La Romana), and Puerto Rico (Guanica), and one population in Jamaica (Palisadores) where the insect was detected in 2005 (Zimmermann and Pérez-Sandi 2006). Finally three populations were sampled in Cuba (Pinar del Río, Trinidad and Santiago de Cuba). The insect was first detected in Cuba in 1980 close to Guantánamo (near Santiago de Cuba) (Blanco and Vázquez 2001) but there is no record of the colonization events in other parts of the island (Table 1). Most sampled populations were found on *Opuntia dilleni* plants, and occasionally on *O. stricta* var. *dilleni*, *O. ficus-indica*, and *O. tuna* (Table 1).

During sampling in the field, larvae were placed in 1.5 ml vials filled with ethanol at a 95 % concentration. Our survey was complemented with previous data gathered from GenBank including information from other populations within the region [two from Florida (hereafter Gulf and Atlantic coast), and one from Mexico (Isla Mujeres), and Rep. Dominicana (Las Tablas)] (Simonsen et al. 2008; Marsico et al. 2011) to have a complete geographic representation of the Caribbean distribution of *C. cactorum* (Fig. 3).

We performed the DNA extraction with DNEasy® blood and tissue Kit (QIAGEN, MD, USA, cat. 60504) following the manufacturer protocol for purifying total DNA from animal tissues based on a spin-column. We

used only larvae legs to extract DNA. We sequenced 836 bp of the gene cytochrome oxidase I (*COI*) for all collected individuals using the primer pair Jerry-Pat II (Simon et al. 1994; Caterino and Sperling 1999; Jerry: 5′-CAACATTTATTTTGATTTTTGG-3′; PatII: 5′-TCCATTACATATAATCTGCCATATTAG-3′). We performed PCR amplification in a PXE 0.2 thermal cycler (Thermo Electron Corporation, US), using a reaction of 20 µl containing: buffer 1× (Tris-HCl 20 mM, pH 8.4, KCL 50 mM), 1.5 mM of MgCl<sub>2</sub>, dNTPs 0.1 mM each, Taq 1 µl, 0.5 µM of each primer, 30 ng of DNA and enough milliQ water to attain the final volume of 20 µl. The PCR protocol initiated with one cycle of 95 °C during 1 min, followed by 35 cycles of 94 °C for 15 s, 57 °C for 15 s, 72 °C for 1 min, and a final elongation step of 72 °C for 7 min. We generated sequences for all individuals in the forward and reverse direction and aligned them using Mega 5 (Tamura et al. 2011).

#### Data analyses

For the sample of populations acquired in our field survey, we obtained the following genetic diversity estimates: number of segregation sites (S), number of haplotypes, and nucleotide diversity ( $\pi$ ) using DNAsp (Rozas et al. 2003). Subsequent analyses were performed combining our sample of 110 sequences (individuals) with genetic data gathered from GenBank and published studies for other 132 individuals (Simonsen et al. 2008; Marsico et al. 2011). Based on previous surveys in Southeastern US, all GenBank data for the US Gulf of Mexico and Atlantic coast of Florida (Simonsen et al. 2008; Marsico et al. 2011) were considered as single populations (hereafter Gulf and Atlantic coast population respectively). These two areas included genetic data collected approximately

along 500 km in each coast (Simonsen et al. 2008; Marsico et al. 2011). Final analyses included genetic information for 12 populations and 242 individuals.

We constructed a network of haplotypes using TCS 1.21 (Clement et al. 2000) combining our data with that obtained from GenBank for the same gene and species (Simonsen et al. 2008; Marsico et al. 2011). For this analysis we used only 725 bp fragments following existing sequences length in the GenBank for the studied species. The network was constructed with a link probability of 95 % between pairs of haplotypes and assembled following the parsimony criteria minimizing the number of mutations required to account for differences between haplotypes.

To explore the existence of genetically differentiated groups of populations in the region, we performed an Spatial Analysis of Molecular Variance (SAMOVA; Dupanloup et al. 2002) in ARLEQUIN 3.5 (Excoffier et al. 2005). In these analyses  $F_{CT}$  correspond to the among groups component of genetic variation,  $F_{ST}$  correspond to the among populations within groups component of genetic variation, and  $F_{SC}$  to the within populations component of genetic variation. SAMOVA simulates different partitions of  $n$  populations into  $K$  groups retaining the partition with the highest  $F_{CT}$  value. Subsequent Analysis of Molecular Variance (AMOVA) in ARLEQUIN 3.5 (Excoffier et al. 2005) was performed to estimate fixation indices ( $F_{SC}$ ,  $F_{ST}$ ,  $F_{CT}$ ) for the optimum  $K$ .

To further evaluate if population genetic differentiation follow a pattern of isolation by distance the correlation between genetic and Euclidean geographic distance matrices was estimated using a Mantel test. The hypothesis that major tracks of hurricanes and tropical storms played a significant role on the distribution of genetic variation was examined using CIRCUITSCAPE (McRae and Shah 2009). Using historical records of major hurricane and tropical storm tracks and incidence in the region (Landsea 1993; Landsea et al. 1996; Lugo et al. 2000) we built a matrix indicating resistance between pairs of populations (resistance matrix). Following circuit theory this program calculated a matrix of connectivity among all pairs of populations (analogue of electrical resistance) using the resistance matrix (analogue of electrical current) (McRae et al. 2008). The advantage of this method is that it calculated the total resistance based on multiple potential paths of least resistance between populations. A partial Mantel test was then performed

to evaluate if the initial correlation between genetic and Euclidean geographic distance matrices is improved when the information of the connectivity matrix was explicitly considered (isolation by resistance hypothesis). In this analysis, a significant increment in the correlation between genetic and Euclidean geographic distances indicate that our hypothesis of environmental barriers to gene dispersal mediated by hurricanes and tropical storms at least partially contributed to the spatial distribution of genetic variation (McRae and Shah 2009).

## Results

Our results confirmed the number of haplotypes detected in previous studies in the region (Table 2). Following the notation used by Simonsen et al. 2008, we found haplotypes 2, 3 and 5, and haplotype CBN detected by Marsico et al. (2011). We also detected equivalent values in the number of nucleotide differences among haplotypes (Table 2). Mean nucleotide diversity was 0.00177, (range 0–0.00277; Table 2), and we found the highest nucleotide diversity in Santiago de Cuba, whereas the lowest was found in Nevis, Isla Mujeres (Mexico) and Palisadores (Jamaica). Haplotypes 2 and 5 were the most genetically distant with three base pair differences (Fig. 2). Two mutations differentiated Haplotypes 3 and 5,

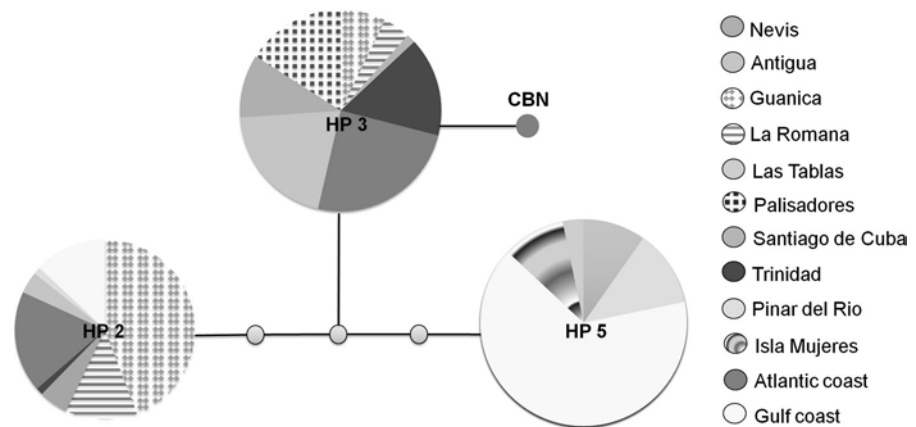
**Table 2** Descriptive summary of genetic diversity using *COI* data (725 bp fragment length) for *Cactoblastis cactorum* in its invasive range in the Caribbean islands

Population	$N$	Number of haplotypes	$S$	$\pi$
Nevis	7	1	0	0
Antigua	17	2	3	0.00127
Guanica	39	2	3	0.00094
La Romana	13	2	3	0.00159
Palisadores	11	1	0	0
Santiago de Cuba	14	3	5	0.00277
Trinidad	15	3	5	0.00189
Pinar del Río	12	2	4	0.00092
Mean	16	2	2.87	0.0094

$N$ , sample size (number of collected larvae) in each location; Number of haplotypes;  $S$ , nucleotide differences among haplotypes;  $\pi$ , nucleotide diversity



**Fig. 2** Network of haplotypes for the mitochondrial gene cytochrome oxidase I for invasive populations of the cactus moth *Cactoblastis cactorum* in the Caribbean. HP 2, 3 and 5 correspond to haplotypes describe by Simonsen et al. (2008) while CBN correspond to a haplotype described by Marsico et al. (2011)



while only one base pair difference was detected between Haplotype 3 and CBN (Fig. 2).

In the island of Nevis, where *C. cactorum* was first introduced to the Caribbean in 1957, we only detected one haplotype (Fig. 3), while on the northwestern part of the actual distribution we found a greater concentration of genetic diversity (Fig. 3). Within Florida we found the higher diversity of haplotypes followed by Cuba. Populations in Trinidad and Santiago de Cuba presented all the haplotypes detected in the region except for the haplotype CBN only found in the Atlantic coast of Florida (Fig. 3). Whereas haplotype 5 is more prevalent within populations located in the Gulf of Mexico and the southern part of the Caribbean, haplotypes 2, 3 and CBN are more prevalent in the Atlantic coast of Florida and the north and east part of the Caribbean (Figs. 2, 3). Results from SAMOVA revealed the existence of a phylogeographic structure consistent with the haplotypic network (data shown in Table 3 for  $K = 4$ , Fig. 3). Although significant components of variation was detected for all possible number of clusters ( $1 < K < 10$ ), the best one corresponded to  $K = 4$  given that this presented the higher difference in  $F_{CT}$  value with that obtained for  $K = 3$  and  $K = 5$  ( $K = 3$ ,  $F_{ST} = 0.658$ ,  $F_{CT} = 0.553$ ,  $F_{SC} = 0.234$ ;  $K = 4$ ,  $F_{ST} = 0.653$ ,  $F_{CT} = 0.628$ ,  $F_{SC} = 0.068$ ;  $K = 5$ ,  $F_{ST} = 0.638$ ,  $F_{CT} = 0.635$ ,  $F_{SC} = 0.029$ ).

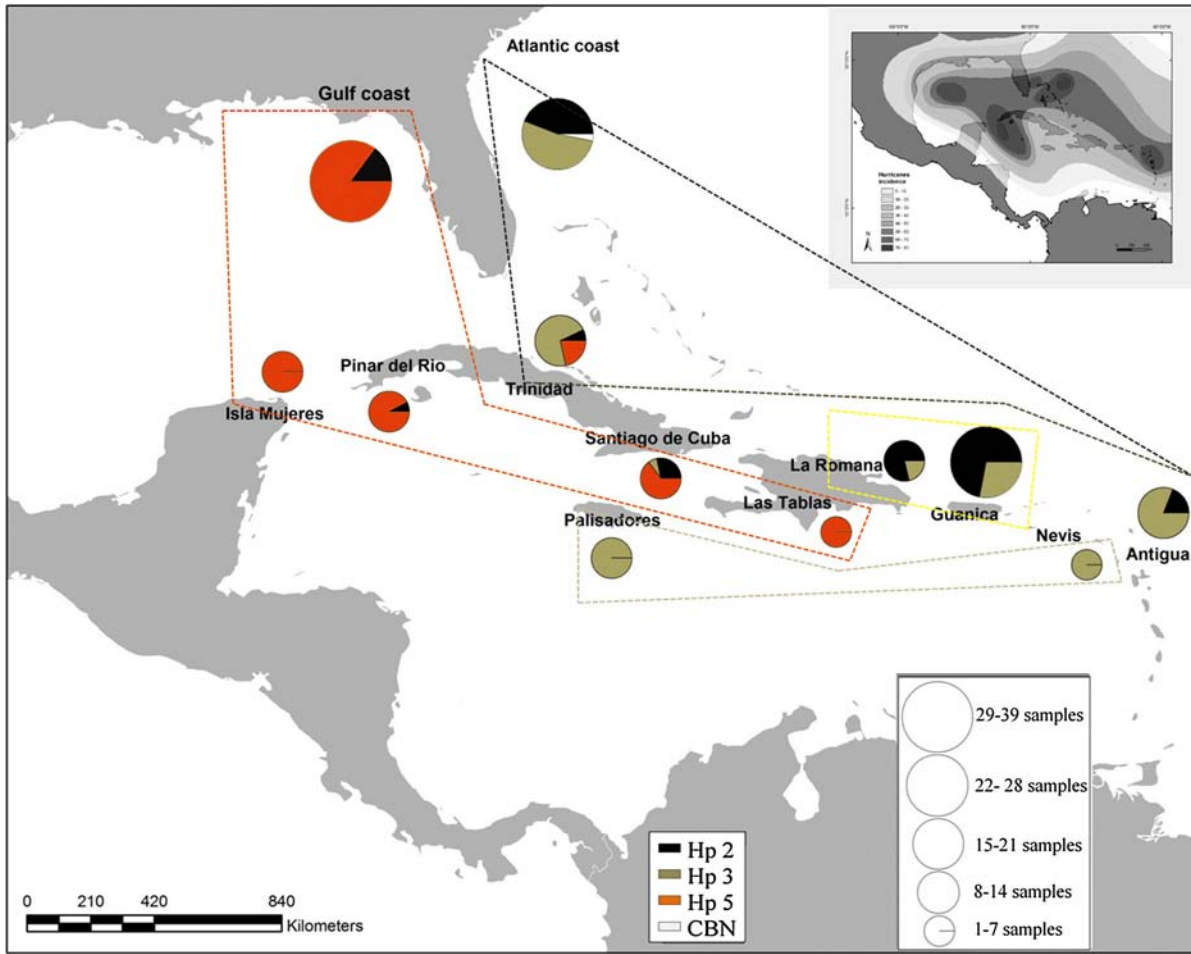
Analyses revealed the presence of insulation among four genetic groups given that a higher amount of genetic variation was detected at this level (62.8), followed by the variation within populations (34.67), and the variation among populations within groups (2.53) (Table 3). One group of populations correspond

to those present in the coast of the Gulf of Mexico, Isla Mujeres (Mexico), Las Tablas (Rep. Dominicana), and two Cuban populations (Pinar del Rio and Santiago de Cuba) with a higher frequency of haplotype 5 (Fig. 3). The other three groups have higher frequency of haplotypes 2 and 3 (Fig. 3). The group formed by populations of Antigua, Atlantic coast (Florida) and Trinidad (Cuba) present a fairly equal frequency of haplotypes 2 and 3. Populations of Palisadores (Jamaica) and Nevis have a clear dominance of haplotype 3 representing the third group while populations of La Romana (Rep. Dominicana) and Guanica (Puerto Rico) present a clear dominance of haplotype 2 representing the fourth group (Fig. 3).

Isolation by distance analysis revealed that geographic distances marginally accounted for genetic distances among populations (Mantel test  $r = 0.214$ ,  $P = 0.062$ ). However, considering our hypothesis of isolation by resistance mediated by hurricanes and tropical storms improved the correlation between geographic and genetic distant matrices (Partial Mantel test  $r = 0.246$ ,  $P = 0.036$ ) (Fig. 3). The absence of a correlation between the genetic and resistance matrices (Mantel test  $r = -0.017$ ,  $P = 0.553$ ) indicated that hurricanes and tropical storms do not account alone for the pattern of dispersal in the Caribbean.

## Discussion

Our analyses revealed that the geographic distribution of genetic variation of the invasive moth, *C. cactorum*,



**Fig. 3** Geographic distribution of *Cactoblastis cactorum* haplotypes found in 12 non native locations within the invasive range in the Caribbean region and Florida (US). Pie sizes correspond to sample size for each population included in the analyses. Different colors correspond to different haplotypes.

Haplotypes are labeled following Simonsen et al. (2008) and Marsico et al. (2011). Dotted lines outline the four groups obtained in the SAMOVA analysis. The upper right map of the region indicate the frequency of incidence of hurricanes following Lugo et al. (2000), see Fig. 1 for more details

(using the mitochondrial gene COI) was likely conditioned by spatial patterns of hurricanes and tropical storms in the Caribbean. The marginally significant correlation between genetic and geographic distance among populations was statistically improved when the effect of hurricanes and tropical storms were included in the model supporting our isolation by resistance hypothesis mediated by these environmental agents. The geographic distribution of haplotypic variation suggest that despite genetic differentiation between the Gulf and Atlantic coasts of Florida has been related to independent events of colonization promoted by commercial transportation of cacti from

Rep. Dominicana and Puerto Rico (Simonsen et al. 2008; Marsico et al. 2011), hurricanes and tropical storms also played a role on the occurrence of independent events of migration to the United States (Johnson and Stiling 1998). Despite one of the populations of Rep. Dominicana (Las Tablas) formed a group with the Florida population in the Gulf coast and the other Rep. Dominicana population (La Romana) presented high frequency of the haplotype that dominates in the Florida population of the Atlantic coast, Cuban populations were genetically related with both Florida populations. Given the absence of commercial and turistic interchange between United



**Table 3** Analysis of molecular variance (AMOVA) using COI data for the four groups of populations of *Cactoblastis cactorum* in the Antillean islands and Florida detected by SAMOVA (see “Results”)

Source of variation	df	Sum of squares	Percentage of variation	Fixation indices
Among groups ( $F_{CT}$ )	3	150.083	62.80	0.627
Among populations within groups ( $F_{ST}$ )	8	8.449	2.53	0.653
Within populations ( $F_{SC}$ )	230	112.629	34.67	0.068
Total	241	271.261		

Fixation indices corresponded to the SAMOVA model for  $K = 4$ . All variance components were significantly different from zero ( $P < 0.0001$ ) after 1,023 permutations

States and Cuba, our results support the hypothesis that natural dispersal represent an important factor during the invasion of the cactus moth in the Caribbean. Thus, it is likely that a combination of human mediated and natural dispersal explain the pattern of haplotypic differentiation between the Gulf and the Atlantic coast of Florida. Still other sources of dispersion like turistic and commercial transportation as well as other not explored environmental conditions should be explicitly examined in future studies.

Although previous studies recorded the effects of hurricanes on biodiversity, ecosystem functioning and population dynamics for the Caribbean (Chazdon 2003), we are still far from understanding its consequences on the genetic structure of species in the region (but see Fleming and Murray 2009; Apodaca et al. 2013). Genetic data obtained before and after the occurrence of hurricanes reveal that in some cases they exert a strong effect reducing genetic variation while in others, they increase genetic diversity promoting gene flow and dispersal. Because island species usually have lower population size and reduced genetic diversity compared with mainland populations, hurricanes are likely to reinforce the consequences of genetic drift, inbreeding and founder effects (Hedrick 2011). To date the role that hurricanes play upon the genetic structure and dispersal of invasive species is almost unknown. Our results revealed that hurricanes likely contributed to the geographic genetic structure of *C. cactorum* during the last 60 years since the invasion in the Caribbean

started. In turn, our results suggest that native species vulnerable to hurricane effects would also express a similar phylogeographic structure following an east-west pattern and the presence of at least two insulation groups according to major hurricane spatial patterns (Hedges 1996). To our knowledge this is one of the first attempts to show an association between hurricane tracks and dispersal patterns in an invasive species.

In general, higher genetic diversity is usually found within areas were invasive species first established after migration (Avise 2000). In contrast, our results indicated an east-west pattern of reduction in genetic diversity. This pattern parallel the history of dispersion within the region and the observed reduction in the population size of the host cacti in the islands were *C. cactorum* first arrived (Nevis) (Pemberton and Liu 2007; Zimmermann et al. 2007), suggesting that, as the moth reduces the population size of its local hosts, it becomes exposed to increasing levels of genetic drift. However, the pattern of isolation by distance indicated a mutation–migration–drift balance, suggesting that reduced haplotypic diversity in older colonized sites would not exert a significant effect on the spatial distribution of genetic variation. Given that the molecular marker expressed low levels of genetic variation, this may have increased the signal of genetic drift in the analyses. Further analyses are now being conducted to demonstrate the existence of a pattern of reduced genetic drift following the east-west increase in genetic diversity using more variable molecular markers. In addition, since this east-west pattern of reduction in genetic diversity of populations is consistent with directionality of hurricanes and tropical storms within the region these natural disturbances may affect other native species as well.

Finally, since Cuba constitute a reservoir of genetic variation within the region and a natural corridor toward the continent, the occurrence of future invasions to the nearest continental areas of Florida and the Yucatan Peninsula (Mexico) impacted by hurricanes should be permanently monitored. In particular, locations near the coast inhabited by cacti species. If hurricanes affect genetic variation and dispersal of invasive species in the Caribbean, these effects should be considered in future risk assessments of biological invasions within this tropical region. In addition, as hurricanes could strongly affect dispersal patterns, future authorizations of new introductions for

biological control in the Caribbean requires a coordinated international policy at a regional scale to avoid side negative effects as those recorded for *C. cactorum* (Zimmermann and Pérez-Sandi 2006).

**Acknowledgments** G. Andraca-Gómez acknowledges the scholarship and financial support provided by the National Council of Science and Technology (CONACyT), and Posgrado en Ciencias Biológicas UNAM. A. Flores-Domínguez, A. Wegier, A. González-Rodríguez and J. Golubov participated in fruitful discussions during the elaboration of the study, and F. Molina-Freaner and two anonymous reviewers made useful suggestions to the final version of the manuscript. This study was financed by CONABIO JE002 to JF.

**Conflict of interest** The authors declare no conflict of interest.

## References

- Abdelkrim J, Pascal M, Samadi S (2007) Establishing causes of eradication failure based on genetics: case study of ship rat eradication in Ste. Anne Archipelago Conserv Biol 21:719–730
- Alonso A, Dallmeier F, Granek E, Raven P (2001) Biodiversity: connecting with the tapestry of life. Smithsonian Institution/Monitoring and Assessment of Biodiversity Program and President's Committee of Advisors on Science and Technology, Washington
- Apodaca JJ, Trexler JC, Jue NK, Schrader M, Travis J (2013) Large-scale natural disturbance alters genetic population structure of the Sailfin Molly, *Poecilia latipinna*. Am Nat 181:254–263
- Avise JC (2000) Phylogeography. The history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge
- Bennett FD, Habeck DH (1995) *Cactoblastis cactorum*: A successful weed control agent in the Caribbean, now a pest in Florida? In: Delfosse ES, Scott RR (eds) Proceedings of the VII international symposium on biological control of weeds. CSIRO, pp 21–26
- Blanco EF, Vázquez LL (2001) Análisis de los riesgos fitosanitarios asociados al uso de *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Lepidoptera: Pyralidae: Phycitinae) como agente de control biológico de *Opuntia dillenii* (Cactaceae) en Cuba. Fitosanidad 5:63–73
- Boucher AC, Mimeo B, Montarry J, Bardou-Valette S, Bélair G, Moffett P, Grenier E (2013) Genetic diversity of the golden potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* and determination of the origin of populations in Quebec, Canada. Mol Phylogenet Evol 69:75–82
- Cadotte MW, McMahon SM, Fukami T (2006) Conceptual ecology and invasion biology: reciprocal approaches to nature. Springer, Berlin
- Caterino MS, Sperling FAH (1999) *Papilio* phylogeny based on mitochondrial cytochrome oxidase I and II genes. Mol Phylogenet Evol 11:122–137
- Chazdon RL (2003) Tropical forest recovery: legacies of human intervention and natural disturbances. Perspect Plant Ecol Evol Syst 6:51–71
- Clement M, Posada D, Crandall KA (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. Mol Ecol 9:1657–1659
- Courtenay WR (1995) Marine fish introductions in southeastern Florida. Am Fish Soc Introd Fish Sect Newsl 14:2–3
- Drake VA, Farrow RA (1988) The influence of atmospheric structure and motions on insect migration. Annu Rev Entomol 33:183–210
- Dudaniec RY, Gardner MG, Donnellan S, Kleindorfer S (2008) Genetic variation in the invasive avian parasite, *Philornis downsi* (Diptera, Muscidae) on the Galápagos archipelago. BMC Ecol 8:1–13
- Dupanloup I, Schneider S, Excoffier L (2002) A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. Mol Ecol 11:2571–2581
- Estoup A, Guillemaud T (2010) Reconstructing routes of invasion using genetic data: why, how and so what? Mol Ecol 19:4113–4130
- Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. Evol Bioinform Online 1:47–50
- Fleming TH, Murray KL (2009) Population and genetic consequences of hurricanes for three species of West Indian phyllostomid bats. Biotropica 41:250–256
- Grapputo A, Boman S, Lindstrom L, Lyytinen A, Mappes J (2005) The voyage of an invasive species across continents: genetic diversity of North American and European Colorado potato beetle populations. Mol Ecol 14:4207–4219
- Habeck DH, Bennet FD (1990) *Cactoblastis cactorum* Berg (Lepidoptera: Pyralidae), a phycitine new to Florida. Entomol Circ 333:1–4
- Hedges SB (1996) Historical biogeography of West Indian vertebrates. Annu Rev Ecol Syst 27:163–196
- Hedrick PW (2011) Genetics of populations. Jones and Bartlett, USA
- Heinrich C (1939) The cactus-feeding Phycitinae: a contribution toward a revision of the American pyralidoid moths of the family Phycitidae. Proc US Natl Mus 86:331–413
- Hurtado LA, Santamaria CA, Fitzgerald LA (2012) Conservation genetics of the critically endangered Saint Croix ground lizard (*Ameiva polops* Cope 1863). Conserv Genet 13:665–679
- Jezorek H, Baker AJ, Stiling PD (2012) Effects of *Cactoblastis cactorum* on the survival and growth of North American *Opuntia*. Biol Invasions 14:2355–2367
- Johnson DM, Stiling PD (1998) Distribution and dispersal of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae), an exotic opuntia-feeding moth. Fla Entomol 81:12–22
- Julien MH, Griffiths MW (1998) Biological control of weeds: a world catalogue of agents and their target weeds, 4th edn. CABI Publishing, Wallingford
- Landsea CW (1993) A climatology of intense (or major) Atlantic hurricanes. Mon Weather Rev 121:1703–1713
- Landsea CW, Nicholls N, Gray WM, Avila LA (1996) Downward trends in the frequency of intense Atlantic hurricanes during five decades. Geophys Res Lett 23:1697–1700
- Levine RC, Peterson AT, Benedict MQ (2004) Distribution of members of *Anopheles quadrimaculatus* Say s.l. (Diptera: Culicidae) and implications for their roles in malaria transmission in the United States. J Med Entomol 41:607–613

- Lombaert E, Guillemaud T, Thomas CE, Lawson-Handley LJ, Li J, Wang S, Pang H, Goryacheva I, Zakharov IA, Jousset E, Poland RL, Migeon A, van Lenteren J, DeClercq P, Barkevens N, Jones W, Estoup A (2011) Inferring the origin of populations introduced from genetically structured native range by approximate Bayesian computation: case study of the invasive ladybird *Harmonia axyridis*. *Mol Ecol* 20:4654–4670
- Louda SM, Pemberton RW, Johnson MT, Follett PA (2003) Nontarget effects—the Achilles’ heel of biological control? Retrospective analyses to reduce risk associated with biocontrol introductions. *Annu Rev Entomol* 48:365–369
- Lugo AE, Rogers CS, Nixon SW (2000) Hurricanes, coral reefs and rainforests: resistance, ruin and recovery in the Caribbean. *Ambio* 29:106–114
- Marsico TD, Wallace LE, Ervin GN, Brooks CP, McClure JE, Welch ME (2011) Geographic patterns of genetic diversity from the native range of *Cactoblastis cactorum* (Berg) support the documented history of invasion and multiple introductions for invasive populations. *Biol Invasions* 13:857–868
- McRae BH, Shah VB (2009) Circuitscape user’s guide. The University of California, Santa Barbara
- McRae BH, Dickson BG, Keitt TH, Shah VB (2008) Using circuit theory to model connectivity in ecology, evolution and conservation. *Ecology* 89:2712–2724
- Muscarella RA, Murray KL, Ortt D, Russell AL, Fleming TH (2011) Exploring demographic, physical, and historical explanations for the genetic structure of two lineages of greater antillean bats. *PLoS One* 6:1–3
- NAPPO, North American Plant Protection Organization (2006) detection of an outbreak of cactus moth (*Cactoblastis cactorum*) in Isla Mujeres, Quintana Roo, Mexico. North American plant protection organization’s phytosanitary alert system, official pest reports. <http://www.pestalert.org/oprDetail.cfm?oprID=216>
- Nentwig W (2007) Biological invasions. Springer, Berlin
- Pemberton RW (1995) *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) in the United States. An immigrant biological control agent or an introduction of the nursery industry? *Am Entomol* 41:230–232
- Pemberton RW, Liu H (2007) Control and persistence of native *Opuntia* on Nevis and St. Kitts 50 years after the introduction of *Cactoblastis cactorum*. *Biol Control* 41:272–282
- Pratt PD, Rayamajhi MB, Bernier LS, Center TD (2006) Geographic range expansion of *Boreioglycaspis melaleucae* (Hemiptera: Psyllidae) to Puerto Rico. *Fla Entomol* 89:529–531
- Richardson DM (2011) Invasion science: the roads travelled and the roads ahead. In: Richardson DM (ed) Fifty years of invasion ecology: the legacy of Charles Elton. Blackwell, Oxford, pp 396–407
- Rose R, Weeks R, Usnick S (2011) Cactus moth, *C. cactorum* 2011 survey plan for PPQ and state cooperators. APHIS, USDA, Riverdale
- Rozas J, Sánchez-DelBarrio JC, Messeguer X, Rozas R (2003) DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19:2496–2497
- Sakai A, Allendorf FW, Holt JS, Lodge DM, Molofsky J, With KA, Baughman S, Cabin RJ, Cohen JE, Ellstrand NC, McCauley DE, O’Neil P, Parker IM, Thompson JN, Weller SG (2001) The population biology of invasive species. *Annu Rev Ecol Syst* 32:305–332
- Simmonds FJ, Bennett FD (1966) Biological control of *Opuntia* spp. by *Cactoblastis cactorum* in the Leeward Islands (West Indies). *Entomophaga* 11:183–189
- Simon C, Frati F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P (1994) Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann Entomol Soc Am* 87:651–701
- Simonsen TJ, Brown RL, Sperling FAH (2008) Tracing an invasion: phylogeography of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) in the United States based on mitochondrial DNA. *Ann Entomol Soc Am* 101:899–905
- Stiling P (2002) Potential non-target effects of a biological control agent, prickly pear moth, *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Lepidoptera: Pyralidae), in North America, and possible management actions. *Biol Invasions* 4:273–281
- Szczys P, Nisbet ICT, Wingate DB (2012) Conservation genetics of the Common Tern (*Sterna hirundo*) in the North Atlantic region; implications for the critically endangered population at Bermuda. *Conserv Genet* 13:1039–1043
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2011) MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 28:2731–2739
- Torres JA (1992) Lepidoptera outbreaks in response to successional changes after the passage of Hurricane Hugo in Puerto Rico. *J Trop Ecol* 8:285–298
- Vega R, Vázquez-Domínguez E, Mejía A, Cuarón AD (2007) Unexpected high levels of genetic variability and the population structure of an island endemic rodent *Oryzomys couesi cozumelae*. *Biol Conserv* 137:210–222
- Vitousek PM, D’Antonio CM, Loope LL, Westbrooks R (1996) Biological invasions as global environmental change. *Am Sci* 84:468–478
- Zimmermann HG, Pérez-Sandi M (2006) The consequences of introducing the cactus moth *Cactoblastis cactorum* to the Caribbean and beyond
- Zimmermann HG, Moran VC, Hoffmann JH (2000a) The renowned cactus moth, *Cactoblastis cactorum*: its natural history and threat to native *Opuntia* floras in Mexico and the United States of America. *Diver Distrib* 6:259–269
- Zimmermann HG, Pérez M, Goluvob J, Soberón J, Sarukán J (2000b) *Cactoblastis cactorum*, una nueva plaga de muy alto riesgo para las Opuntias de México. *Biodiversitas* 6:1–14
- Zimmermann HG, Klein H, Bloem S (2004) The biology, history, threats, surveillance and control of the cactus moth, *Cactoblastis cactorum*. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in food and Agriculture. IAEA, Austria
- Zimmermann HG, Bloem S, Klein H. (2007) *Cactoblastis cactorum*. The Biology, history, threat, surveillance and control of the cactus moth. FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture

## Capítulo 2. Análisis de rutas de invasión de *Cactoblastis cactorum* en la región del Caribe y Florida

### Resumen

La estimación de la expansión de las poblaciones invasoras mediante análisis de rutas permite poner a prueba diferentes hipótesis acerca de los factores que favorecen la dispersión. Datos importantes para establecer planes de manejo y ayudar a identificar las áreas donde existe riesgo de dispersión. *Cactoblastis cactorum* es una polilla originaria de Argentina, que fue introducida en Antigua y Nevis en 1957 para controlar especies de *Opuntia* en estas islas. A partir de ese momento las poblaciones se fueron expandiendo hasta la península de Estados Unidos, sin que se conozcan claramente los mecanismos de expansión, por eso es importante responder las siguientes preguntas, 1) ¿La diferenciación genética entre poblaciones en la zona invadida está determinada por la distancia geográfica, factores ambientales como los huracanes, y/o tráfico comercial? 2) ¿En qué medida los huracanes y evidencia previa de tráfico comercial entre algunas de las islas del Caribe y Florida han condicionado el movimiento de genes hacia el continente? Mediante el análisis de 10 loci de microsatélites nucleares se evaluó la diversidad y estructura genética, migración entre islas del Caribe y se probaron como hipótesis, si la dispersión fue promovida por el comercio o facilitada por los huracanes. Los resultados muestran que las poblaciones del Caribe se encuentran estructuradas, que la expansión de las poblaciones de *C. cactorum* ha sido resultado tanto del flujo comercial entre las islas y Estados Unidos, así como facilitado por el flujo continuo de huracanes. Estos datos son importantes ya que el flujo comercial puede prevenirse, reforzando las medidas sanitarias, por lo tanto ante el constante flujo anual de huracanes deben realizarse monitoreos constantes en las zonas más afectadas de la Península de Yucatán y Golfo de México para evitar el ingreso a México.

## Introducción

La expansión de las especies invasoras puede ser resultado de diferentes factores dependiendo de las regiones y organismos involucrados. En la mayoría de los casos se ha encontrado que las actividades humanas como el comercio y la introducción con fines de control biológico son los principales dispersores de estas especies (Desneux *et al.* 2010; Liebhold *et al.* 2013; Yamanaka *et al.* 2015, New 2016). También se ha observado que la heterogeneidad ambiental, los vientos o la temperatura determinan la presencia o ausencia de los organismos invasores, principalmente en el caso de los insectos (Andraca-Gómez *et al.* 2015; Lander *et al.* 2014; Webber *et al.* 2015). Al existir cambios en las presiones selectivas, las habilidades para dispersarse pueden modificarse, ya que la capacidad de dispersión no es un carácter fijo (Lawson-Handley *et al.* 2011).

Los estudios de dispersión secundaria o expansión de las invasiones biológicas se han beneficiado con el uso de marcadores moleculares, ya que han permitido reconstruir las rutas de invasión (Coisi *et al.* 2008, Puth & Post 2005; Wilson *et al.* 2009; Estoup & Guillemaud 2010; Estoup *et al.* 2012), inferir si han existido una o más introducciones, cuál es el posible origen de los fundadores (Estoup & Guillemaud 2010; Estoup *et al.* 2012) y finalmente cual es la dinámica geográfica y demográfica que estuvo relacionada con la dispersión. Estos datos son importantes para establecer planes de manejo y ayudar a identificar las áreas donde existe riesgo de dispersión (Dlugosch & Parker 2008). Al analizar la ruta de dispersión podemos inferir: 1) Si existe una correlación entre la distancia geográfica y la distancia genética implicaría una dispersión paso a paso. Si la distancia euclidiana no explicara la diferenciación implicaría dispersión a larga distancia y por lo tanto que existen factores que facilitan la dispersión. 2) Si se compaginan los datos de las trayectorias comerciales y la diferenciación genética, entonces la probabilidad de una dispersión facilitada por humanos sería posible (Fountain *et al.* 2014; Andraca-Gómez *et al.* 2015; Lander *et al.* 2014).

La “polilla del nopal” *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Pyralidae: Phycitidae) es un insecto barrenador originario de Sudamérica que en sus fases larvales se alimenta de un gran número de especies de *Opuntia*; como adulto es un organismo de vida libre que no se alimenta (Robertson & Hoffmann 1989; Zimmermann *et al.* 2007). *C. cactorum* fue considerada inicialmente como una agente de control biológico, pero se convirtió en una

especie invasora con el más alto riesgo de extinguir especies nativas de *Opuntia* en Norteamérica y el Caribe (Suckling & Sforza 2014). Por esta razón, se están llevando a cabo esfuerzos importantes para desarrollar estrategias de control de este insecto (Zimmerman *et al.* 2007). Aunque se conoce que el hombre ha promovido explícitamente la introducción de los insectos en varias partes del mundo (Australia, Sudáfrica, Nueva Caledonia, Hawái, Caribe), los factores que determinan la dispersión secundaria dentro de las zonas invadidas permanecen sin ser esclarecidos.

Para controlar especies invasoras de *Opuntia*, en 1920 *C. cactorum* fue llevada desde Argentina hasta Australia, posteriormente a Sudáfrica, donde estudios en las poblaciones introducidas mostraron que las lluvias y los vientos fuertes fueron importantes para el éxito en el establecimiento de las poblaciones en ese país (Roberson 1985 a, b, 1988), finalmente en 1957 fue llevado a diversas islas del Caribe. En 1980, se detectaron individuos en Guantánamo (Cuba), y para 1989 se reportó el primer registro en los Cayos de la Florida. En general, la fecha exacta de colonización del resto de las islas del Caribe es desconocida. Sin embargo, Habeck y Bennett (1990) asumen que la introducción en Cuba y en otras islas del Caribe se produjo de forma natural. En México, por ejemplo, se asocia la aparición de *C. cactorum* en Isla Mujeres en 2006 y en Isla Contoy en 2007, con el paso del huracán Stan o Wilma. A partir de entonces, en México, se estableció una alerta ya que la entrada de esta especie representaría un desastre ecológico y económico.

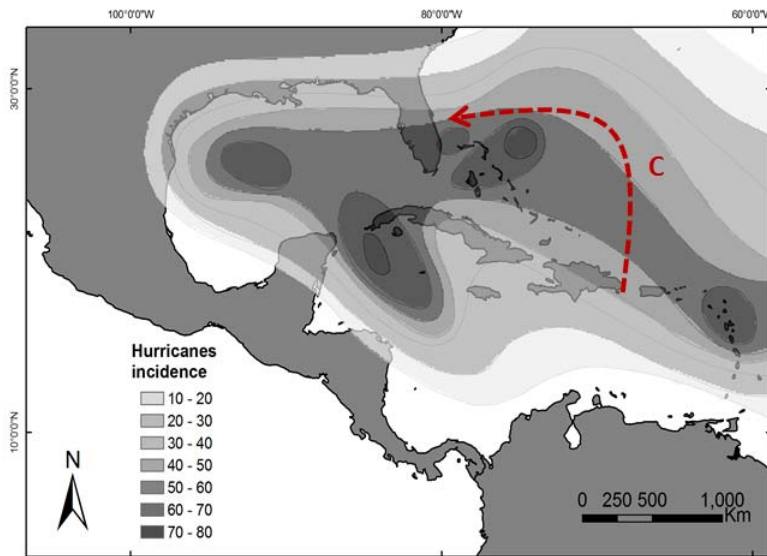
En términos ecológicos, significa que están en riesgo las cerca de 93 especies del género *Opuntia* que se reconocen para el territorio mexicano. Las pérdidas económicas se darían ya que durante años se han utilizado y comercializado los cladodios y los frutos para el consumo humano (Soberon *et al.* 2001).

Recientemente, se iniciaron estudios con marcadores moleculares para evaluar la dispersión secundaria en las poblaciones invadidas de *C. cactorum* en la región del Caribe. Análisis realizados con secuencias del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I (COI) muestran que las poblaciones presentes en Florida, Estados Unidos, podrían ser resultado de múltiples introducciones (Simonsen *et al.* 2008; Marsico *et al.* 2011). En ambos trabajos el parecido genético de las poblaciones de Estados Unidos, República Dominicana y Puerto Rico apoyó la conclusión de que la relación comercial entre estos tres países ha favorecido la introducción de *C. cactorum* en Estados Unidos. Posteriormente, Andraca-Gómez *et al.*

(2015) encontraron que el agrupamiento de los haplotipos de COI basado en las similitudes genéticas es consistente con las trayectorias de huracanes más frecuentes en la región del Caribe. Los trabajos anteriores muestran que tanto el comercio como los fenómenos meteorológicos podrían definir la estructura genética de las poblaciones.

El propósito de este trabajo fue aportar evidencia con marcadores neutrales hipervariables para validar o discriminar entre las explicaciones previas sobre los agentes de dispersión de *C. cactorum* en la región invadida del Caribe y Florida. Ya que el comercio está siendo controlado, entender la importancia de los huracanes es relevante para predecir el riesgo de futuras invasiones. Al tratarse de una invasión reciente, es posible que los patrones de dispersión más detallados no se vean reflejados, por lo tanto es necesario utilizar marcadores más sensibles y con una mayor resolución, como los microsátélites (Coisi *et al.* 2008). Igualmente, los nuevos métodos de aproximaciones bayesianas, utilizados en genética de poblaciones, permiten analizar diferentes escenarios de dispersión utilizando datos históricos y moleculares (Guillemaud *et al.* 2010).

En este estudio se caracterizó la estructura genética de dos poblaciones nativas (Argentina) y diez poblaciones invadidas (Caribe y Florida) de *C. cactorum* que abarcan toda el área de distribución del insecto en la región. Se utilizaron microsátélites nucleares para abordar las siguientes preguntas: 1) ¿La diferenciación genética entre poblaciones en la zona invadida está determinada por la distancia geográfica, factores ambientales como los huracanes, y/o tráfico comercial? 2) ¿En qué medida los huracanes y evidencia previa de tráfico comercial entre algunas de las islas del Caribe y Florida han condicionado el movimiento de genes hacia el continente? Si los patrones históricos espaciales de las trayectorias de los huracanes y tormentas tropicales han condicionado la distribución de la variación genética y la diferenciación entre poblaciones, se espera la existencia de al menos dos grupos genéticos consistentes con el patrón espacial sugerido por las probabilidades de incidencia anual de huracanes en el Caribe (las zonas oscuras tienen mayor incidencia por lo tanto mayor similitud, Figura 1) Si existe mayor similitud genética entre aquellas poblaciones con mayor intercambio comercial (Estados Unidos, República Dominicana y Puerto Rico) entonces el intercambio comercial no debería descartarse como un agente importante de dispersión secundaria y como la causa de la invasión al continente a través de Florida (Figura 1 →C).



**Figura 1.-** En el mapa se muestran las zonas de mayor incidencia de Huracanes en el Caribe y Atlántico (las zonas oscuras representan las regiones por donde es más recurrente el paso de los huracanes). → C representa la ruta con mayor actividad comercial (Estados Unidos, República Dominicana y Puerto Rico).



## Método

### *Muestreo y análisis genético*

Para la caracterización genética se utilizaron 230 larvas de *Cactoblastis cactorum* colectadas en 2011 y 2012 en 12 poblaciones; diez de ellas se encuentran en el área invadida en el Caribe y Estados Unidos y dos dentro del área de distribución nativa en la provincia de Corrientes, Argentina. Esta provincia es importante en la historia de dispersión de *C. cactorum*, ya que fue la zona de donde fueron tomados los individuos introducidos a Australia y posteriormente al Caribe para el control biológico de *Opuntia* sp (Zimmermann *et al.* 2007). El número de individuos utilizados en cada población varió entre dos y 30 individuos y este dependió de la cantidad de plantas encontrada en cada población, ya que para evitar coleccionar larvas provenientes de la misma puesta se coleccionó únicamente una larva por cladodio (Tabla 1).

**Tabla 1.** Localización y tamaño poblacional (N) de las poblaciones muestreadas en el área invadida por *Cactoblastis cactorum* en el Caribe y Florida y en la región nativa de la Provincia de Corrientes (Argentina).

Población	País	Coordenadas	N
<b>INTRODUCIDAS</b>			
<b>1.- Antigua</b>	Antigua	16° 59' 52.8"N 61° 45' 16.5"O	15
<b>2.- Nevis</b>	Nevis	17° 6' 51.2"N 62° 32' 53.2"O	6
<b>3.-Guanica</b>	Puerto Rico	17° 56' 52.7"N 66° 52' 42.2"O	24
<b>4.-La Romana</b>	Rep. Dominicana	18° 29' 45.4"N 68° 59' 23.3"O	20
<b>5.- Palisadores</b>	Jamaica	17° 56' 52.7"N 66° 52' 42.2"O	14
<b>6.-Santiago de Cuba</b>	Cuba	19° 57' 42.3"N 75° 41' 23.6"O	29
<b>7.-Trinidad</b>	Cuba	21° 45' 43.2"N 80° 0' 33.9"O	30
<b>8.- Pinar del Rio</b>	Cuba	22° 8' 23.2"N 83° 58' 13"O	30
<b>9.- Highlands</b>	Estados Unidos	27°27.994' N 81°26.820' O	15
<b>10.- Lee County</b>	Estados Unidos	26°27.085' N 82°7.392' O	2
<b>NATIVAS</b>			
<b>11.-Ayuí</b>	Argentina	31°11.727'S 58°02.797'O	24
<b>12Yuquerí</b>	Argentina	31°22.917'S 58°07.718'O	20

La extracción de ADN se realizó con el kit DNEasy® blood & tissue (QIAGEN, Maryland, USA, cat. 60504), luego este se cuantificó y se diluyó para tener alícuotas con una concentración de 20 ng/μl. Estas diluciones fueron utilizadas en la realización de las reacciones de PCR. Para la caracterización de los genotipos y la variación poblacional de *C. cactorum* se utilizaron microsatélites nucleares obtenidos en este estudio, por ser la primera vez que se usó esta técnica en la especie y en especies cercanas, fue necesario construir una librería de oligonucleótidos de microsatélites (Genetic Marker Services <http://www.geneticmarkerservices.com>). La librería consistió en el diseño de un total de 29 oligonucleótidos de microsatélites. Realizamos pruebas de estandarización para la amplificación y estimación del polimorfismo. Del total de oligonucleótidos probados, solo 14 pudieron amplificarse sin problemas para la mayoría de los individuos (tabla 2).

Para la estandarización de las reacciones de PCR se probaron condiciones de temperatura de cada primer de manera individual. Aquellos oligonucleótidos que no presentaron problemas de amplificación fueron marcados con fluoróforos (Applied Biosystems) para poder realizar el análisis de fragmentos con ayuda de un secuenciador. Mezclando temperatura de alineamiento, fluoróforo y tamaño alélico se formaron 4 paquetes de oligonucleótidos para incluir más de un microsatélite en cada PCR (multiplex). Para amplificar las muestras utilizamos un programa de PCR touchdown con una desnaturalización inicial por 10 min a 95°C, seguido de 6 ciclos con 1 min de desnaturalización a 94°C, para la alineación la temperatura disminuye 1°C cada ciclo en un intervalo de 60-55°C por 1 min, elongación por 1 min a 72°C; seguido de 12 ciclos, de desnaturalización por 1 min a 94°C, alineación por 1 min a 57°C, elongación por 1 min a 72°C; después 12 ciclos, de desnaturalización por 1 min a 94°C, alineación por 1 min a 56°C, elongación por 1 min a 72°C; Finalmente 5 min de elongación final a 72°. Para la PCR utilizamos Multiplex PCR Kit™ (Qiagen, EUA) los oligonucleótidos a 5 pmol y 1 μl de DNA, para un volumen final de 5μl. Los productos de PCR fueron enviados a Core DNA sequencing Facility de la Universidad de Illinois para ser analizados con un secuenciador de Applied Biosystem (3730 xl). Los alelos se identificaron utilizando el programa GeneMarker (V1.9).

**Tabla 2.** Oligos de microsatélite para *Cactoblastis cactorum* utilizados para el análisis de la variación genética poblacional

<b>Primer</b>	<b>5'</b>	<b>3'</b>	<b>Motivo</b>	<b>Bp</b>
<b>cc11</b>	CCGGTCGTAAGTGGCTTAAA	TCATCCTTTTTGTCCCACTCT	(ac)9	192-234
<b>cc12</b>	CACAATGGCTCCCGACTACT	ACTGGCTGGTCTGTCTGGTT	(tc)15	222-286
<b>cc13</b>	CCATCATTGGGGGAAAAA	ATGGTGACACTGGCAGAATG	(gt)9	115-149
<b>cc15</b>	CGAGCAGGCTCATACTT	CATGACGTTCTCGGATTATGG	(gt)8	95-119
<b>cc16</b>	GCGGGAAGCTCATTGTTTAT	CGGTCTTTCTTTTGCATCA	(ga)12	152-190
<b>cc3</b>	TAAACATAAACACAGTGCTGCC	TGAGGTCCAATAATGGTCAG	(gt)10	138-164
<b>cc4b</b>	TGTGTGCGTGTATTGCGTA	GAGTTGCATGTTAGTCGCATTT	(gt)8	80-130
<b>cc59</b>	CAACTTCTCTGCTCTCGTTC	CGACATTAACCTTCGATCAAC	(gt)11	101-117
<b>cc6</b>	CCCTTGATGATCACCTTTTCG	TTTAACCTCCACGCAAAAC	(ac)11	119-143
<b>cc60</b>	AGGTCAATGTGTGTGTGTGT	GTACCTCTATCAAGAGTTTCG	(tg)11	85-117
<b>cc63</b>	CACCAGCCAAGGTCAGTCTT	CAAACGTCGTCATTAACATGG	(ac)8	130-136
<b>cc65</b>	TTCCTGTTTCAAGCCCTTTC	AATCGTGGGATTTGCCATTA	(ac)10	176-220
<b>cc6b</b>	CACACGAGATAATGTGATAACAGG	AATGTGTGTGTGTCGTGTG	(ac)9	81-122
<b>cc7b</b>	CATAAGTATCCGGGACATGC	TTTCTACATAAAAACATTTCAACCA	(gt)11	130-162

### ***Variación intra e inter poblacional.***

Se estimaron para cada población, el número promedio de alelos (NA), la heterocigicidad observada ( $H_o$ ), la heterocigicidad esperada ( $H_e$ ), el coeficiente de endogamia ( $F_{is}$ ) y la riqueza alélica por rarefacción (RA) con el programa FSTAT 2.9.3. (Goudet 2002). La riqueza por rarefacción se calcula debido a que no todas las poblaciones tienen un tamaño poblacional similar, esta estandarización del número de alelos se basó en el tamaño mínimo poblacional y hace posible comparar la diversidad genética entre muestras. La frecuencia de alelos nulos se estimó en el programa FreeNA (Chapuis & Estoup 2007). El equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W), la existencia de desequilibrio de ligamiento entre loci y la diferenciación entre poblaciones ( $F_{ST}$ , Wright 1922) se evaluó utilizando el programa GENEPOP (Raymond & Rousset 1995). Adicionalmente en MSA 4.05 (Dieringer *et al.* 2003) se calculó la distancia basada en alelos compartidos ( $D_{ps}$ , Bowcoch *et al.* 1994) Los valores de  $f$  y distancia fueron calculados únicamente con los loci que se encontraban en equilibrio de H-W en la mayoría de las poblaciones.

### ***Aislamiento por distancia y conectividad***

El efecto de la distancia geográfica sobre las diferencias genéticas (aislamiento por distancia) entre las poblaciones fue evaluado mediante la correlación entre las matrices de distancias genéticas, [ $F_{ST}/(1-F_{ST})$ ];  $D_{ps}$  y de las distancias euclidianas entre las poblaciones ( $b_{log}$ ). Las distancias euclidianas fueron calculadas en el programa GenAlEx 6.5 (Peakall & Smouse 2006). Para analizar si existe una relación entre la distancia genética y las zonas de mayor incidencia de huracanes (Figura 1), se construyó una matriz de resistencia entre pares de poblaciones utilizando el programa CIRCUITSCAPE (McRae & Shah 2009) a partir de un mapa de conductancias (S1) basado en la probabilidad de incidencia (Landsea 1993; Landsea *et al.* 1996; Lugo *et al.* 2000). Por ejemplo, aquellas poblaciones que se encuentren en zonas de alta probabilidad de paso de huracanes tendrán una baja resistencia (zonas oscuras del mapa, S1), de modo que los valores de resistencia entre poblaciones estarán en función del número de celdas que existan entre poblaciones así como los valores que estas tengan. Las hipótesis de aislamiento por distancia y resistencia se realizaron utilizando la prueba de Mantel (Mantel 1967) y Mantel correlogramas (Legendre & Legendre 1998), con el paquete Vegan (Oksanen 2009) y mpmcorrelogram en R con 10,000 permutaciones.

Para inferir el número potencial de poblaciones en el Caribe, así como para analizar qué tan diferenciadas se encontraban respecto a las poblaciones nativas, se utilizó STRUCTURE v 2.3.3 (Pritchard *et al.* 2000). Se realizaron 2 análisis, uno donde se incluyeron las poblaciones de Argentina (2) y el Caribe (10) y otro donde solo se incluyeron las poblaciones del Caribe para poder evaluar si existe estructura en las poblaciones invadidas. Como se trata de poblaciones con un origen común, se escogió el modelo *Admixture* con las frecuencias alélicas correlacionadas. Dado que se conoce la localización exacta donde fueron realizadas las colectas y estas son unidades discretas de muestreo, se utilizaron las poblaciones como referencia (*prior*) (Pritchard *et al.* 2007). Cada corrida consistió en  $10^5$  cadenas de Markov, seguida de  $10^6$  iteraciones para 20 réplicas para cada valor de  $k$  (número de grupos); este último varió entre uno y nueve. Para evaluar cuál es el valor de  $k$  al que mejor se ajustaron los datos se examinaron los valores de probabilidad logarítmica para cada  $k$  utilizando el método de Evanno (Evanno *et al.* 2005) (<http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>). Debido a que el programa

STRUCTURE supone que no existen alelos nulos y asume equilibrio de H-W, también fueron eliminados los cuatro loci que no cumplían con esas condiciones.

### ***Identificación de poblaciones fuente***

Calculamos los migrantes de primera generación para identificar la fuente de las poblaciones recientemente introducidas aun cuando existe poca diferenciación con la población de la que procede (Pascual *et al.* 2007) (p. e. valores pequeños de  $F_{ST}$ ). La fuente más probable de procedencia de cada nueva población de *C. cactorum* en el Caribe y Estados Unidos fue estimada analizando los valores de  $F_{ST}$  de todos los pares de poblaciones y el promedio individual de las probabilidades de asignación de cada individuo de una población  $i$  al resto de las poblaciones. La probabilidad  $L_i$  fue calculada con GeneClass 2 (Piry *et al.* 2004). El análisis de migrantes de primera generación se realizó simulando una población de 10,000 individuos y el método de asignación utilizado fue el de Rannala & Mountain (1997). Con este análisis se obtuvo la probabilidad de asignación de cada individuo a una población, que puede ser diferente a aquella en la que fue colectado.

Este análisis evalúa la probabilidad de pertenencia de cada individuo a las diferentes poblaciones; si el análisis le asigna a un individuo una probabilidad estadísticamente mayor de pertenecer a otra población a aquella en la que fue colectado, se le cataloga como migrante de primera generación. Una vez que se tienen los valores de probabilidad de cada individuo, se suman todas las probabilidades para estimar entre que par de poblaciones existe mayor probabilidad de intercambio de individuos.

### ***Análisis ABC***

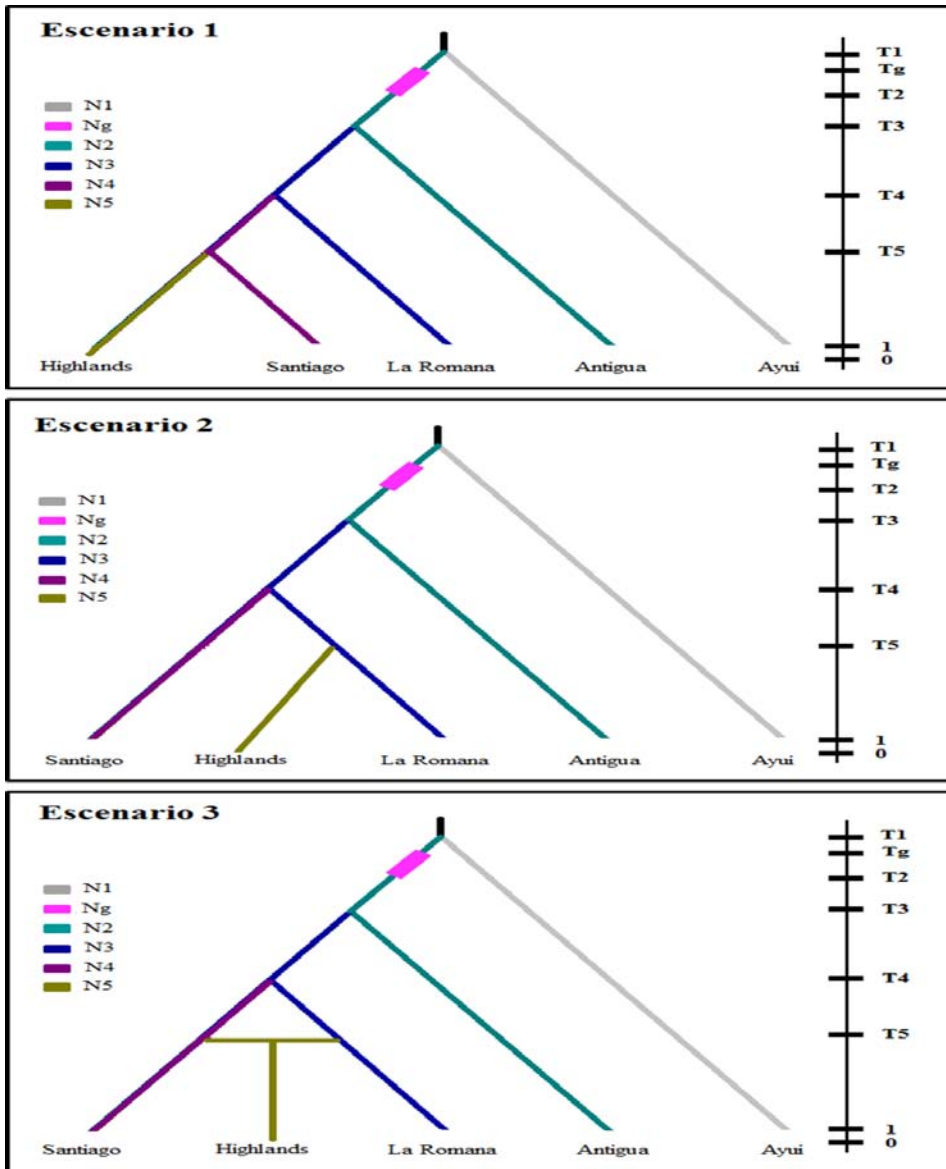
Un análisis de prueba de hipótesis de las posibles rutas de invasión fue utilizado para evaluar el valor potencial que han tenido los huracanes y el comercio en la dispersión de *C. cactorum* en el Caribe y Atlántico. En el análisis se utilizaron 5 poblaciones de las 12 colectadas: Ayuí, (Argentina); Antigua; La Romana (República Dominicana); Santiago de Cuba (Cuba) y Highlands (Estados Unidos). Las poblaciones utilizadas fueron aquellas para las cuales se cuenta con las fechas registradas de introducción de los insectos en el Caribe,

los tamaños muestrales de las poblaciones y las similitudes genéticas tomando en cuenta los valores de  $F_{ST}$  pareadas y los análisis de STRUCTURE.

El método de Análisis Bayesiano Computacional (ABC) permite inferir escenarios complejos que consideren la historia de la invasión, acumulando evidencia demográfica y genética (cuellos de botella, múltiples introducciones o eventos de mezcla). Una ventaja en el uso de esta herramienta es que se puede incluir en el análisis poblaciones “fantasma”. Es decir, poblaciones que son importantes en la construcción de la hipótesis y de la cual no contamos con individuos colectados. Para analizar posibles rutas de invasión de *C. cactorum* en las islas del Caribe y Estados Unidos utilizamos el programa DIYABC 1.0 (Cournet *et al.* 2008) bajo tres posibles escenarios. En todos ellos la población original fue Ayuí, Argentina, pasando primero a una población fantasma que representa introducciones intermedias en Australia y Sudáfrica, antes de ser llevado al Caribe. El arribo al Caribe se simuló con los datos de la población de Antigua. De acuerdo con las fechas de introducción en otras islas, se consideró que República Dominicana representaba el siguiente paso hacia la Península de Florida. A partir de República Dominicana se consideraron tres posibles variantes en la ruta de invasión: 1) Se consideró que la dispersión ocurrió de República Dominicana a Cuba y posteriormente a Estados Unidos (Figura 2, Escenario 1). Esta hipótesis apoya la idea de que la invasión secundaria ocurrió de acuerdo a un patrón de dispersión mediado por la trayectoria de los huracanes desde las Antillas hacia la península de Florida. Por lo tanto, las poblaciones de Cuba habrían sido el paso anterior a la entrada a Florida. Poblaciones por las que han pasado más de 27 huracanes desde 1980 (año en que fue detectado *C. cactorum* en Cuba) y 2011 (año de las colectas) 2) Se propuso una bifurcación a partir de República Dominicana, de la cuál emigraron individuos independientemente a Cuba y Estados Unidos (Figura 2, Escenario 2). Esta hipótesis considera que la llegada del insecto a Florida estuvo asociada con el tráfico comercial con República Dominicana. y 3) Se asumió una combinación de la primera y segunda hipótesis: la población de Cuba se originó a partir de la de República Dominicana y la de Estados Unidos se formó por la combinación de dos poblaciones fuente, Cuba y República Dominicana (Figura 2, Escenario 3). Es decir que posiblemente tanto el tráfico comercial como la dispersión natural afectaron el movimiento de genes a Florida y la ruta de invasión.

Se ha descrito que *C. cactorum* tiene generalmente 2 generaciones por año, tanto en las distribución nativa como en las nuevas regiones donde se ha establecido (Dodd 1940; Pettey 1948, Mann 1969), este dato se utilizó en la construcción de los modelos. Aquellos tiempos como Tg (introducción a Australia) y T2 (introducción a Antigua) de los cuales se sabe el año en el que fueron introducidos los individuos de *C. cactorum* a Australia y Antigua, respectivamente, se dejaron fijos. El resto de las fechas señalan cuando *C. cactorum* fue registrado por primera vez en la población, debido a que no se sabe la fecha exacta de ingreso se pone un intervalo, evitando que los intervalos se solapen. Ya que los microsatélites siguen un modelo de mutación de paso a paso, es decir, que la diferencia entre alelos está en función del motivo de repetición (p. e. si se trata de un dinucleótido, la diferencia de cada alelo será de 2 pares de bases) se supone una tasa de mutación uniforme a excepción del valor promedio SIN (single nucleotide instability) al cual fue asignado una distribución log-uniforme (Tabla 3).

Se realizaron tres millones de simulaciones en total (un millón por escenario) y se evaluó la probabilidad posterior de cada uno usando una regresión logística de los estadísticos de resumen observados y los generados por el programa DIYABC (Cornuet *et al.* 2008). Los estadísticos generados con el programa fueron número de alelos, diversidad genética, varianza, Garza-Williamson's M,  $F_{ST}$  e índice de clasificación. Finalmente, se realizó un análisis de confianza en la elección del escenario. Esta prueba permite estimar cuantas veces se escogió el escenario incorrecto (Error tipo I) y cuando se le asignó la mayor probabilidad a un escenario que no era el de mayor ajuste (Error tipo II) (Cornuet *et al.* 2008). Para el análisis de confianza se agregaron a los estadísticos ya calculados la distancia de alelos compartidos y la distancia  $(d\mu)^2$ , para corroborar los modelos.



**Figura 2.** Esquema de los 3 escenarios posibles evaluados con el modelo ABC. (Los valores de  $N_x$  y  $T_x$  están establecidos en la Tabla 3. 0= Colectas en 2012 y 1= colecta en 2011)



**Tabla 3.** Parámetros utilizados para la simulación de datos en el modelo ABC.

<b>Parámetros</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Distribución</b>
<b>N1, N2, N3, N4, N5, Ng</b>	10	3000	Uniforme
<b>Db1, db2, db3,db4,db5,dbg</b>	1	10	Log-Uniforme
<b>N1b, N2b, N3b, N4b, N5b, Ngb</b>	2	200	Uniforme
<b>T1 (Argentina)</b>	200	1000	Uniforme
<b>Tg (Australia)</b>	172	172	Uniforme
<b>T2 (Antigua)</b>	104	104	Uniforme
<b>T3 (República Dominicana)</b>	80	100	Uniforme
<b>T4 (Cuba)</b>	64	74	Uniforme
<b>T5 (Estados Unidos)</b>	44	54	Uniforme
<b>R</b>	0.1	0.9	

## RESULTADOS

### *Diversidad genética y diferenciación*

No se detectó desequilibrio de ligamiento entre los 14 loci analizados. Sin embargo los loci 7b, 16, 65 y, 6b presentaron una frecuencia de alelos nulos mayor al 20%, estuvieron fuera del equilibrio de H-W y fueron eliminados de los análisis. La población que tuvo en promedio mayor número de alelos (NA) fue Yuquerí en Argentina con 3.8, mientras Lee County, Estados Unidos presentó la menor cantidad, 1.6. La riqueza alélica (RA) fue similar para las doce poblaciones analizadas, con un promedio de 2.0 (Tabla 4). Las poblaciones introducidas de Highlands (0.46), Nevis (0.371) y La Romana (0.397) presentaron los niveles de heterocigocidad más altos y los valores más bajos las tuvieron Lee County (0.25) y Palisadores (0.193). Los valores de  $F_{IS}$  muestran las poblaciones de Ayuí, Antigua, Nevis y Santiago presentaron una deficiencia de heterocigos ( $H_o$ ) respecto a los esperados bajo el principio de H-W (Tabla 4).

Los niveles de diferenciación poblacional pareada  $F_{ST}$  y  $D_{ps}$  variaron entre poblaciones. La menor diferenciación se observó entre Antigua y Nevis ( $F_{ST}= 0.012$ ; S3), mientras que la mayor fue entre Puerto Rico y Palisadores, Jamaica ( $F_{ST}= 0.47$ ) (S3). Para  $D_{ps}$  las poblaciones que comparten más alelo son La romana y Trinidad ( $D_{ps}= 0.133$ ); Nevis y Trinidad ( $D_{ps}= 0.131$ ) y al igual que las que comparten menos alelos y por lo tanto se parecen menos son Puerto Rico y Palisadores ( $D_{ps}= 0.469$ ); Puerto Rico y Pinar ( $D_{ps}=0.549$ ) (S4). Los valores de diferenciación de las dos poblaciones de Argentina con la región invadida del Caribe y Estados Unidos variaron entre 0.100 y 0.479. Las correlaciones entre las distancias genéticas ( $F_{ST}$ ,  $D_{ps}$ ), geográfica y resistencia dependiendo del estimador de variación genética (Tabla 5), obteniendo el valor más alto entre la resistencia y la diferenciación con los valores de  $F_{ST}(r=0.435$ ;  $P=0.008$ ). Los correlogramas de mantel muestran una relación negativa en distancias geográficas pequeñas (Figura 3A y C). Respecto a la relación de la correlación espacial de las distancias genéticas debida a la trayectoria de los huracanes se observa que a resistencias pequeñas esta es negativa, conforme la resistencia aumenta la relación es positiva, el patrón observado es similar para ambos estimadores de diversidad genética ( $F_{ST}$  y  $D_{ps}$ ) (Figura 3B y D).

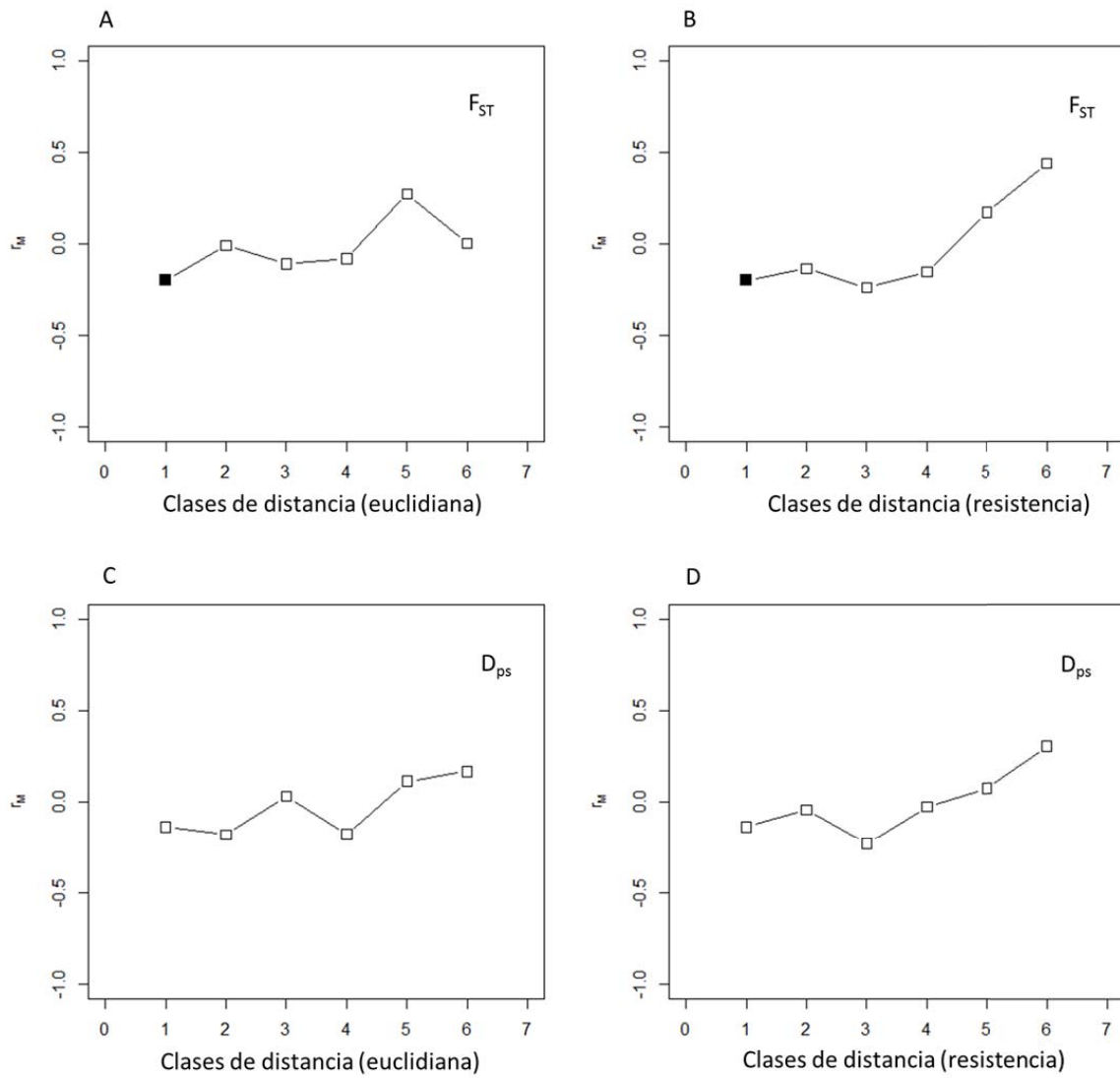
El análisis de STRUCTURE reveló que el valor que maximiza la probabilidad de agrupación de la diversidad de las poblaciones es  $K=2$  (Figura 4 A y B). Los dos grupos formados diferencian las poblaciones de Argentina de las poblaciones introducidas. Cuando se analizan solamente las poblaciones del Caribe, el análisis también sugiere la presencia de dos grupos. El primero incluye en su mayoría individuos de las poblaciones de Palisadores, Santiago, Trinidad, Highlands y Lee Country, mientras que el segundo fue conformado en su mayoría por individuos de Antigua, Nevis, Puerto Rico y La Romana (Figura 4 A).

**Tabla 4.** Promedio del número de alelos (NA), heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y esperada ( $H_e$ ), riqueza alélica (RA) e índice de endogamia ( $F_{IS}$ ) para 10 microsátelites en 10 localidades de *Catoblastis cactorum* en el Caribe y Argentina (entre paréntesis se muestran los valores de desviación estándar. (\*) Valores de  $F_{IS}$  significativos).

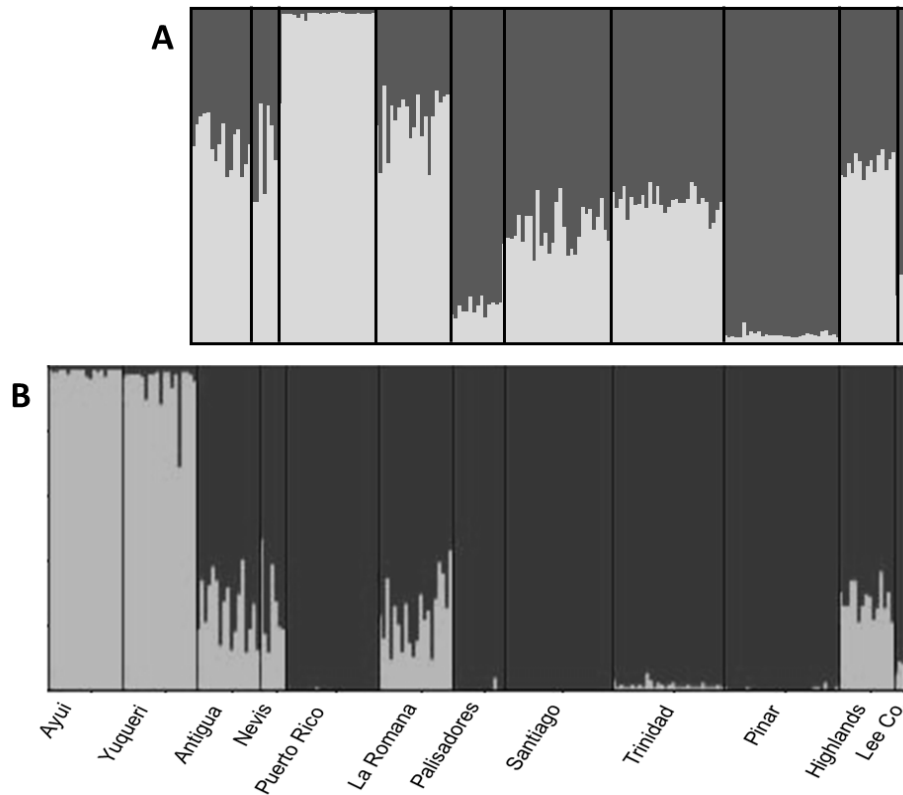
<b>Población</b>	<b>NA</b>	<b><math>H_o</math></b>	<b><math>H_e</math></b>	<b>RA</b>	<b><math>F_{IS}</math></b>
<b>Ayuí</b>	3.3 (1.49)	0.383 (0.277)	0.487 (0.214)	2.016 (0.463)	0.213*
<b>Yuquerí</b>	3.8 (1.31)	0.505 (0.263)	0.537 (0.247)	2.185 (0.560)	0.062
<b>Antigua</b>	3 (1.33)	0.314 (0.175)	0.425 (0.213)	1.849 (0.439)	0.266*
<b>Nevis</b>	3 (1.41)	0.371 (0.225)	0.479 (0.222)	1.992 (0.476)	0.239*
<b>Puerto Rico</b>	2 (0.94)	0.282 (0.27)	0.258 (0.252)	1.494 (0.475)	-0.14
<b>La Romana</b>	3.3 (1.88)	0.393 (0.183)	0.47 (0.226)	1.972 (0.537)	0.14
<b>Palisadores</b>	2.2 (1.22)	0.193 (0.205)	0.23 (0.248)	1.453 (0.469)	0.167
<b>Santiago</b>	2.7 (0.82)	0.309 (0.178)	0.35 (0.197)	1.687 (0.378)	0.109*
<b>Trinidad</b>	3.1 (2.33)	0.38 (0.29)	0.369 (0.28)	1.765 (0.618)	-0.027
<b>Pinar del Rio</b>	2.7 (0.82)	0.35 (0.199)	0.37 (0.226)	1.741 (0.444)	0.034
<b>Highlands</b>	2.3 (1.16)	0.46 (0.296)	0.386 (0.256)	1.767 (0.546)	-0.199
<b>Lee County</b>	1.6 (0.69)	0.25 (0.264)	0.283 (0.315)	1.600 (0.663)	0.167

**Tabla 5.** Resultados de Mantel y Mantel parcial para *Cactoblastis cactorum*. La hipótesis puesta a prueba fue si la matrices de distancias genéticas de  $D_{ps}$  (proporción de alelos compartidos) y  $F_{ST}$  ( $F_{ST}/(1-F_{ST})$ ) están relacionadas con la distancia geográfica (Aislamiento por distancia) y Resistencia (huracanes)

	<b>Distancia</b>		<b>Resistencia</b>	
	<b>r</b>	<b>p-value</b>	<b>r</b>	<b>p-value</b>
<i>D<sub>ps</sub></i>				
<b>Mantel</b>	0.252	0.03	0.277	0.05
<b>Mantel parcial controlado por Distancia</b>	-	-	0.139	0.229
<i>F<sub>ST</sub></i>				
<b>Mantel</b>	0.165	0.05	0.443	0.008
<b>Mantel parcial controlado por Distancia</b>	-	-	0.4689	0.005



**Figura 3.** Correlogramas de Mantel para la evaluación de la estructura espacial de *Cactoblastis cactorum* en las poblaciones introducidas del Caribe y Estados Unidos. A y C evalúan la relación que tienen las distancias genéticas (A,  $F_{ST}$  y C,  $D_{ps}$ ) y siete clases de distancia euclidiana. B y D evalúan la correlación entre las distancia genética (B,  $F_{ST}$  y D,  $D_{ps}$ ) y la resistencia (huracanes). Los círculos oscuros muestran la correlación significativa después de la corrección de Bonferroni

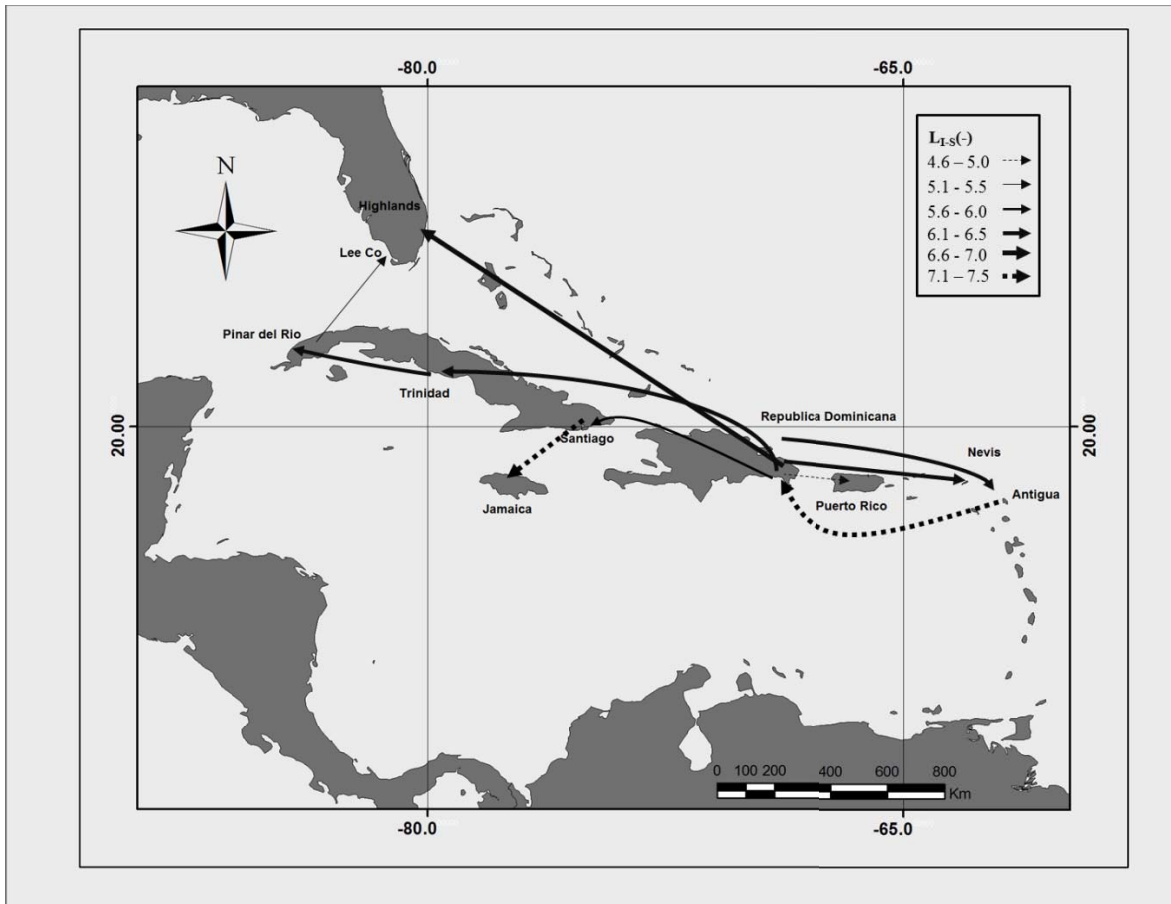


**Figura 4.** Resultado del análisis de STRUCTURE. (A) Muestra la distribución genética de las 10 poblaciones introducidas de *Cactoblastis cactorum*. (B) es la representación del agrupamiento geográfico que tienen las 2 poblaciones nativas (Ayuí y Yuquerí) y 10 poblaciones introducidas de (cada línea corresponde a un individuo y los colores representan la probabilidad de pertenecer a un grupo).

#### ***Identificación de población fuente***

El modelo probabilístico de Paetkau *et al.* (2004) identificó a 6 individuos como migrantes de primera generación uno en cada una de los siguientes pares de poblaciones: de Antigua a Nevis, de Puerto Rico a República Dominicana, de República Dominicana a Trinidad, Cuba; de República Dominicana a Santiago de Cuba, Cuba; de Pinar de Rio, Cuba a Lee County, Estados Unidos; y de Highlands, Estados a Lee County, Estados Unidos. Cuando se conjuntaron, la probabilidad más alta del promedio poblacional de asignación y el valor más bajo de  $F_{ST}$  (los valores están expresados en escala  $-\log$ ) (S3), se encontró que Antigua podría ser la población de procedencia de los individuos de República Dominicana. A partir

de esta población se está produciendo el flujo génico hacia varias poblaciones como son Trinidad, Santiago, Nevis, Antigua y Puerto Rico; mientras que Pinar, Cuba tiene una alta probabilidad de ser la población fuente de Lee County (Figura 5.)



**Figura 5.** En el mapa se muestran las poblaciones con la mayor probabilidad como fundadoras de las poblaciones más recientes de *Cactoblastis cactorum* en la región del Caribe (el grosor de las líneas corresponde al valor de probabilidad).

### ***Rutas de invasión.***

De los tres escenarios que fueron analizados en DIYABC, el que presentó una mayor consistencia entre los datos simulados y los reales fue el modelo tres con una probabilidad posterior de 0.7176. Recordemos que en este modelo la invasión del continente ocurrió por migración a través de Cuba y desde República Dominicana, es decir que Highlands, Estados Unidos sería resultado de una combinación de dos poblaciones fuente (Santiago de Cuba y La Romana, República Dominicana) (Figura 2, Escenario 3). El análisis de confiabilidad mostró que la probabilidad de error es baja (0.038 para el Error I y 0.0 para el Error II).

Como complemento a este resultado se hizo un segundo análisis STRUCTURE forzando a que el programa asigne solo dos grupos (Zachariah Gompert, comunicación personal). De esta forma se sugiere que la población de Estados Unidos tiene dos poblaciones fuente. Este análisis nos permite evaluar en qué proporción las poblaciones de origen contribuyen a la diversidad genética de Estados Unidos, los resultados asignan genéticamente a Highlands con mayor porcentaje a La Romana (Rep. Dominicana) que a Santiago (Cuba) (Tabla 6, valor en negritas).

**Tabla 6.** Valores de asignación de STRUCTURE para evaluar porcentaje de mezcla.

<b>Población</b>	<b>Grupo 1</b>	<b>Grupo 2</b>	<b>Número de individuos</b>
<b>La Romana</b>	0.372	<b>0.628</b>	20
<b>Santiago de Cuba</b>	0.687	0.313	29
<b>Highlands</b>	0.281	<b>0.719</b>	15



## Discusión

Los análisis de la distribución de la variación genética y de las rutas de invasión de *C. cactorum* apoyan la expectativa de que la dispersión natural posiblemente promovida por los huracanes y el comercio de cactáceas con fines ornamentales desde República Dominicana contribuyeron en el proceso de dispersión e invasión en el Caribe y Florida. A su vez, que la mayor probabilidad de migrantes de República Dominicana hayan establecido las poblaciones de Florida, que aquellos provenientes de Cuba sugiere que el tráfico comercial tuvo un efecto importante en la composición actual de la variación genética de las poblaciones invadidas del continente. Estos hallazgos apoyan resultados previos que utilizaron Citocromo oxidasa I (COI) como marcador neutral en los cuales se concluyó que la ruta comercial fue el agente de dispersión más importante en la invasión del continente (Simonsen *et al.* 2008; Marsico *et al.* 2011). Sin embargo, dado que el tráfico de cactáceas con fines ornamentales ha sido controlado, los agentes naturales de dispersión tendrán un papel relevante en futuros eventos de migración.

El intercambio comercial entre Estados Unidos y República Dominicana o la entrada constante de vuelos provenientes de islas de Caribe han propiciado diversos reportes de incautaciones de plantas de *Opuntia* infestadas por *C. cactorum* en ese país. En 1981 se interceptó material proveniente de un vivero de República Dominicana (Pemberton 1995). Después de esto, en 1991 se presentaron infestaciones tanto en viveros de Florida como de República Dominicana entre los que había existido intercambio de plantas. Incautaciones posteriores se dieron en embarques de plantas enviadas a Miami; así como plantas infestadas encontradas en el equipaje en el aeropuerto internacional de Dallas Texas. Basados en la constante posibilidad de entrada vía comercial de *C. cactorum* se ha postulado esta como una de las hipótesis más probable. La similitud entre el haplo grupo del este de Estados Unidos y República Dominicana (Simonsen *et al.* 2008) apoyan esta idea. Finalmente la información obtenida en este trabajo señala la ruta comercial como una de las opciones de expansión. La similitud genética entre los individuos de ambas poblaciones registrada en el programa STRUCTURE, la probabilidad de flujo de entre 6.6 y 7.0 entre Highlands, E.U. y La Romana, Rep. Dominicana, aportan pruebas a esa hipótesis.

Uno de los factores más importantes que se ha identificado en la dispersión de las especies invasoras se encuentran los vientos (Liebhold & Tobin 2008; Lander *et al.* 2014). Muchos insectos australianos han llegado desde Nueva Zelanda favorecidos por corrientes de viento, una de estas especies es el saltamontes *Eumetopina flavipes*, el cuál ha sido el más estudiado por ser el único vector del virus de la caña de azúcar *Ramu stunt* (Anderson *et al.* 2010; New 2016). En Francia la avispa *Megastigmus schimitscheki* muestra patrones de dispersión a larga distancia favorecida por corrientes de viento. Para el caso de la región Caribe, existe una dinámica de vientos en la cual se incluyen los huracanes, fenómeno temporal con corrientes de vientos de intensidades variables. Cuando se analiza la correlación genética- huracanes los resultados indican que son un factor que está moldeando la distribución de la variación genética entre las poblaciones del Caribe y Estados Unidos. Este patrón se encontró en los marcadores mitocondriales (COI) (Andraca-Gómez *et al.* 2015) y en los microsatélites nucleares presentados en este trabajo.

La diversidad genética en especies invasoras distribuidas en islas dependerá de que tan diversos eran los organismos que formaron esas poblaciones, del efecto de la deriva génica, la cantidad de flujo que haya entre las poblaciones y del número de introducciones (Frankham 1997; Dlugosch & Parker 2008; Warren *et al.* 2015). Nuestros análisis de variación de *C. cactorum*, utilizando microsatélites nucleares, muestran que diferentes procesos parecen estar modelando la diversidad genética en Caribe. Las poblaciones de Palisadores, Jamaica y Puerto Rico son poco diversas genéticamente, esto sugiere pocos individuos fundadores y/o un efecto muy fuerte de cuello de botella que llevó a las poblaciones a una pérdida de variación y los valores más altos de diferenciación genética ( $F_{ST}$ ,  $D_{ps}$ ) con el resto de las poblaciones. Sin embargo son poblaciones que no presentan una deficiencia significativa de heterocigos. Contrario a lo que sucede en las poblaciones de Antigua y Nevis en las cuales además de tener poca riqueza alélica, existe déficit de heterocigotos ( $F_{IS}$  positivos y significativos). Se esperaría que por ser las primeras poblaciones introducidas (Zimmermann *et al.* 2007) presentaran mayor variación, sin embargo fueron las poblaciones donde la cantidad de huéspedes disponibles fue menor (observaciones personales). Al existir una disminución de las poblaciones de *Opuntia* se produce un descenso en el número de individuos de *C. cactorum*. Al igual que en Sudáfrica, no se han extinto las poblaciones de la planta ni de *C. cactorum* pero se encuentran en

constantes oscilaciones demográficas lo cual podría estar propiciando la pérdida de alelos (Zimmermann *et al.* 2007).

Tomando en cuenta el flujo génico, la variación genética en las islas será menor si la distancia excede las capacidades del organismo de dispersarse propiciando pérdida de alelos y divergencia (Warren *et al.* 2015). Para el caso del Caribe, los huracanes parecen estar facilitando la expansión de *C. cactorum* entre islas por distancias de más de 500km. Sin embargo se observan pocos migrantes de primera generación y en todos los casos se tratan de poblaciones que están cercanas o en la misma trayectoria de los huracanes.

La estructura genética así como una mayor diversidad genética en las poblaciones invadidas que la encontrada en las nativas son indicadores de la existencia de más de un evento de introducción (Dlugosch & Parker 2008). Se encontró que cerca de 68% de los trabajos realizados en los que se compara la variación genética entre zonas invadidas e introducidas existe una disminución de variación genética, por lo tanto son resultado de un solo evento de introducción (Alexander *et al.* 2009, Astanei *et al.* 2008, Coisi *et al.* 2008, DeWalt *et al.* 2011, Doorduyn *et al.* 2010, Hassan *et al.* 2003, Maron *et al.* 2004, Puillandre *et al.* 2008, Rubinoff *et al.* 2010, Suarez *et al.* 2008, Stepien *et al.* 2002, Thuling *et al.* 2006, Tonione *et al.* 2011, Tsutsui *et al.* 2000). Marsico *et al.* (2011) llegan a la conclusión que en el Caribe no ha existido otra invasión además de la registrada en 1957 cuando fue llevada para control biológico desde Sudáfrica, ya que reconoce la presencia en el Caribe de haplotipos pertenecientes al mismo grupo de los encontrados en la región de Corrientes, Argentina, o a aquellos presentes en las poblaciones introducidas en Australia y Sudáfrica (Simonsen *et al.* 2008). En el caso de microsatélites, la diversidad genética (*Ho*, AR) fueron ligeramente mayores en Ayuí y Yuquerí, Argentina que en las 10 poblaciones invadidas analizadas. Sin embargo, existieron algunos alelos en el Caribe que no fueron reportados para Ayuí y Yuquerí, pero se encontraban ampliamente distribuidos en las poblaciones de Argentina (Capítulo 3 de esta tesis). La ausencia de estos alelos en Ayuí y Yuquerí podría estar más relacionada con pérdida de estos alelos posteriormente a la extracción de larvas para control biológico en Australia. Este resultado es similar a lo sucedido con los haplotipos de COI, que fueron encontrados en poblaciones de Sudáfrica, Australia y Estados Unidos y no en Argentina (Marsico *et al.* 2011).

*Cactoblastis cactorum* es un buen ejemplo de como un exitoso agente de control biológico se convierte en una especie invasora, por lo tanto una amenaza a la diversidad y la economía de varios países. Es pertinente analizar la conveniencia de introducir organismos como control biológico, así como estimar los posibles riesgos. En muchos casos las especies que invaden nuevos territorios fueron introducidos con este fin, sin tomar en cuenta que podrían encontrar cambiar de hospederos, características ambientales similares y factores que promueven su expansión (Liebhold *et al.* 2013; Yamanaka *et al.* 2015). El taquinido *Lespesia archipivora* introducido para controlar larvas de la polilla *Agrotis crinigera*, atacó posteriormente 10 especies más de lepidópteros (Funasaki *et al.* 1988). La catarina multicolores *Harmonia axiridys*, es una especie de origen asiático, ampliamente utilizada para controlar plagas de áfidos, sin embargo, esta catarina no solo ha sido capaz de expandir sus poblaciones, sino que también ha atacado poblaciones nativas de catarinas (Lombaert *et al.* 2011, Roy *et al.* 2012). En el caso de *C. cactorum* no se analizaron todas las posibilidades de su introducción en el Caribe, principalmente por ser introducido para controlar especies nativas, además de que la introducción fue realizada en una zona con alta diversidad de *Opuntia*. A pesar de ser un conjunto de islas que podría pensarse están aisladas, factores como la gran cantidad de huracanes cada año y el constante flujo de turismo y comercio entre islas han facilitado su dispersión. Esta alta posibilidad de dispersión y la disponibilidad de potenciales hospederos constituye un gran riesgo de una nueva introducción en México y por lo tanto una amenaza a la diversidad de *Opuntia* y de los cultivos de nopal y tuna.

En conclusión los datos obtenidos en este trabajo parecen mostrar que la ruta comercial fue muy importante, pero dado que ha sido controlada, futuros planes de prevención de invasiones de este insecto deberían considerar a los huracanes como vectores para el ingreso al continente.

## Bibliografía

- Alexander, J.M., Poll, M., Dietz, H., Edwards, P.J., 2009. Contrasting patterns of genetic variation and structure in plant invasions of mountains. *Diversity and Distributions* 15, 502-512.
- Anderson, C.D., Epperson, B.K., Fortin, M.-J., Holderegger, R., James, P.M.A., Rosenberg, M.S., Scribner, K.T., Spear, S., 2010. Considering spatial and temporal scale in landscape-genetic studies of gene flow. *Molecular Ecology* 19, 3565-3575. doi:10.1111/j.1365-294X.2010.04757.x.
- Andraca-Gómez, G., Ordano, M., Boege, K., Domínguez, C.A., Piñero, D., Pérez-Ishiwara, R., Pérez-Camacho, J., Cañizares, M., Fornoni, J., 2015. A potential invasion route of *Cactoblastis cactorum* within the Caribbean region matches historical hurricane trajectories. *Biological Invasions* 17, 1397-1406. doi:10.1007/s10530-014-0802-2.
- Astanei, I., Gosling, E., Wilson, J. I. M., Powell, E., 2005. Genetic variability and phylogeography of the invasive zebra mussel, *Dreissena polymorpha* (Pallas). *Molecular Ecology* 14, 1655-1666.
- Chapuis, M.P., Estoup, A., 2007. Microsatellite Null Alleles and Estimation of Population Differentiation. *Molecular Biology and Evolution* 24, 621-631. doi:10.1093/molbev/msl191.
- Ciosi, M., Miller, N.J., Kim, K.S., Giordano, R., Estoup, A., Guillemaud, T., 2008. Invasion of Europe by the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera*: multiple transatlantic introductions with various reductions of genetic diversity. *Molecular Ecology* 17, 3614-3627. doi:10.1111/j.1365-294X.2008.03866.x.
- Cornuet, J.-M., Santos, F., Beaumont M.A., Robert C.P, Marin, J.-M., Balding D.J., Guillemaud T., Estoup, A., 2008 Inferring population history with DIYABC: a user-friendly approach to approximate Bayesian computation. *Bioinformatics* 24, 2713-2719.
- Desneux, N., Wajnberg, E., Wyckhuys, K.A.G., Burgio, G., Arpaia, S., Narváez-Vasquez, C.A., González-Cabrera, J., Ruescas, D.C., Tabone, E., Frandon, J., Pizzol, J., Poncet, C., Cabello, T., Urbaneja, A., 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science* 83, 197-215. doi:10.1007/s10340-010-0321-6.

- DeWalt, S.J., Siemann, E., Rogers, W.E., 2011. Geographic distribution of genetic variation among native and introduced populations of Chinese tallow tree, *Triadica sebifera* (Euphorbiaceae). *American Journal of Botany* 98, 1128-1138.
- Dlugosch, K.M., Parker, I.M., 2008. Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions. *Molecular Ecology* 17, 431-449. doi:10.1111/j.1365-294X.2007.03538.x.
- Dieringer, D., Schlötterer, C., 2003. Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Molecular Ecology Notes* 3, 167-169.
- Dodd, A.P., 1940. The biological campaign against prickly pear. Commonwealth Prickly Pear Board. Brisbane, Australia.
- Doorduyn, L.J., Van Den Hof, K., Vrieling, K., Joshi, J., 2010. The lack of genetic bottleneck in invasive *Tansy ragwort* populations suggests multiple source populations. *Basic and Applied Ecology* 11, 244-250.
- Estoup, A., Guillemaud, T., 2010. Reconstructing routes of invasion using genetic data: why, how and so what? *Molecular Ecology* 19, 4113–4130. doi:10.1111/j.1365-294X.2010.04773.x.
- Estoup, A., Lombaert, E., Marin, J.-M., Guillemaud, T., Pudlo, P., Robert, C.P., Cornuet, J.-M., 2012. Estimation of demo-genetic model probabilities with Approximate Bayesian Computation using linear discriminant analysis on summary statistics. *Molecular Ecology Resources* 12, 846–855. doi:10.1111/j.1755-0998.2012.03153.x.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J., 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*, 14, 2611-2620.
- Fountain, T., Duvaux, L., Horsburgh, G., Reinhardt, K., Butlin, R.K., 2014. Human-facilitated metapopulation dynamics in an emerging pest species, *Cimex lectularius*. *Molecular Ecology* 23, 1071–1084. doi:10.1111/mec.12673.
- Frankham, R., 1997. Do island populations have less genetic variation than mainland populations?. *Heredity*, 78.
- Funasaki, G. Y., Lai, P. Y., Nakahara, L. M., Beardsley, J. W., Ota, A. K., 1988. A review of biological control introductions in Hawaii: 1890 to 1985.

- Goudet, J., 2002. Fstat ver. 2.9.3.2. Institute of Ecology, Biology Building, UNIL, CH-1015, Lausanne, Switzerland.
- Guillemaud, T., Beaumont, M.A., Ciosi, M., Cornuet, J.-M., Estoup, A., 2010. Inferring introduction routes of invasive species using approximate Bayesian computation on microsatellite data. *Heredity* 104, 88–99. doi:10.1038/hdy.2009.92.
- Guillemaud, T., Blin, A., Le Goff, I., Desneux, N., Reyes, M., Tabone, E., Tsagkarakou, A., Niño, L., Lombaert, E., 2015. The tomato borer, *Tuta absoluta*, invading the Mediterranean Basin, originates from a single introduction from Central Chile. *Scientific Reports* 5. doi:10.1038/srep08371.
- Habeck, D. H., Bennett, F. D., 1990. *Cactoblastis cactorum* Berg (*Lepidoptera: Pyralidae*), a phycitine new to Florida. Fla. Department Agric. & Consumer Services, Division of Plant Industry.
- Hassan, M., Harmelin-Vivien, M., Bonhomme, F., 2003. Lessepsian invasion without bottleneck: example of two rabbitfish species (*Siganus rivulatus* and *Siganus luridus*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 291, 219-232.
- Lander, T.A., Klein, E.K., Oddou-Muratorio, S., Candau, J.-N., Gidoïn, C., Chalon, A., Roig, A., Fallour, D., Auger-Rozenberg, M.-A., Boivin, T., 2014. Reconstruction of a windborne insect invasion using a particle dispersal model, historical wind data, and Bayesian analysis of genetic data. *Ecology and Evolution* 4, 4609-4625. doi:10.1002/ece3.1206.
- Landsea, C. W., 1993. A climatology of intense (or major) Atlantic hurricanes. *Monthly Weather Review* 121, 1703-1713.
- Landsea, C.W., Nicholls, N., Gray, W.M., Avila, L.A., 1996. Downward trends in the frequency of intense at Atlantic Hurricanes during the past five decades. *Geophysical Research Letters* 23, 1697-1700. doi:10.1029/96GL01029.
- Lawson Handley, L.J., Estoup, A., Evans, D., Thomas, C., Lombaert, E., Facon, B., Aebi, A., Roy, H., 2011. Ecological genetics of invasive alien species. *BioControl* 56, 409-428. (doi:10.1007/s10526-011-9386-2)
- Legendre, P., Legendre, L., 1998. Numerical ecology: second English edition. *Developments in environmental modelling*, 20.

- Liebhold, A.M., Tobin, P.C., 2008. Population Ecology of Insect Invasions and Their Management. *Annual Review of Entomology*. 53, 387-408.  
doi:10.1146/annurev.ento.52.110405.091401.
- Liebhold, A.M., McCullough, D.G., Blackburn, L.M., Frankel, S.J., Von Holle, B., Aukema, J.E., 2013. A highly aggregated geographical distribution of forest pest invasions in the USA. *Diversity and Distribution* 19, 1208-1216.  
doi:10.1111/ddi.12112.
- Lombaert, E., Guillemaud, T., Thomas, C. E., Lawson Handley, L. J., Li, J., Wang, S., Pang, H., Goryacheva, I., Zakharov, I. A., Jouselin, E., Poland, R. L., Migeon, A., Van Lenteren, J., De Clercq, P., Berkvens, N., Jones, W., Estoup, A., 2011. Inferring the origin of populations introduced from a genetically structured native range by approximate Bayesian computation: case study of the invasive ladybird *Harmonia axyridis*. *Molecular Ecology* 20, 4654-4670.
- Lugo, A.E., Rogers, C.S., Nixon, S.W., 2000. Hurricanes, Coral Reefs and Rainforests: Resistance, Ruin and Recovery in the Caribbean. *AMBIO: A Journal of the Human Environment* 29, 106-114. doi:10.1579/0044-7447-29.2.106.
- Mann J., 1970. Cacti Naturalized in Australia and Their Control. Department of Lands, Brisbane.
- Mantel, N., 1967. The Detection of Disease Clustering and a Generalized Regression Approach. *Cancer Research* 27, 209–220.
- Maron, J. L., Vilà, M., Bommarco, R., Elmendorf, S., Beardsley, P., 2004. Rapid evolution of an invasive plant. *Ecological Monographs* 74, 261-280.
- Marsico, T.D., Wallace, L.E., Ervin, G.N., Brooks, C.P., McClure, J.E., Welch, M.E., 2011. Geographic patterns of genetic diversity from the native range of *Cactoblastis cactorum* (Berg) support the documented history of invasion and multiple introductions for invasive populations. *Biological Invasions* 13, 857–868. doi:10.1007/s10530-010-9874-9.
- McRae, B.H., Shah, V.B., Mohapatra, T.K., 2013. Circuitscape 4 User Guide. The Nature Conservancy. <http://www.circuitscape.org>.
- New, T.R., 2016. Alien Species and Insect Conservation. Springer International Publishing, Cham.

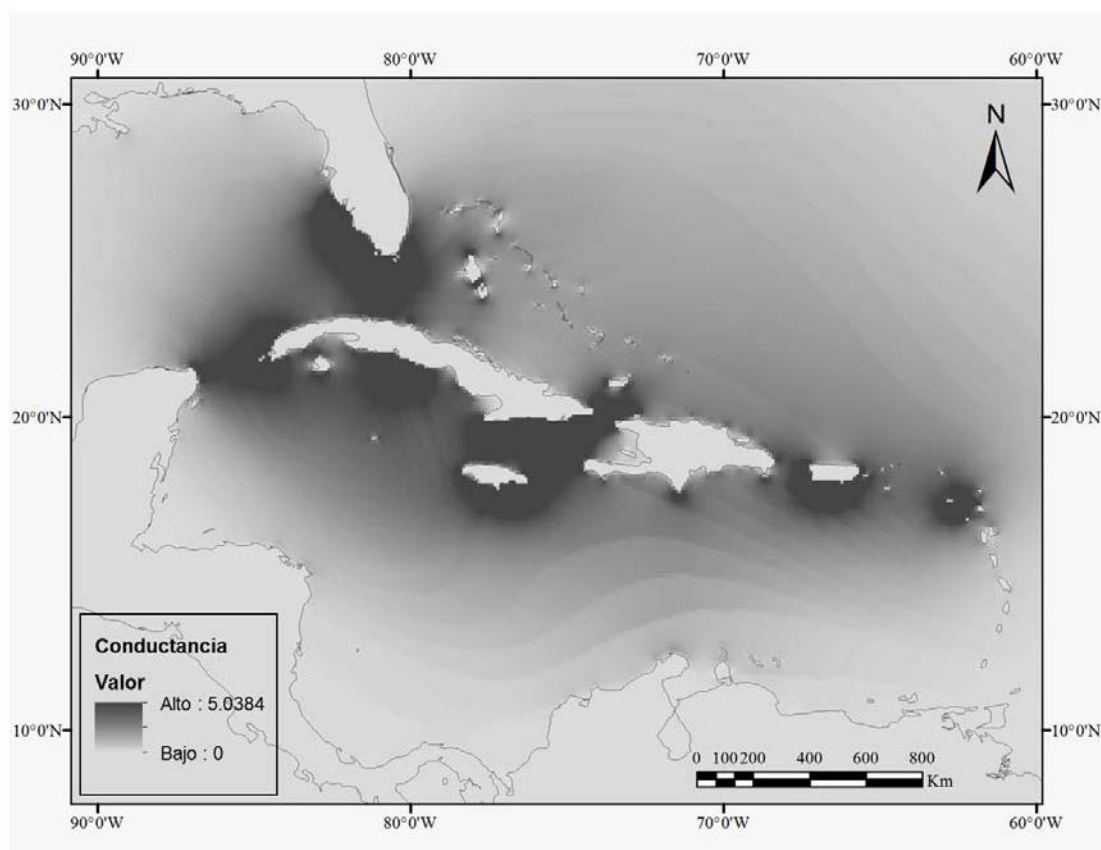


- Oksanen, J., 2009. Multivariate analysis of ecological communities in R: vegan tutorial. URL:[<http://cc.oulu.fi/jarioksa/opetus/metodi/vegantutor.pdf>].
- Paetkau, D., Slade, R., Burden, M., Estoup, A., 2004. Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation-based exploration of accuracy and power. *Molecular ecology* 13, 55-65.
- Pascual, M., Chapuis, M.P., Mestres, F., Balanyà, J., Huey, R.B., Gilchrist, G.W., Serra, L., Estoup, A., 2007. Introduction history of *Drosophila subobscura* in the New World: a microsatellite-based survey using ABC methods. *Molecular Ecology* 16, 3069–3083. doi:10.1111/j.1365-294X.2007.03336.x.
- Peakall, R., Smouse, P.E., 2006. Genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6, 288-295. doi:10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x.
- Pemberton, R.W., 1995. *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) in the United States. An immigrant biological control agent or an introduction of the nursery trade? *American Entomologist* 41, 230-232.
- Petty F.W., 1948. The biological control of prickly pear in South Africa. [Science Bulletin. Department of Agriculture and Forestry, Union of South Africa](#) 271: 1-163.
- Piry S, Alapetite A, Cornuet, J.-M., Paetkau D, Baudouin, L., Estoup, A., 2004 GeneClass2: A Software for Genetic Assignment and First-Generation Migrant Detection. *Journal of Heredity* 95, 536-539.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., Donnelly, P., 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945–959.
- Pritchard, J.K, Wen, X., Falush, D., 2007. Documentation for structure software: version 2.2. University of Chicago, Chicago, pp 1–36.
- Puillandre, N., Dupas, S., Dangles, O., Zeddou, J.L., Capdevielle-Dulac, C., Barbin, K., Torres-Leguizamon, M., Silvain, J.F., 2008. Genetic bottleneck in invasive species: the potato tuber moth adds to the list. *Biological Invasions* 10, 319–333.
- Puth, L.M., Post, D.M., 2005. Studying invasion: have we missed the boat? *Ecology Letters* 8, 715–721. doi:10.1111/j.1461-0248.2005.00774.x.
- Rannala, B., Mountain, J.L., 1997. Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94, 9197-9201.

- Raymond, M., Rousset, F., 1995. GENEPOP (Version 1.2): Population Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. *Journal of Heredity* 86, 248-249.
- Robertson, H.G., Hoffmann, J.H., 1989. Mortality and life-tables of *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Lepidoptera:Pyralidae) compared on two host-plant species. *Bulletin of Entomological Research* 79, 7-17.
- Roy, H.E., Adriaens, T., Isaac, N.J.B., Kenis, M., Onkelinx, T., San Martin, G., Brown, P.M.J., Hautier, L., Poland, R., Roy, D.B., Comont, R., Eschen, R., Frost, R., Zindel, R., Van Vlaenderen, J., Nedved, O., Ravn, H.P., Gregoire, J.-C., De Biseau, J.-C., Maes, D., 2012. Invasive alien predator causes rapid declines of native European ladybirds. *Diversity and Distributions* 18, 717–725.
- Rubinoff, D., Holland, B.S., Shibata, A., Messing, R.H., Wright, M. G., 2010. Rapid Invasion Despite Lack of Genetic Variation in the Erythrina Gall Wasp (*Quadrastichus erythrinae* Kim) 1. *Pacific Science* 64, 23-31.
- Simonsen, T.J., Brown, R.L., Sperling, F.A.H., 2008. Tracing an Invasion: Phylogeography of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) in the United States Based on Mitochondrial DNA. *Annals of the Entomological Society of America* 101, 899–905. doi:10.1093/aesa/101.5.899.
- Soberon, J., Golubov, J., Sarukhán, J., 2001. The Importance of *Opuntia* in Mexico and Routes of Invasion and Impact of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae). *Florida Entomologist* 84, 486–492. doi:10.2307/3496376.
- Stepien, C.A., Taylor, C.D., Dabrowska, K. A., 2002. Genetic variability and phylogeographical patterns of a nonindigenous species invasion: a comparison of exotic vs. native zebra and quagga mussel populations. *Journal of Evolutionary Biology* 15, 314-328.
- Suarez, A.V., Holway, D.A., Tsutsui, N.D., 2008. Genetics and behavior of a colonizing species: The invasive Argentine ant. *The American Naturalist* 172, S72-S84.
- Suckling, D.M., Sforza, R.F.H., 2014. What Magnitude Are Observed Non-Target Impacts from Weed Biocontrol? *PLOS ONE* 9, e84847. doi:10.1371/journal.pone.0084847.
- Thuling, C.G., Simberloff, D., Barun, A., Mccracken, G., Pascal, M., Islam, M.A., 2006. Genetic divergence in the small Indian mongoose (*Herpestes auropunctatus*), a widely distributed invasive species. *Molecular Ecology* 15, 3947-3956.

- Tonione, M.A., Reeder, N., Moritz, C.C., 2011. High genetic diversity despite the potential for stepping-stone colonizations in an invasive species of gecko on Moorea, French Polynesia. *PLoS One* 6, e26874.
- Tsutsui, N.D., Suarez, A.V., Holway, D.A., Case, T.J., 2000. Reduced genetic variation and the success of an invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97, 5948-5953. doi:10.1073/pnas.100110397.
- Warren, B.H., Simberloff, D., Ricklefs, R.E., Aguilée, R., Condamine, F.L., Gravel, D., Morlon, H., Mouquet, N., Rosindell, J., Casquet, J., Conti, E., Cornuault, J., Hernández-Palacios, J.M., Hengl, T., Norder, S.J., Rijdsdijk, K.F., Sanmartín, I., Strasberg, D., Triantis, K.A., Valente, L.M., Whittaker, R.J., Gillespie, R.G., Emerson, B.C., Thébaud, C., 2015. Islands as model systems in ecology and evolution: prospects fifty years after MacArthur-Wilson. *Ecology Letters* 18, 200-217. <https://doi.org/10.1111/ele.12398>.
- Webber, B.L., Raghu, S., Edwards, O.R., 2015. Opinion: Is CRISPR-based gene drive a biocontrol silver bullet or global conservation threat? *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112, 10565-10567. doi:10.1073/pnas.1514258112.
- Wilson, J.R.U., Dormontt, E.E., Prentis, P.J., Lowe, A.J., Richardson, D.M., 2009. Something in the way you move: dispersal pathways affect invasion success. *Trends in Ecology and Evolution* 24, 136-144. doi:10.1016/j.tree.2008.10.007.
- Wright, S., 1922. Coefficients of Inbreeding and Relationship. *The American Naturalist* 56, 330-338.
- Yamanaka, T., Morimoto, N., Nishida, G.M., Kiritani, K., Moriya, S., Liebhold, A.M., 2015. Comparison of insect invasions in North America, Japan and their Islands. *Biological Invasions* 17, 3049-3061. doi:10.1007/s10530-015-0935-y.
- Zimmermann, H.G., Bloem, S., Klein, H., 2007. *Cactoblastis cactorum*. The Biology, history, threat, surveillance and control of the cactus moth. FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture.

## Material Suplementario



**S1.** Mapa de conductancia para el mar Caribe y Atlántico obtenido con el programa CURCUITSCAPE a partir de los valores de incidencia de los huracanes.

**S2.** Matriz de Resistencias entre las 10 poblaciones invadidas de *Cactoblastis cactorum* en la región del Caribe.

	Antigua	Nevis	Puerto Rico	La Romana	Palisadores	Santiago	Trinidad	Pinar del Rio	Highlands	Lee Country
Antigua	0.000									
Nevis	0.008	0.000								
Puerto Rico	0.015	0.015	0.000							
La Romana	0.018	0.017	0.015	0.000						
Palisadores	0.029	0.028	0.027	0.026	0.000					
Santiago	0.025	0.024	0.023	0.022	0.023	0.000				
Trinidad	0.025	0.024	0.023	0.023	0.024	0.021	0.000			
Pinar del Rio	0.023	0.023	0.022	0.021	0.022	0.020	0.015	0.000		
Highlands	0.024	0.023	0.022	0.022	0.024	0.021	0.017	0.014	0.000	
Lee Country	0.023	0.023	0.022	0.022	0.024	0.020	0.016	0.013	0.011	0.000

**S3.** Valores de  $F_{ST}$  y valor promedio de asignación (entre paréntesis) calculado con GENECLASS entre las 10 poblaciones invadidas de *Cactoblastis cactorum* en la región del Caribe.

	Antigua	Nevis	Puerto Rico	La Romana	Palisadores	Santiago	Trinidad2	Pinar del Rio	Highlands	Lee Contry
Antigua		0 0.012(7.129)	0.204(9.504)	0.038(6.444)	0.304(12.498)	0.095(7.526)	0.099(7.823)	0.206(8.457)	0.166(8.595)	0.114(11.588)
Nevis	0.012(8.243)		0 0.164(9.400)	<b>0.019(7.536)</b>	0.337(14.103)	0.056(8.060)	0.057(8.418)	0.156(9.467)	0.122(9.724)	0.092(13.055)
Puerto Rico	0.204(6.235)	0.164(6.121)		<b>0 0.131(4.985)</b>	0.470(10.762)	0.269(5.709)	0.206(5.897)	0.394(9.434)	0.265(6.324)	0.436(11.638)
La Romana	<b>0.038(7.024)</b>	0.019(7.746)	0.131(9.260)		0 0.284(13.178)	0.112(7.951)	0.070(7.888)	0.194(9.264)	0.101(8.553)	0.097(11.887)
Palisadores	0.304(9.095)	0.337(11.237)	0.470(12.456)	0.284(9.107)		<b>0 0.257(7.414)</b>	0.324(7.961)	0.302(9.067)	0.397(9.479)	0.426(12.304)
Santiago	<b>0.095(6.267)</b>	0.056(6.154)	0.269(8.647)	0.112(6.069)	0.257(9.646)		0 0.137(6.380)	0.148(6.730)	0.193(7.297)	0.110(9.217)
Trinidad	0.099(7.087)	0.057(7.495)	0.206(8.042)	<b>0.070(6.143)</b>	0.324(11.043)	0.137(6.709)		0 0.127(6.355)	0.127(6.856)	0.095(8.180)
Pinar del Rio	0.206(8.580)	0.156(8.516)	0.394(11.785)	0.194(7.407)	0.302(10.533)	0.148(6.799)	<b>0.127(6.139)</b>		0 0.232(8.694)	0.076(8.850)
Highlands	0.166(7.559)	0.122(8.631)	0.265(10.042)	<b>0.101(6.884)</b>	0.397(12.522)	0.193(7.480)	0.127(7.058)	0.232(8.427)		0 0.100(8.761)
Lee Contry	0.114(6.365)	0.092(8.279)	0.436(11.006)	0.097(6.354)	0.426(10.426)	0.110(5.875)	0.095(5.378)	<b>0.076(5.121)</b>	0.100(5.229)	<u>0</u>

**S4.** Valores de  $D_{ps}$  (alelos compartidos) entre las 10 poblaciones invadidas de *Cactoblastis cactorum* en el Caribe

	Antigua	Nevis	Puerto Rico	La Romana	Palisadores	Santiago	Trinidad	Pinar del Rio	Highlands	Lee Country
Antigua		0.000								
Nevis	0.150		0.000							
Puerto Rico	0.341	0.307		0.000						
La Romana	0.176	0.144	0.232		0.000					
Palisadores	0.336	0.379	0.469	0.370		0.000				
Santiago	0.272	0.278	0.409	0.259	0.167		0.000			
Trinidad	0.191	0.138	0.298	0.133	0.375	0.261		0.000		
Pinar del Rio	0.314	0.351	0.549	0.347	0.229	0.171	0.268		0.000	
Highlands	0.184	0.160	0.291	0.141	0.370	0.277	0.140	0.350		0.000
Lee Country	0.344	0.396	0.567	0.366	0.357	0.257	0.297	0.215	0.292	<u>0.000</u>

### **Capítulo 3: La importancia del ambiente en la estructuración genética de *Cactoblastis cactorum* en Argentina**

#### **Resumen**

El movimiento exitoso de alelos entre poblaciones o flujo génico es el proceso responsable de la estructuración de las poblaciones. La cantidad de flujo podría estar influenciada por las características ambientales. En especies invasoras conocer que variables ambientales determinan el flujo génico puede ser de ayuda en la evaluación del potencial de expansión de la especie. *Cactoblastis cactorum* es una especie de polilla originaria de Argentina que ha invadido el Caribe y sur de Estados Unidos y podría seguir expandiendo sus poblaciones hacia México, por lo tanto es importante: 1) conocer si hay factores que funcionen como barreras para el flujo en las poblaciones nativas de Argentina y 2) Evaluar si esas variables explican las zonas invadidas del Caribe, además de proyectar nuevas zonas de posible expansión. Se analizaron diez loci de microsatélites nucleares polimórficos; se cuantificó la diversidad genética, la diferenciación entre las poblaciones y si el ambiente estaba influyendo en esa diferenciación; finalmente se realizaron modelos de zonas potenciales de invasión. Se encontró que cambios en las condiciones ambientales favorecidos por barreras físicas como las sierra y salinas de Ambargasta, las sierras chicas y las salinas grandes han limitado el flujo génico favoreciendo la formación de seis grupos genéticos en Argentina. Las proyecciones de nicho potencial en el Caribe sugieren que en las zonas de mayor altitud y estacionalidad, la probabilidad de establecimiento es menor.

## Introducción

El flujo génico se define como el movimiento exitoso de alelos entre poblaciones mediante la dispersión de individuos o gametos (Hamilton 2009). Este proceso es el responsable de la estructuración de las poblaciones, ya que en su ausencia las poblaciones tienden a aislarse por otros procesos evolutivos como la deriva y la selección natural. Por el contrario, si existe mucho flujo de genes, los efectos de la deriva y la selección pueden verse atenuados (Hamilton 2009). Entender qué patrón de flujo ocurre en especies particulares nos puede ayudar a proyectar si existe la posibilidad de adaptación local y divergencia (Manel *et al.* 2003). La hipótesis más simple sobre el flujo génico establece que éste está principalmente determinado por la distancia geográfica que separa dos o más poblaciones (aislamiento por distancia, APD) (Wright 1943). Sin embargo para encontrar un patrón de APD es necesario que el flujo entre poblaciones sea constante y que ningún otro proceso, como la deriva, lo afecte. Sin embargo, la hipótesis de APD presupone que dentro del área geográfica donde se distribuyen las especies no existen barreras que impidan la migración y flujo de genes (Bolnick & Nosil 2007, Epperson 2010). El análisis de APD no provee información de si factores ambientales están interactuando con los procesos evolutivos como el flujo génico, la deriva y la selección (Manel *et al.* 2003). Para identificar cómo estas características pueden contribuir a facilitar o reducir las tasas de movimiento de los genes entre diferentes poblaciones, en los últimos años se han desarrollado herramientas que permiten analizar diversas hipótesis de flujo (Anderson *et al.* 2010). Una forma de cuantificar cómo afecta el ambiente al flujo génico es mediante la construcción de matrices de resistencia. De esta forma, se considera que en las zonas de baja resistencia, el movimiento de genes entre poblaciones es más probable, mientras que las zonas de alta resistencia pueden denotar barreras ambientales (Cushman *et al.* 2006, McRae 2006). Desde que esta aproximación metodológica comenzó a ser utilizada, los estudios indican que tanto el ambiente a través de la barreras al flujo como la distancia geográfica condicionan los patrones de flujo génico (Osrini *et al.* 2013, Sexton *et al.* 2014).

El análisis de los patrones de flujo y los factores que lo promueven han sido particularmente útiles para construir hipótesis sobre las rutas de invasión de especies introducidas, así como sobre el potencial que estas tienen para expandir sus poblaciones

(New 2016). Por ejemplo, estudios de epidemiología muestran que la estructura genética de las poblaciones varía enormemente y que ésta está en función de la distribución espacial del ambiente, de sus capacidades de dispersión, así como de la disponibilidad de hospederos (Biek & Real 2010, Kinezaki *et al.* 2010). Dado que en muchos casos no se conoce como se han expandido las especies invasoras, es necesario construir modelos que incorporen más información sobre la dinámica del movimiento, así como para entender el rol que juega el ambiente en las poblaciones nativas e introducidas. Esto último ayudaría a estimar como se podrían desarrollar adaptaciones (Bukovinszky *et al.* 2014) y a construir estrategias de manejo y prevención. Por ejemplo, el análisis de redes de resistencia en la polilla procesionaria del roble (*Thaumetopoea processionea*) permitieron identificar la dirección de expansión, así como los parches de vegetación inmersos en la ciudad de Londres que han funcionado como focos de dispersión. Estos datos pueden ahora ayudar a dirigir los esfuerzos de monitoreo y erradicación de la plaga (Cowley *et al.* 2015).

*Cactoblastis cactorum* (Berg) (Pyralidae:Phycitinae) es una polilla herbívora especialista, que durante su desarrollo larval se alimenta de tallos (cladodios) del género *Opuntia*. Es una especie nativa de Sudamérica que fue utilizada en estrategias de control biológico de *Opuntia* en Australia, Sudáfrica y el Caribe, sitios en los cuales se convirtió posteriormente en una amenaza económica y para la biodiversidad (Zimmermann *et al.* 2007). Actualmente es imperativo para todos los países donde el género *Opuntia* se distribuye, conocer a fondo los factores que han moldeado su diversidad genética en su distribución natural original, sobre todo aquellas características que permiten o restringen su migración y posterior reproducción. El estudio de la genética de poblaciones de *C. cactorum*, en particular los patrones históricos y recientes de flujo génico, puede apoyar en el diseño de estrategias de monitoreo local y de control global. Considerar el rol que juega el ambiente será fundamental para entender al invasor y su éxito, así como las adaptaciones evolutivas que ha tenido la especie como resultado de las interacciones bióticas (Saul *et al.* 2013, New 2016).

Después de ser introducida en la isla de Nevis (en 1956) en la zona del Caribe, se le consideró como una especie invasora, ya que las poblaciones se expandieron al norte hasta Estados Unidos, poniendo en peligro las plantas de *Opuntia* nativas de la región. Para entender la dinámica de invasión, se han realizado diferentes estudios en su distribución



nativa (Argentina) e invadida (Caribe y Estados Unidos) para inferir a través del análisis de la variación genética cómo los factores bióticos y abióticos podrían estar determinando la expansión de *C. cactorum* (Marsico *et al.* 2011; Brooks *et al.* 2012; Brooks *et al.* 2014; Andraca-Gómez *et al.* 2015).

Según análisis de la variación genética con marcadores mitocondriales (COI) y nucleares (microsatélites), el establecimiento de las poblaciones introducidas de *C. cactorum* ha estado determinada por la combinación de huracanes y actividades antropogénicas, que han promovido la dispersión de individuos a través del Caribe (Simonsen *et al.* 2008, Marsico *et al.* 2011; Andraca-Gómez *et al.* 2015) y el establecimiento ha sido favorecido por la presencia de hospederos potenciales (Brooks *et al.* 2012). Sin embargo, estudios en poblaciones introducidas en Sudáfrica mostraron que las lluvias y los vientos fuertes también son importantes para el éxito en el establecimiento de nuevas poblaciones (Roberson 1985, Roberson 1988). En la región nativa (i.e. Argentina), los análisis genéticos y de caracteres morfológicos de la polilla mostraron que los haplotipos (COI) y morfotipos de la especie se agrupan en función de la región geográfica según determinadas combinaciones de variables ambientales, incluyendo a la especie hospedero en la cual se están desarrollando (Marsico *et al.* 2011; Brooks *et al.* 2012; Brooks *et al.* 2014). Esta evidencia muestra que son diversos los factores que facilitan la dispersión de *C. cactorum*. Por un lado, como especie herbívora especialista del género *Opuntia*, necesita de la presencia de hospederos para establecerse. Por otro, los factores físicos y ambientales podrían estar funcionando simultáneamente como barreras para el flujo génico.

En un estudio reciente se observó una asociación entre la diversidad de haplotipos, la morfología larval y la asociación de las especies de *Opuntia* (Brooks *et al.* 2012, Brooks *et al.* 2014) sugiriendo que existen ecotipos en *C. cactorum* en su distribución nativa. Sin embargo, este patrón no permite identificar el papel de las condiciones ambientales debido a que las especies nativas de *Opuntia* muestran un fuerte anidamiento con estas condiciones ambientales. *C. cactorum* utiliza especies nativas de *Opuntia* (*O. anacantha*, *O. megapotamica*, *O. eleata*) así como una especie de *Opuntia* de amplia distribución en Argentina y en otras regiones donde la producción de tuna (*O. ficus-indica*) es promovida por el hombre. En la región oeste de la distribución de *C. cactorum* existe una sobre-representación de este último hospedero, justo donde se concentra una de las regiones

genéticamente más diversas para el marcador COI (Marsico *et al.* 2011). En esta región además, *C. cactorum* está expuesta a cinco tipos climáticos diferentes. (Llinás & Gardenal 2012). Este escenario natural en la región nativa permite explorar si las condiciones ambientales afectan la estructura genética y los patrones de flujo de genes controlando la variación asociada a los diferentes hospederos. Si las regiones climáticas funcionan como barreras para la migración, se esperaría una mayor tasa de migración dentro de las regiones que entre las mismas. Por otro lado, en ausencia de barreras impuestas por el clima, se esperaría encontrar aislamiento por distancia entre las poblaciones.

En este estudio se utilizaron 10 microsatélites nucleares para caracterizar la distribución de la variación genética en 24 poblaciones distribuidas en la región nativa de *C. cactorum* en Argentina y poner a prueba la hipótesis de aislamiento por resistencia mediado por la variación climática en la región. Si las características ambientales han sido importantes en la estructuración genética de las poblaciones de *C. cactorum* en su región nativa, estas variables podrían ser utilizadas para estimar las zonas de mayor riesgo de expansión en el resto del continente dado que existe una gran disponibilidad de hospederos del género *Opuntia*. Brooks *et al.* (2012) sugieren que es suficiente con la presencia de una *Opuntia* para que la invasión ocurra. Si esto es cierto, habría que saber cuáles son las zonas de mayor vulnerabilidad. Para esto es necesario identificar las barreras al flujo para Argentina y evaluar si estas variables ambientales explican las zonas invadidas del Caribe, para luego tratar de descubrir otras que también podrían ser potencialmente afectadas.

## **Método**

### ***Muestreo***

Se colectaron 508 larvas de 24 poblaciones de *C. cactorum*. Las poblaciones se encuentran distribuidas en siete provincias políticas de Argentina, repartidas en dos provincias biogeográficas (Löwenberg-Neto, 2014) y cinco tipos de clima (Tabla 1, Figura 1). Las muestras se tomaron principalmente de plantas de *O. ficus-indica* durante los meses de febrero y marzo de 2011 y 2012, tomando una larva por cladodio por planta. Las larvas fueron colectadas, geo-referenciadas y depositadas en viales de 1.5 ml con alcohol (96%) para su mantenimiento y transporte. Los tamaños muestrales variaron entre diez y treinta individuos por población (Tabla 1). La extracción de ADN se realizó con el kit DNEasy® blood & tissue (QIAGEN, Maryland, USA, cat. 60504), el ADN resultante se diluyó a 20 ng/µl para facilitar las PCR. Se utilizaron los microsátélites nucleares descritos en el capítulo dos bajo las mismas condiciones de amplificación. Los productos resultantes se enviaron a la *Core DNA sequence Facility* de la universidad de Illinois para ser analizados en un secuenciador de *Applied Biosystems* (3730 xl). La lectura de cromatogramas para la determinación de genotipos se realizó con la ayuda del programa GeneMarker (versión 2.20 demo).

### ***Análisis***

Se utilizó el programa Genepop (web versión; Rousset 2008) para evaluar la existencia de desequilibrio de ligamiento entre loci, así como para detectar aquellos loci que estaban fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg dentro de cada población. Igualmente se determinó la existencia de alelos nulos (Chapuis & Estoup 2007) para posteriormente eliminar de los análisis aquellos loci con una frecuencia estimada superior al 20 % de los mismos. También se eliminaron aquellos se encontraran fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg en más del 50% de las poblaciones. Para evaluar la diferenciación poblacional se utilizaron dos parámetros, los valores de  $F_{ST}$  considerando la frecuencia de alelos nulos por locus y por población en el programa FreeNA, (Weir & Cokerman 1996) (Chapuis & Estoup, 2007) y la proporción de alelos compartidos ( $D_{ps}$ ) calculado en el programa MSA (versión 4.051) (Bowcock *et al.* 1994). Para el cálculo de número de alelos, la riqueza alélica y los valores

de heterocigocidad observada y esperada por población se utilizó el programa FSTAT (versión 2.9.3.2; Gaudet 2002).

### ***Agrupamiento y barreras***

Con ayuda del programa de agrupación Bayesiano Geneland (versión 4.0, Guillot *et al.* 2008) en R se determinó la presencia de estructura genética poblacional. Geneland determina grupos basándose en la similitud genética y la cercanía geográfica. El análisis se realizó en 10 corridas independientes de 1,000,000 iteraciones cada una de Cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), con un valor mínimo de grupos ( $k$ ) de uno y un máximo de 24. Como suponemos que la posible diferenciación entre los puntos es resultado de un flujo génico limitado y no se conoce la población ancestral, se eligió como verdadero el modelo espacial y las frecuencias alélicas no correlacionadas. También se incorporó la posible ambigüedad genética (exceso de homocigotos) en el algoritmo de agrupación presuponiendo la existencia de alelos nulos. La ubicación de cada individuo se incluyó como coordenadas geográficas en grados decimales y se supuso un grado de desplazamiento de  $0.001^\circ$  (equivale aproximadamente a 100m). Para cada corrida, se eliminaron las primeras 200 cadenas para descartar aquellas iteraciones donde los cambios en las probabilidades posteriores eran drásticos.

Para detectar zonas de cambios abruptos en la variación y asumir posibles barreras al flujo se utilizó el programa Barriers (Versión 2.2; Manni *et al.* 2004). Este programa emplea el método de Monmonier para generar un mapa que representa la relación entre las poblaciones y las áreas donde se encuentran las posibles barreras; las áreas son marcadas donde las variables muestran un cambio abrupto en la tasa de cambio. A las barreras generadas les asigna un valor de significancia resultado del bootstrap de un conjunto de 100 matrices de distancia. Para este análisis se utilizó los estimadores de la distancia genética de Nei (1972). Las 100 matrices requeridas por el programa fueron generadas mediante un re muestreo de individuos dentro de las poblaciones con ayuda del programa MSA (versión 4.051).

### ***Aislamiento***

Para comprender más claramente cómo se distribuye la varianza genética de las poblaciones en su área de distribución, se utilizó un análisis gráfico poblacional (Dyer 2009). El programa PopGraph busca en primer lugar describir como se distribuye la variación dentro y entre grupos mediante un análisis de varianza y covarianza entre nodos, sin tomar en cuenta su distribución geográfica. Después proyecta esta red en el espacio y se evalúa si hay una correlación entre distancias genéticas (gráfica) y geográficas (física). La red de varianzas y covarianzas dentro y entre las poblaciones fueron calculadas utilizando el script para R (versión 2.13.5) descrito en <http://dyerlab.github.io/popgraph/>. La proyección de la red en el mapa de distribución se realizó en el programa Genetic Studio (versión 0.1; Dyer 2009).

También se utilizó el programa GeneClass 2 (Piry *et al.* 2004) para evaluar si existían migrantes de primera generación entre las poblaciones. Este programa asigna o excluye a cada individuo analizado a las diferentes poblaciones referidas. La población a la que es asignado se infiere como el sitio de nacimiento del individuo. En caso de asignarlo a una población diferente al punto de colecta, entonces se lo considera como un migrante de primera generación. En este análisis se simuló 10,000 individuos con el método de asignación de Rannala & Mountain (1997).

### ***Aislamiento por resistencia***

La correlación entre la variación genética y el ambiente se exploró mediante un análisis de aislamiento por resistencia (McRae & Beier 2007; McRae *et al.* 2008). La matriz de resistencias se generó a partir de un modelo de nicho de *C. cactorum* con el programa MaxEnt (versión 3.3.3; Elith *et al.* 2011, Phillips & Dudik, 2008). El análisis de nicho estima cuáles son las zonas donde una especie se puede establecer, dado un conjunto de características físicas y bióticas. Por lo tanto, aquellas zonas que no reúnen esas características pueden estar funcionando como barreras al flujo. Para realizar este análisis se utilizaron las variables climáticas disponibles en la base de WorldClim (Hijmans *et al.* 2005), junto a la altitud, la carta de climas de Argentina y una capa del tipo de suelos ([www.geointa.gov.ar/visor/](http://www.geointa.gov.ar/visor/)). Se realizaron diversas combinaciones de variables para tener el modelo que mejor explicara las zonas de posible presencia de *C. cactorum*. Primero se

realizó una simulación exploratoria utilizando las 22 variables disponibles de WorldClim, el suelo, la altitud y la carta de climas. Posteriormente se eliminaron aquellas capas que estaban altamente correlacionadas ( $<0.70$ ) y que tuvieran un bajo porcentaje de contribución al modelo de nicho (valores bajos de AUC) en el análisis exploratorio. Las variables utilizadas en el análisis final fueron: estacionalidad, intervalo anual de temperatura, temperatura del cuatrimestre más frío, precipitación del cuatrimestre más caliente, tipo de suelo, climas y altitud. Al tratarse de un herbívoro, es importante tomar en cuenta que el hospedero esté presente; por lo tanto, se realizó el modelo de nicho de *O. ficus-indica* y la distribución resultante fue incluida como una variable más en el análisis de nicho de *C. cactorum*. Se incluyeron un total de 110 puntos para este análisis; estos fueron los registros de las localidades con presencia de *O. ficus-indica* independientemente de la presencia de *C. cactorum*.

El archivo obtenido del análisis de nicho de *C. cactorum* sirvió como base para construir la matriz de barreras ambientales (resistencias) en Circuitscape (versión 3.5; McRae & Shah 2009) Una vez obtenidas las matrices de resistencia, de distancias genéticas ( $F_{ST}/1-F_{ST}$ ) ( $D_{ps}$ ) y euclidianas (distancia geográfica lineal entre dos puntos ( $\text{Log } b$ ) se evaluó si existía una relación entre las barreras ambientales y la distancia genética, y entre la distancia genética y la distancia euclidiana. Estos análisis se realizaron utilizando la prueba de Mantel (Mantel 1967) y correlogramas de Mantel (Legendre & Legendre 1998), con el paquete Vegan (Oksanen 2009) y mpmcorrelogram en R con 10,000 permutaciones.

### ***Concordancia entre nicho potencial y localidades de C. cactorum en el Caribe***

Para analizar si las características ambientales que están determinando la estructura genética en Argentina podrían explicar la presencia de las poblaciones del Caribe y Norteamérica, se realizó un análisis de nicho para toda América con el programa MaxEnt (versión 3.3.3; Elith *et al.* 2011, Phillips & Dudik, 2008). Para esto se utilizaron las seis características ambientales que tuvieron un mayor poder predictivo en el análisis de nicho en el hábitat natural de la especie en Argentina (altitud, estacionalidad, intervalo de temperatura anual, temperatura promedio del cuatrimestre más frío, precipitación anual y precipitación del cuatrimestre más cálido), pero excluyendo el suelo. Este no fue incluido ya que no se contaba con los datos necesarios para toda América. Dada la variación de

ambientes en las que se encontraron las poblaciones y poder observar si existían cambios en los nichos potenciales se realizaron dos análisis. En el primero se incluyeron los datos de las regiones de las 24 poblaciones reportadas en este trabajo. Mientras que en un segundo se utilizaron únicamente las características presentes en aquellas localidades registradas en la región de Entre Ríos al este de Argentina, que fue la zona de la que fueron extraídas las puestas para control biológico en el resto del mundo (Zimmermann *et al.* 2007).

**Tabla 1.** Nombre, Provincia biogeográfica (P.B.) ubicación, condiciones climáticas (C), altitud (alt) y tamaño muestral (N) de las poblaciones de *Cactoblastis cactorum* utilizadas en el presente estudio. (Los tipos climáticos corresponden a 1. Subtropical con estación seca, 2. Árido de sierras y bolsones, 3. Templado serrano, 4. Templado pampeano húmedo, 5. Tropical serrano)

<b>Poblaciones</b>	<b>P. B</b>	<b>Coordenadas</b>	<b>C</b>	<b>alt</b>	<b>N</b>
1. Huasapampa	Chaqueña	27°54.839'S 65°33.805'O	5	469	30
2. Icaño	Chaqueña	28°55.996'S 65°17.955'O	2	339	27
3. Hipodromo las Rosas	Chaqueña	28°33.111'S 65°44.912'O	2	492	20
4. Recreo	Chaqueña	29°16.346'S 65°04.230'O	2	218	24
5. San Martin	Chaqueña	29°13.239'S 65°46.299'O	2	275	18
6. El Talar	Chaqueña	28°05.028'S 65°18.595'O	5	467	30
7. San Isidro	Chaqueña	32°08.933'S 65°06.292'O	3	619	19
8. Cruz del Eje	Chaqueña	30°42.304'S 64°48.602'O	3	483	30
9. Fortin	Pampeana	31°57.88'S 62°19.721'O	4	107	21
10. Quilino	Chaqueña	30°13.655'S 64°28.928'O	3	425	30
11. Las Varillas	Pampeana	31°51.463'S 62°43.197'O	4	135	19
12. Ayuí	Pampeana	31°11.727'S 58°02.797'O	4	64	15
13. Federal	Pampeana	30°55.835'S 58°46.396'O	4	66	16
14. Yuquerí	Pampeana	31°22.917'S 58°07.718'O	4	49	15
15. El Carmen	Chaqueña	24°19.764'S 65°14.988'O	5	1178	30
16. Sastre	Pampeana	31°44.344'S 61°50.193'O	4	108	10
17. El Cuarenta y Nueve	Chaqueña	29°02.934'S 63°57.510'O	2	165	30
18. Hock	Chaqueña	28°21.299'S 64°19.046'O	2	148	30
19. La Banda	Chaqueña	27°44.937'S 64°12.232'O	1	189	11
20. La Puerta	Chaqueña	27°37.915'S 64°37.281'O	1	301	26
21. Pozo Escondido	Chaqueña	29°28.253'S 63°39.135'O	4	526	30
22. Ruta Nueve	Chaqueña	27°45.027'S 64°23.532'O	1	235	12
23. Vilmer	Chaqueña	27°45.982'S 64°09.632'O	1	183	15
24. Tucumán	Chaqueña	27°07.269'S 64°55.704'O	1	344	26



## Resultados

De los 14 loci analizados, cuatro fueron eliminados debido a que presentaron una frecuencia superior al 20% de alelos nulos. En las 24 poblaciones muestreadas, los valores de riqueza alélica se encontraron entre 3.36 y 5.78 y los de  $H_o$  entre 0.36 y 0.63 (Tabla 2). Todas las poblaciones excepto Yuquerí presentaron menos heterócigos que los esperados bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg ( $F_{IS} > 0$ ; Tabla 2).

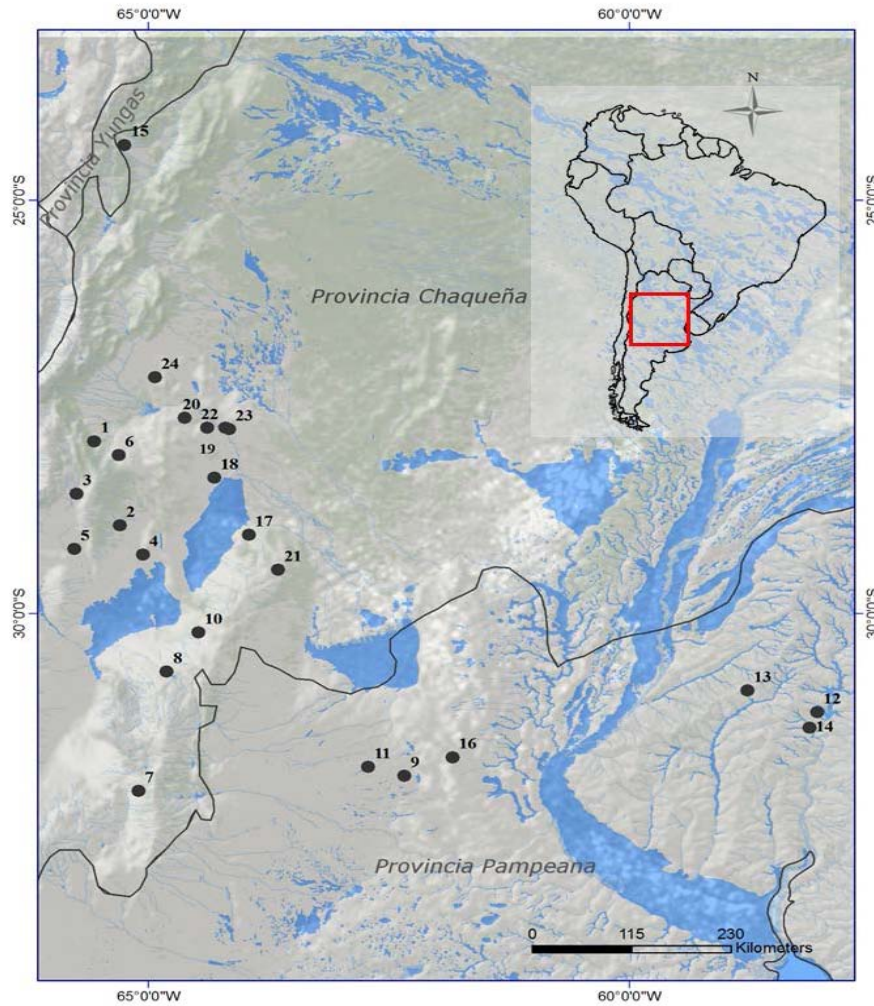
La red gráfica de poblaciones tuvo 24 nodos y 43 conexiones (Figura 2A), todos los puntos a excepción de La Puerta (20) tuvieron al menos 2 conexiones con otros nodos. La varianza genética y la distancia física entre poblaciones estuvieron correlacionadas positivamente (Mantel  $r=0.337$ ,  $p<0.00001$ ; Figura 2b), aunque en algunos casos se observó que algunos pares de poblaciones (15-14, 11-15, 16-23, 3-14, 13-22, 12-23) mostraron menor variación genética de la que se espera dada la distancia geográfica que las separa (líneas punteadas); estos podrían interpretarse como eventos de migración a larga distancia. Aparentemente estas migraciones no sucedieron hace una o dos generaciones, ya que ninguno de los 103 migrantes de primera generación inferidos fueron registrados entre esos nodos (Tabla 3). La gran mayoría de estos (12) se observaron en la población Hock (población 18), de los cuáles 8 tienen una alta probabilidad de provenir de Huasapampa (población 1). La mayoría de las migraciones parecieron suceder entre poblaciones geográfica y ambientalmente cercanas.

La delimitación de grupos genéticos realizada con Geneland mostró que el número más probable es de seis (Figura 3). El Carmen (población 15), la población más al noroeste de Argentina y en los límites de las provincias biogeográficas Chaqueña y Yungas, estuvo aislada en su propio "grupo". Otro cluster lo constituyen seis poblaciones ubicadas en la provincia Pampeana al este y centro de Argentina. Los cuatro grupos restantes se distribuyen al oeste de Argentina. Las barreras con más del 50% de probabilidad de existir coinciden con la división de los grupos generados por Geneland (Figura 3).

Se observó que las principales variables ambientales que podrían estar determinando la presencia de *C. cactorum* son la altitud, el tipo de clima, la precipitación del periodo más frío y el tipo de suelo. Tras construir la matriz de resistencia a partir de estas variables se encontró que todas las correlaciones entre la distancia geográfica y la distancia genética ( $F_{ST}$ ,  $D_{ps}(S1)$ ), así como la resistencia y la distancia genética fueron

positivas y significativas (Tabla 4). Los valores de correlación entre distancia euclidiana y los dos estimadores de distancia genética son similares ( $F_{ST}= 0.486$ ;  $D_{ps}= 0.4108$ ). Sin embargo  $D_{ps}$  presentó una menor correlación con los valores de resistencia ( $F_{ST}=445$ ;  $D_{ps}=0.261$ ). Al evaluar mediante correlogramas de Mantel, a que escala existe esta estructura genética, el análisis mostró una correlación para las categorías de distancia intermedias en los dos tipos de estimadores de distancias genéticas (Figuras 4A y C). Por otro lado, solo en casos de poca resistencia existió una alta correlación con ambas medidas de diferenciación genética (Figuras 4B y D).

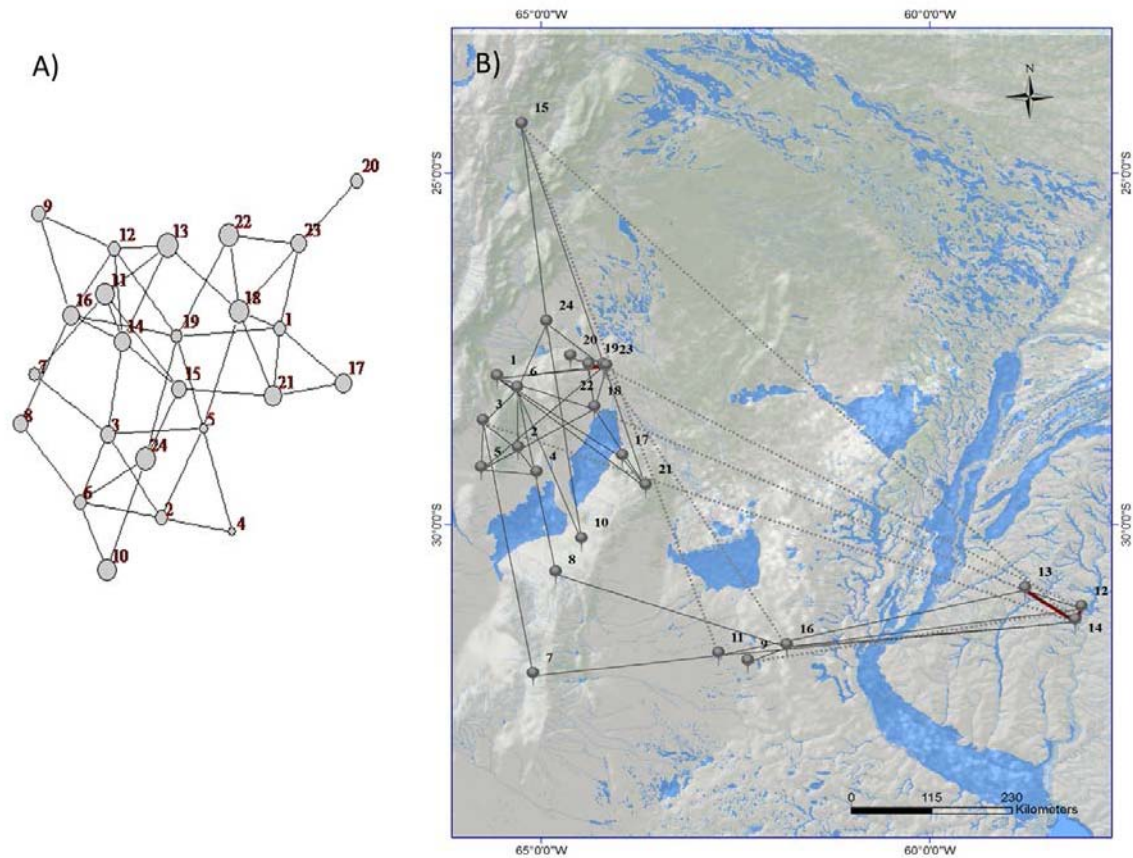
El modelo predictivo que mejor se ajusta a la distribución de las poblaciones del Caribe, es aquel que se realizó simulando las condiciones de Concordia al este de Argentina (Figura 5). El análisis de nicho realizado para todo el continente tuvo un índice de AUC de  $0.948 \pm 0.014$  siendo la altitud (72.2%) y la estacionalidad (18.1%) los factores que más explicaron la presencia de *C. cactorum*. A mayores altitudes y estacionalidad se encontró una menor probabilidad de ocurrencia de *C. cactorum*. Por el contrario, se encontró poca previsibilidad cuando se utilizaron en el modelo las condiciones de todas las poblaciones argentinas (Figura 5 izq). Es decir, las características ambientales que explican la distribución cambian entre modelos (S2). El modelo con mayor previsibilidad sugiere que las zonas con mayor probabilidad de establecimiento son las regiones costeras de México y la península de Yucatán.



**Figura 1.** Distribución de las 24 poblaciones de *Cactoblastis cactorum* analizadas en este estudio. Las poblaciones se distribuyen en dos provincias biogeográficas (Löwenberg-Neto, 2014). Los números corresponden a la numeración de la Tabla 1.

**Tabla 2.** Medidas de diversidad genética en 24 poblaciones de *C. cactorum* en Argentina estimada con 10 loci microsatélites: heterocigidad esperada (*He*), número promedio de alelos (NA), riqueza alélica (RA) (estimada a partir de 9 individuos diploides), heterocigidad observada (*Ho*), y coeficiente de endogamia (*F<sub>IS</sub>*) (\* valores no significativos).

<b>Población</b>	<b><i>He</i></b>	<b>NA</b>	<b>RA</b>	<b><i>Ho</i></b>	<b><i>F<sub>IS</sub></i></b>
<b>Huasapampa</b>	0.681 (0.215)	6 (2.494)	4.736 (1.799)	0.491 (0.222)	0.277
<b>Icaño</b>	0.623 (0.194)	5.7 (1.16)	4.503 (0.992)	0.444 (0.188)	0.290
<b>Hipódromo de las Rosas</b>	0.559 (0.238)	4.9 (2.132)	3.940 (1.458)	0.41 (0.251)	0.272
<b>El Recreo</b>	0.534 (0.240)	4.8 (2.251)	3.834 (1.646)	0.365 (0.180)	0.318
<b>San Martin</b>	0.579 (0.188)	4.1 (1.524)	3.773 (1.170)	0.448 (0.218)	0.217
<b>El Talar</b>	0.651 (0.250)	5.9 (2.685)	4.789 (1.841)	0.427 (0.191)	0.328
<b>San Isidro</b>	0.621 (0.270)	5.4 (2.413)	4.556 (1.879)	0.377 (0.274)	0.364
<b>Cruz del eje</b>	0.705 (0.219)	7.2 (2.57)	5.508 (1.870)	0.487 (0.161)	0.308
<b>El Fortin</b>	0.667 (0.184)	5.9 (1.595)	4.742 (1.247)	0.551 (0.177)	0.164
<b>Quilino</b>	0.695 (0.209)	6.3 (2.058)	5.133 (1.548)	0.458 (0.214)	0.345
<b>Las Varillas</b>	0.681 (0.098)	6.8 (1.814)	4.934 (1.100)	0.515 (0.140)	0.239
<b>Ayuí</b>	0.533 (0.235)	3.8 (1.687)	3.365 (1.349)	0.441 (0.244)	0.167
<b>Federal</b>	0.664 (0.187)	5.4 (1.578)	4.649 (1.301)	0.526 (0.233)	0.184
<b>Yuquerí</b>	0.586 (0.243)	4.2 (1.619)	3.732 (1.237)	0.560 (0.278)	0.045*
<b>El Carmen</b>	0.653 (0.188)	6.8 (1.814)	5.008 (1.371)	0.508 (0.189)	0.219
<b>Sastre</b>	0.645 (0.232)	5.5 (1.581)	5.333 (1.597)	0.474 (0.210)	0.260
<b>El Cuarenta y nueve</b>	0.722 (0.174)	6.7 (2.003)	5.468 (1.611)	0.417 (0.190)	0.418
<b>Hock</b>	0.730 (0.133)	6.2 (1.687)	4.967 (1.182)	0.440 (0.194)	0.393
<b>La Banda</b>	0.608 (0.135)	4.4 (1.174)	4.219 (1.157)	0.427 (0.268)	0.307
<b>La Puerta</b>	0.703 (0.134)	6.1 (1.912)	4.914 (1.310)	0.582 (0.148)	0.170
<b>Pozo Escondido</b>	0.719 (0.176)	7.1 (2.685)	5.502 (1.611)	0.459 (0.251)	0.355
<b>Ruta 9</b>	0.725 (0.213)	6 (2.211)	5.577 (1.986)	0.633 (0.261)	0.131
<b>Vilmer</b>	0.692 (0.150)	5.4 (1.713)	4.720 (1.399)	0.477 (0.229)	0.314
<b>Tucuman</b>	0.719 (0.132)	6.8 (2.15)	5.458 (1.483)	0.541 (0.223)	0.230

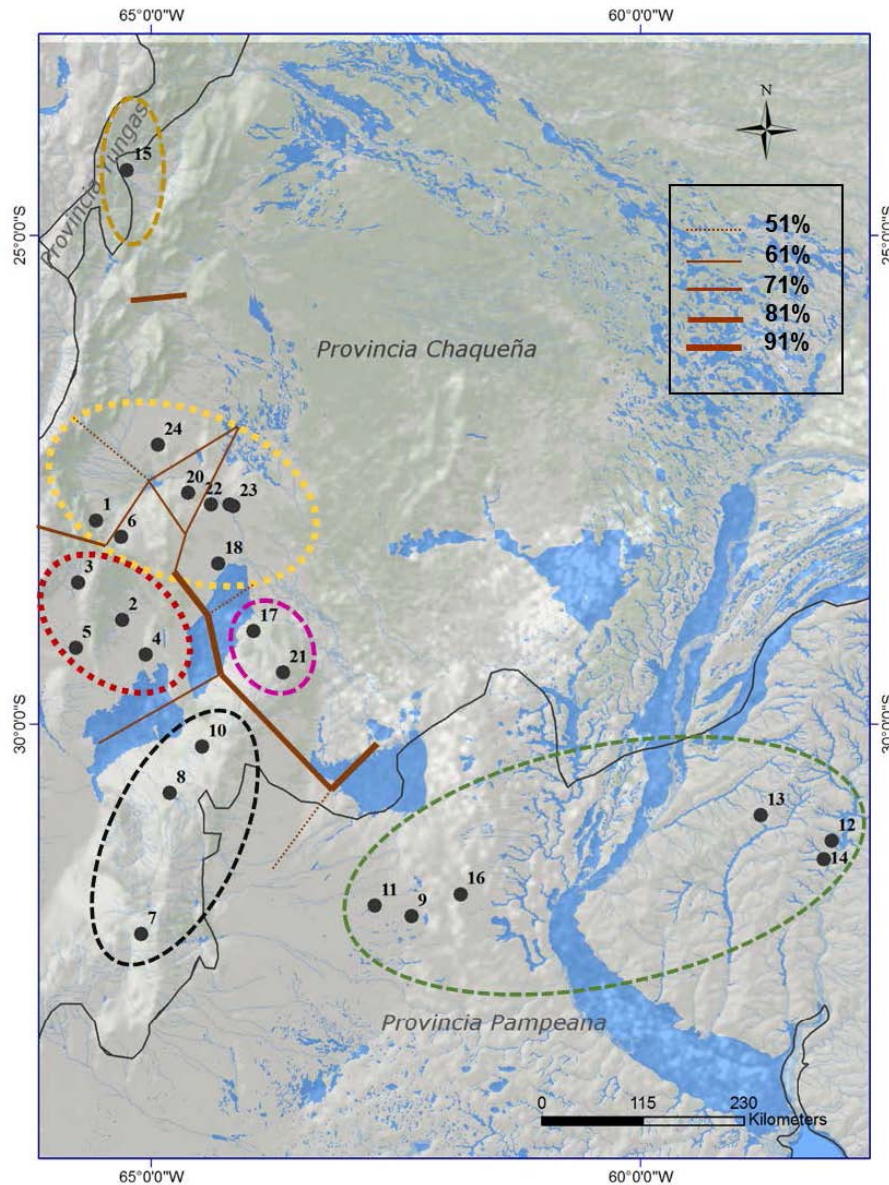


**Figura 2.** Representación espacial del análisis POPGRAPH. A) Red de 24 poblaciones de *Cactoblastis cactorum* muestreadas en Argentina; la longitud de las líneas muestra la conexión entre poblaciones, calculada como la covarianza genética entre poblaciones; el tamaño de los círculos es proporcional a la varianza genética dentro de las poblaciones. B) Proyección de estas conexiones en un mapa de la región. Las líneas continuas se ajustan a un modelo de aislamiento por distancia, las líneas punteadas muestran menos varianza entre poblaciones dada la distancia geográfica que las separa; las líneas rojas representan más varianza de la esperada respecto a la distancia geográfica.

**Tabla 3.** Migrantes de primera generación registrados entre las 24 poblaciones de *Cactoblastis cactorum* colectadas en Argentina. Los números subrayados son aquellos individuos que provienen de poblaciones que pertenecen a un mismo grupo genético según los resultados de GENELAND (ver Fig. 3). Las filas representan las poblaciones donde fueron colectados y las columnas las poblaciones de las que es probable que hayan migrado.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	<u>1</u>	<u>4</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	<u>2</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
4	0	<u>3</u>	0	<u>2</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<u>1</u>	<u>1</u>	<u>1</u>
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	1	0	0	0	1	0	1	<u>1</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<u>1</u>	<u>2</u>	0	0	<u>1</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3
11	0	0	0	0	1	0	0	0	<u>1</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<u>1</u>	<u>1</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<u>1</u>	<u>1</u>	0	<u>1</u>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<u>1</u>	<u>1</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	1	0	0	0	0	0	1	<u>4</u>	0	0	0	<u>1</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	<u>2</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<u>1</u>	0	0	0
18	<u>8</u>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	<u>1</u>	0	0	0
19	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<u>1</u>	0	0	0	<u>2</u>	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<u>3</u>	0	0
21	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<u>4</u>	0	0	0	0	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0	<u>1</u>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<u>1</u>	<u>1</u>	0	0	0	0	<u>3</u>
23	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	<u>1</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	0	<u>1</u>	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	<u>2</u>	0	0	<u>3</u>	<u>1</u>	0



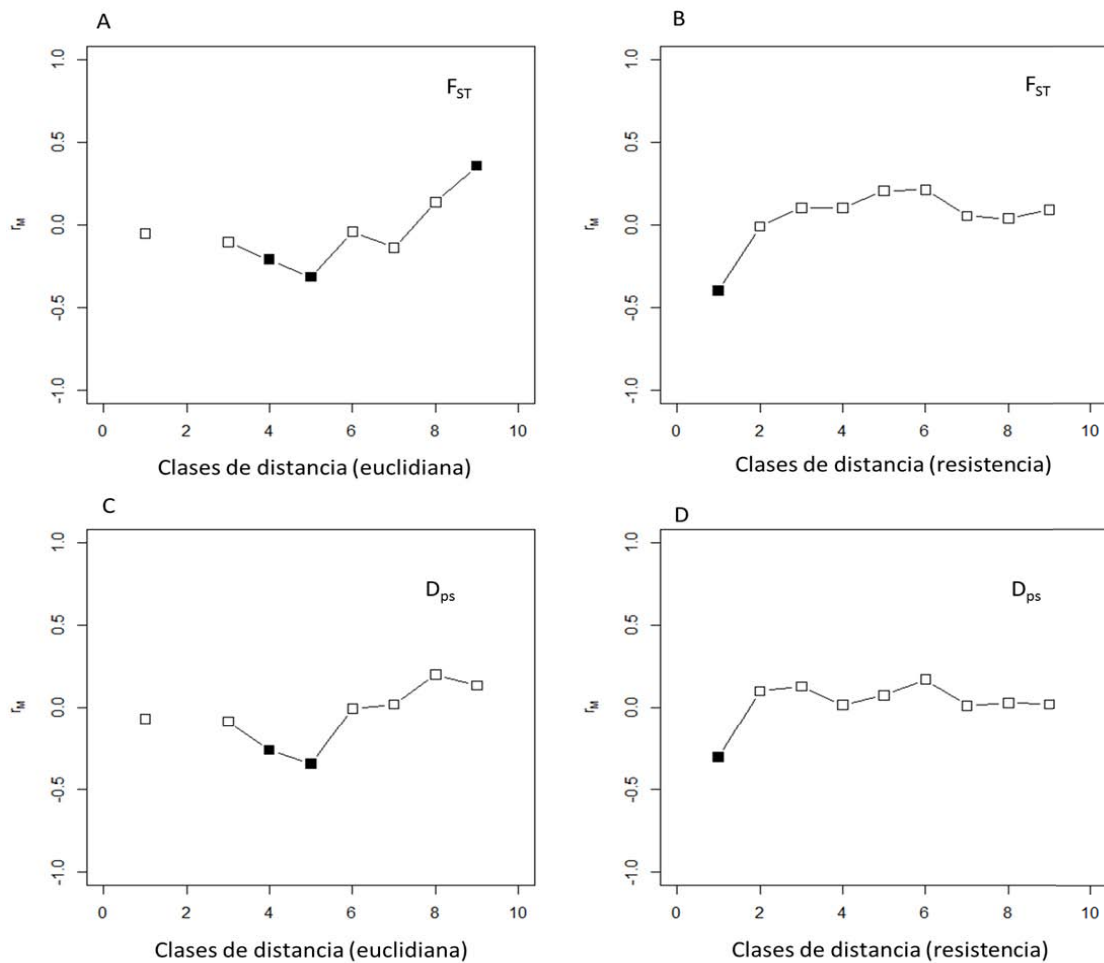


**Figura 3.** Representación de los 6 grupos genéticos obtenidos con GENELAND para 24 poblaciones de *Cactoblastis cactorum* muestreadas en Argentina. Las líneas punteadas delimitan los grupos asignados, los colores diferencian los grupos. Las líneas cafés indican la localización de las barreras obtenidas con el programa BARRIER (el grosor de las líneas está en función de la probabilidad de existir, solo están representados aquellos valores mayores a 50).

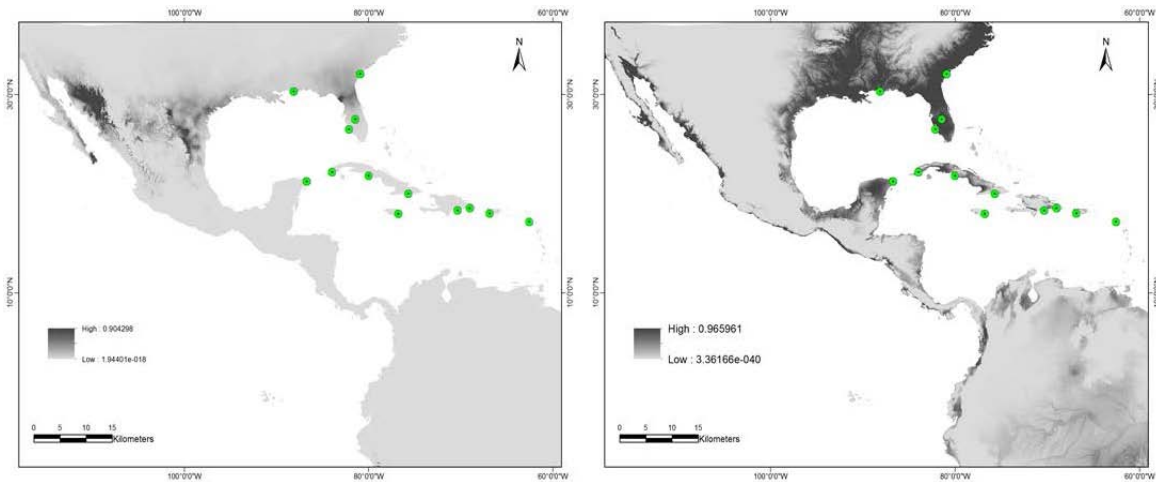
**Tabla 4.** Resultados de Mantel y Mantel parcial para *Cactoblastis cactorum*. La hipótesis puesta a prueba fue si la matrices de distancias genéticas de  $D_{ps}$  (proporción de alelos compartidos) y  $F_{ST}$  ( $F_{ST}/(1-F_{ST})$ ) están relacionadas con la distancia geográfica (Aislamiento por distancia) y Resistencia (Ambiente)

	<b>Distancia</b>		<b>Resistencia</b>	
	<i>r</i>	<i>p-value</i>	<i>r</i>	<i>p-value</i>
<i>D<sub>ps</sub></i>				
<b>Mantel</b>	0.411	<0.01	0.261	0.030
<b>Mantel parcial controlado por Distancia</b>	-	-	0.3343	0.002
<i>F<sub>ST</sub></i>				
<b>Mantel</b>	0.486	<0.01	0.445	<0.01
<b>Mantel parcial controlado por Distancia</b>	-	-	0.261	0.007





**Figura 4.** Correlogramas de Mantel para la evaluación de la estructura espacial de *Cactoblastis cactorum*. A y C evalúan la relación que tienen las distancias genéticas (A,  $F_{ST}$  y C,  $D_{ps}$ ) y diez clases de distancia euclidiana. B y D evalúan la correlación entre las distancia genética (B,  $F_{ST}$  y D,  $D_{ps}$ ) y la resistencia (ambiente). Los círculos oscuros muestran la correlación significativa después de una corrección de Bonferroni.



**Figura 5.** Mapa del nicho potencial de *Cactoblastis cactorum*. Las zonas oscuras son aquellas que presentan una mayor probabilidad de presencia; los puntos verdes muestran las localidades donde se ha detectado la polilla. El en el mapa de la izquierda se utilizaron las condiciones ambientales de toda la distribución en Argentina. Para el modelo de la derecha solo se consideraron las condiciones ambientales de la zona de Concordia (este de Argentina).

## Discusión

Los resultados de este estudio muestran que además de la presencia de hospederos del género *Opuntia*, la ocurrencia de *C. cactorum* está determinada por las condiciones ambientales. De acuerdo con nuestra hipótesis, se detectaron seis grupos genéticos delimitados por barreras naturales, como las sierras y salinas de Ambargasta, las sierras chicas y las salinas grandes. El modelo de aislamiento por resistencia basado en dichas barreras fue significativo, revelando su impacto en la estructura genética de la especie. Además, se logró predecir de manera muy precisa la ocurrencia de *C. cactorum* en las zonas del Caribe y Estados Unidos utilizando solo las condiciones del este argentino (la zona de la que fueron extraídas las puestas para control biológico en el resto del mundo). En México, la predicción del modelo de nicho indica que las costas del Golfo de México y la península de Yucatán son las regiones con mayor riesgo de invasión. Estas regiones coinciden en particular con la distribución de *Opuntia dillenii*, lo que facilita la toma de medidas de prevención, dado que esta especie también se encuentra en el Caribe y ha sido consumida por *C. cactorum*. El arribo del insecto a México tiene altas probabilidades de ser exitoso como lo demostró su llegada a Isla Mujeres en 2007. Dado que el grupo genético de donde se tomaron puestas para su introducción en Australia y Sudáfrica para luego llevarlas al Caribe es de la región con altitud más baja de toda su distribución nativa, es menos probable que las poblaciones establecidas en las zonas invadidas del Caribe cuenten con la variación genética suficiente para enfrentarse a barreras altitudinales.

Los niveles de diversidad genética estimada mediante la heterocigocidad muestran una deficiencia de heterocigotos en las poblaciones de *C. cactorum* en Argentina, con excepción de Yuquerí. La deficiencia en la heterocigocidad y los altos valores de alelos nulos (>20%) son un fenómeno común en los lepidópteros (Malausa *et al.* 2007; Sinama *et al.* 2011; Guillemaud *et al.* 2015); esta condición se asocia a las altas tasas de mutación que se han observado en las zonas flanqueantes a los microsatélites, así como a elementos transponibles presentes en el genoma de esta familia de insectos (Sinama *et al.* 2011). A pesar de esto, los patrones de estructuración genética en las poblaciones de *C. cactorum* en Argentina fueron cualitativamente consistentes cuando también se incluían aquellos loci con altos porcentajes de presencia de alelos nulos.

Esta heterocigocidad ( $F_{IS}$  positivos) también puede ser resultado de deriva y/o un bajo flujo génico (Haldane 1948; Kimura 1968). Los resultados indican que de hecho existe poco flujo entre algunas poblaciones, por lo tanto la existencia de barreras y varias generaciones de efectos de la deriva pudieron causar la diversificación, no solo por la limitación de flujo, sino también por la pérdida de alelos. Por ejemplo, el grupo rosa de GENELAND (Figura 3) conformado por dos poblaciones (Pozo escondido y Cuarenta) presentan los valores más altos de  $F_{IS}$  (los niveles de deficiencia de heterocigotos más alta); por otro lado, las poblaciones del este argentino, entre los que existe poca diferenciación genética (grupo verde) presentaron los valores de  $F_{IS}$  más bajos.

La altitud, el tipo de clima, las lluvias y las temperaturas extremas parecen funcionar como barreras al flujo. El clima y la humedad separarían las poblaciones de este y oeste de la distribución. Estudios filogeográficos en el mosquito *Aedes aegypti* y de evolución de grupos humanos que se distribuían en esa zona hace 10,000 años mostraron una asociación similar de las sierras pampeanas con la división de haplogrupos del este y oeste argentino (García *et al.* 2012; Llinás & Gardenal 2012). Para el caso de *C. cactorum* estudios experimentales y análisis demográficos de historias de vida en diferentes poblaciones de la región oeste de Argentina, encontraron un menor desarrollo de las larvas en ambientes extremos (temperaturas  $<18^{\circ}$  y  $>34^{\circ}$ ) (Zimmermann & Moran 1991; Legaspi & Legaspi 2007) y que algunas las etapas clave del ciclo de vida de *C. cactorum* cambiaban entre poblaciones. Por ejemplo, la tasa de mortalidad de huevos por viento y lluvia es de 0.11 en Santiago del Estero y el norte de Córdoba y de 0.56 al sur de última (Logarzo *et al.* 2009).

Si bien las características ambientales pueden funcionar como barreras que limitan el flujo génico y como consecuencia la divergencia de las poblaciones, también el desfase en los ciclos de vida puede promover la diferenciación (Zimmer & Emlen 2013). Se ha documentado que *C. cactorum* puede completar más de un ciclo de vida al año en condiciones ambientales cálidas (Zimmermann & Pérez-Sandi 2006). Si esto sucede en Argentina la subdivisión poblacional no solo es resultado de la limitación del flujo génico, sino también es consecuencia de diferencias en los procesos evolutivos dentro de las poblaciones. Cuando hay limitación de flujo en efecto dentro de las poblaciones se hace más importante llevándolas a la pérdida de variación de manera exponencial conforme

pasan las generaciones. Por lo tanto pudo existir mayor pérdida de variación en aquellas poblaciones donde existen más generaciones por año, lo que podría haber acentuado la divergencia poblacional.

Contrario a lo que señaló Brooks *et al.* (2012), los resultados encontrados en el presente trabajo muestran que el ambiente si es importante en la estructuración de las poblaciones de *C. cactorum*. Si bien, al tratarse de un herbívoro especialista en el género *Opuntia*, la presencia del hospedero es una condición necesaria para su establecimiento, pero esta no es una condición suficiente. Muestra de eso son las localidades donde fueron encontradas plantas de diferentes hospederos potenciales pero sin indicios de la presencia de *C. cactorum*. Otra evidencia son las observaciones realizadas en las poblaciones introducidas de Sudáfrica por Zimmermann *et al.* (2007), allí se observó que el desarrollo de las poblaciones era menor en zona frías y montañosas.

Encontrar evidencia de que las condiciones ambientales pueden limitar el flujo génico y el desarrollo de *C. cactorum* fue importante para realizar una estimación de las zonas donde podría existir riesgo de expansión, particularmente hacia México. La teoría de nicho, aplicada a especies invasoras, afirma que debería existir una alta conservación entre las características climáticas en las que se desarrolla una especie en sus áreas nativa e invadida (Rejmanek *et al.* 2005). Sin embargo, algunos casos se ha encontrado que el grado de superposición entre estas áreas, yendo desde una superposición casi completa, hasta una dislocación total, pasando por concordancias parciales o que las que el área invadida es una sub-muestra de la zona nativa. Por ejemplo, Gallagher *et al.* (2010) en un análisis a 26 especies de plantas invasoras en Australia encontraron que 20 de las especies habían cambiado sus nichos.

Nuestros análisis de nicho indican que en el caso de *C. cactorum* el área invadida es una sub-muestra de las características ambientales de su hábitat natural original. El análisis de nicho realizado en este trabajo sugiere que la altitud es el factor que más podría delimitar la expansión hacia las zonas centrales de México. Sin embargo existen dos regiones que merecen planes de monitoreo constante para evitar la entrada de *C. cactorum* al país. Por un lado el Caribe es la zona de mayor probabilidad de establecimiento, donde se ha registrado ya su presencia en varias islas además de existir un constante flujo de corrientes de viento y huracanes entre las islas, la península de Yucatán y el golfo de México. Otra

zona que sería importante considerar es la frontera entre Texas y Nuevo León (Soberon *et al.* 2001); el modelo predice que la presencia de *C. cactorum* es cercana a las poblaciones ya registradas en Estados Unidos y ya habría contacto con algunas zonas de mayor diversidad de *Opuntia* y algunas zonas de cultivo de nopales para forraje. Respecto al resto del continente parece que las zonas que predice nuestro modelo coinciden con las zonas de distribución original, por lo tanto la posibilidad de una expansión hacia el norte desde su región nativa es poco probable.

Nuestros resultados muestran que la altitud, la temporalidad e isothermalidad son importantes, no solo para estructuración de las poblaciones de *C. cactorum* en su región nativa, sino que también han sido muy útiles para predecir donde podría desarrollarse. Un punto importante que faltaría explorar es si esas características únicamente limitan el flujo génico o si, como propone Haldane (1948), se estarían formando clinas como resultado del efecto de la migración y la selección natural.

## Bibliografía

- Anderson, C.D., Epperson, B.K., Fortin, M.-J., Holderegger, R., James, P.M.A., Rosenberg, M.S., Scribner, K.T., Spear, S., 2010. Considering spatial and temporal scale in landscape-genetic studies of gene flow. *Molecular Ecology* 19, 3565–3575. doi:10.1111/j.1365-294X.2010.04757.x.
- Andraca-Gómez, G., Ordano, M., Boege, K., Domínguez, C.A., Piñero, D., Pérez-Ishiwara, R., Pérez-Camacho, J., Cañizares, M., Fornoni, J., 2015. A potential invasion route of *Cactoblastis cactorum* within the Caribbean region matches historical hurricane trajectories. *Biological Invasions* 17, 1397–1406. doi:10.1007/s10530-014-0802-2.
- Biek, R., Real, L.A. 2010. The landscape genetics of infectious disease emergence and spread. *Molecular Ecology* 19, 3515–3531.
- Bolnick, D.I., Nosil, P., 2007. Natural Selection in Populations Subject to a Migration Load. *Evolution* 61, 2229–2243. doi:10.1111/j.1558-5646.2007.00179.x.
- Brooks, C.P., Ervin, G.N., Varone, L., Logarzo, G.A., 2012. Native ecotypic variation and the role of host identity in the spread of an invasive herbivore, *Cactoblastis cactorum*. *Ecology* 93, 402–410. doi:10.1890/11-0541.1.
- Brooks, C.P., Lambert, B.H., Sauby, K.E., Ervin, G.N., Varone, L., Logarzo, G.A., 2014. Larval morphology and host use confirms ecotypic variation in *Cactoblastis cactorum* (Berg). *Biological Invasions* 16, 13–22. doi:10.1007/s10530-013-0497-9.
- Bukovinszky, T., Gols, R., Agrawal, A.A., Roge, C., Bezemer, T. M., Biere, A., Harvey, J. A., 2014. Reciprocal interactions between native and introduced populations of common milkweed, *Asclepias syriaca*, and the specialist aphid, *Aphis nerii*. *Basic and Applied Ecology* 15, 444–452.
- Chapuis, M.-P., Estoup, A., 2007. Microsatellite Null Alleles and Estimation of Population Differentiation. *Molecular Biological and Evolution* 24, 621–631. doi:10.1093/molbev/msl191.
- Cowley, D.J., Johnson, O., Pocock, M.J., 2015. Using electric network theory to model the spread of oak processionary moth, *Thaumetopoea processionea*, in urban woodland patches. *Landscape Ecology* 30, 905–918.

- Cushman, S.A., McKelvey, K.S., Hayden, J., Schwartz, M.K., Helberg, A.E., Losos, E.J.B., 2006. Gene Flow in Complex Landscapes: Testing Multiple Hypotheses with Causal Modeling. *American Naturalist* 168, 486–499. doi:10.1086/506976.
- Dyer, R.J., 2009. GeneticStudio: a suite of programs for spatial analysis of genetic-marker data. *Molecular Ecology Resources* 9, 110–113. doi:10.1111/j.1755-0998.2008.02384.x.
- Elith, J., Phillips, S.J., Hastie, T., Dudík, M., Chee, Y.E., Yates, C.J., 2011. A statistical explanation of MaxEnt for ecologists. *Diversity and Distributions* 17, 43–57. doi:10.1111/j.1472-4642.2010.00725.x.
- Epperson, B.K., 2010. Spatial correlations at different spatial scales are themselves highly correlated in isolation by distance processes. *Molecular Ecology Resources* 10, 845–853. doi:10.1111/j.1755-0998.2010.02886.x.
- Gallagher, R.V., Beaumont, L.J., Hughes, L., Leishman, M.R., 2010. Evidence for climatic niche and biome shifts between native and novel ranges in plant species introduced to Australia. *Journal of Ecology* 98, 790-799.
- García, A., Pauro, M., Nores, R., Bravi, C. M., Demarchi, D.A., 2012. Phylogeography of mitochondrial haplogroup D1: An early spread of subhaplogroup D1j from Central Argentina. *American journal of physical anthropology* 149, 583-590.
- Goudet, J., 2002. Fstat ver. 2.9.3.2. Institute of Ecology, Biology Building, UNIL, CH-1015, Lausanne, Switzerland.
- Guillemaud, T., Blin, A., Le Goff, I., Desneux, N., Reyes, M., Tabone, E., Tsagkarakou, A., Niño, L., Lombaert, E., 2015. The tomato borer, *Tuta absoluta*, invading the Mediterranean Basin, originates from a single introduction from Central Chile. *Scientific reports* 5. doi:10.1038/srep08371.
- Guillot, G., Santos, F., Estoup, A., 2008. Analysing georeferenced population genetics data with Geneland: a new algorithm to deal with null alleles and a friendly graphical user interface. *Bioinformatics* 24, 1406–1407. doi:10.1093/bioinformatics/btn136.
- Haldane, J. B. S., 1948. The theory of a cline. *Journal of genetics* 48, 277-284.
- Hamilton, M.B., 2009. *Population Genetics*. Wiley Blackwell, USA. 404 pp.



- Hijmans, R.J., Cameron, S.E., Parra, J.L., Jones, P.G., Jarvis, A., 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25, 1965–1978. doi:10.1002/joc.1276.
- Kimura, M., 1968. Evolutionary rate at the molecular level. *Nature* 217, 624-626.
- Kinezaki, N., Kawasaki, K., Shigesada, N., 2010. The effect of the spatial configuration of habitat fragmentation on invasive spread. *Theoretical population biology* 78, 298-308.
- Legaspi, J.C., Legaspi, B.C., 2007. Life Table Analysis for *Cactoblastis cactorum* Immatures and Female Adults under Five Constant Temperatures: Implications for Pest Management. *Annals of the Entomological Society of America* 100, 497–505. doi:10.1603/0013-8746(2007)100[497:LTAFC]2.0.CO;2.
- Legendre, P., Legendre, L., 1998. Numerical ecology: second English edition. *Developments in environmental modelling*, 20.
- Llinás, G.A., Gardenal, C.N., 2012. Phylogeography of *Aedes aegypti* in Argentina: Long-Distance Colonization and Rapid Restoration of Fragmented Relicts After a Continental Control Campaign. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 12, 254–261. doi:10.1089/vbz.2011.0696.
- Logarzo, G., Varone, L., Briano, J., 2009. Cactus moth, pag 65-76. En: Annual Report. South American Biological Control Laboratory, USDA-ARS
- Löwenberg-Neto, P., 2014. Neotropical region: a shapefile of Morrone's (2014) biogeographical regionalization. *Zootaxa* 3802, 300–300. doi:10.11646/zootaxa.3802.2.12.
- Malausa, T., Dalecky, A., Ponsard, S., Audiot, P., Streiff, R., Chaval, Y., Bourguet, D., 2007. Genetic structure and gene flow in French populations of two *Ostrinia* taxa: host races or sibling species?. *Molecular Ecology* 16, 4210-4222.
- Manel, S., Schwartz, M.K., Luikart, G., Taberlet, P., 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology and Evolution* 18, 189–197. doi:10.1016/S0169-5347(03)00008-9.
- Manni, F., Guerard, E., Heyer, E., 2004. Geographic Patterns of (Genetic, Morphologic, Linguistic) Variation: How Barriers Can Be Detected by Using Monmonier's Algorithm. *Human Biology* 76, 173–190. doi:10.1353/hub.2004.0034.

- Mantel, N., 1967. The Detection of Disease Clustering and a Generalized Regression Approach. *Cancer Research* 27, 209–220.
- Marsico, T.D., Wallace, L.E., Ervin, G.N., Brooks, C.P., McClure, J.E., Welch, M.E., 2011. Geographic patterns of genetic diversity from the native range of *Cactoblastis cactorum* (Berg) support the documented history of invasion and multiple introductions for invasive populations. *Biological Invasions* 13, 857–868. doi:10.1007/s10530-010-9874-9.
- McRae, B.H., 2006. Isolation by Resistance. *Evolution* 60, 1551–1561. doi:10.1111/j.0014-3820.2006.tb00500.x.
- McRae, B.H., Beier, P., 2007. Circuit theory predicts gene flow in plant and animal populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104, 19885–19890. doi:10.1073/pnas.0706568104.
- McRae, B.H., Dickson, B.G., Keitt, T.H., Shah, V.B., 2008. Using Circuit Theory to Model Connectivity in Ecology, Evolution, and Conservation. *Ecology* 89, 2712–2724. doi:10.1890/07-1861.1.
- McRae, B.H., Shah, V.B., Mohapatra, T.K., 2013. Circuitscape 4 User Guide. The Nature Conservancy. <http://www.circuitscape.org>.
- Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. *The American Naturalist* 106, 283–292.
- New, T.R., 2016. Alien Species and Insect Conservation. Springer International Publishing, Cham.
- Oksanen, J., 2009. Multivariate analysis of ecological communities in R: vegan tutorial. URL:[<http://cc.oulu.fi/jarioksa/opetus/metodi/vegantutor.pdf>].
- Orsini, L., Vanoverbeke, J., Swillen, I., Mergeay, J., De Meester, L., 2013. Drivers of population genetic differentiation in the wild: isolation by dispersal limitation, isolation by adaptation and isolation by colonization. *Molecular Ecology* 22, 5983–5999. doi:10.1111/mec.12561.
- Phillips, S.J., Dudík, M., 2008. Modeling of species distributions with Maxent: new extensions and a comprehensive evaluation. *Ecography* 31, 161–175. doi:10.1111/j.0906-7590.2008.5203.x.

- Piry, S., Alapetite, A., Cornuet, J.-M., Paetkau, D., Baudouin, L., Estoup, A., 2004. GENECLASS2: A Software for Genetic Assignment and First-Generation Migrant Detection. *Journal of Heredity* 95, 536–539. doi:10.1093/jhered/esh074.
- Rannala, B., Mountain, J.L., 1997. Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94, 9197–9201.
- Rejmánek, M., Richardson, D. M., Pyšek, P., 2005. Plant invasions and invasibility of plant communities. *Vegetation ecology*, 332-355.
- Robertson, H. G. 1985. Egg predation by ants as a partial explanation of the difference in performance of *Cactoblastis cactorum* on cactus weeds in South Africa and Australia, pp. 83Ð 88. In E. S. Delfosse [ed.], *Proceedings of the VI International Symposium on Biological Control of Weeds*, 19-25 August 1984, Vancouver, British Columbia, Canada. Agriculture Canada, Ottawa, Ontario, Canada.
- Robertson, H. G. 1988. Spatial and temporal patterns of predation by ants on eggs of *Cactoblastis cactorum*. *Ecological Entomology* 13: 207-214.
- Robertson, H. G. 1989. Seasonal temperature effects on fecundity of *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Lepidoptera: Pyralidae): differences between South Africa and Australia. *Journal of the Entomological Society of Australia*. (N.S.W.) 52: 71- 80.
- Rousset, F., 2008. Genepop 007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecological Resources* 8, 103-106. doi:10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x.
- Saul, W.-C., Jeschke, J., Heger, T., 2013. The role of eco-evolutionary experience in invasion success. *NeoBiota* 17, 57-74. doi:10.3897/neobiota.17.5208.
- Sexton, J.P., Hangartner, S.B., Hoffmann, A.A., 2014. Genetic Isolation by Environment or Distance: Which Pattern of Gene Flow Is Most Common? *Evolution* 68, 1–15. doi:10.1111/evo.12258
- Simonsen, T.J., Brown, R.L., Sperling, F.A.H., 2008. Tracing an Invasion: Phylogeography of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) in the United States Based on Mitochondrial DNA. *Annals of the Entomological Society of America* 101, 899-905. doi:10.1093/aesa/101.5.899.
- Sinama, M., Dubut, V., Costedoat, C., Gilles, A., Junker, M., Malausa, T., Martin, J.F., Nève, G., Pech, N., Schitt, T., Zimmermann, M., Megléc, E., 2011. Challenges of

- microsatellite development in Lepidoptera: *Euphydryas aurinia* (Nymphalidae) as a case study. *European Journal of Entomology* 108, 261.
- Soberon, J., Golubov, J., Sarukhán, J., 2001. The Importance of *Opuntia* in Mexico and Routes of Invasion and Impact of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae). *Florida Entomologist* 84, 486-492. doi:10.2307/3496376.
- Weir, B. S., Cockerham, C.C., 1996. Genetic data analysis II: Methods for discrete population genetic data. Sinauer Assoc. Inc., Sunderland, MA, EUA.
- Wright S., 1943. Isolation by distance. *Genetics* 28:114–38.
- Zeller, K.A., McGarigal, K., Whiteley, A.R., 2012. Estimating landscape resistance to movement: a review. *Landscape Ecology* 27, 777-797. doi:10.1007/s10980-012-9737-0.
- Zimmer, C., Emlen, D.J., 2013. Evolution. Making sense of life. Planet Friendly Publishing. EUA.
- Zimmermann H. G. Pérez- Sandi, M., 2006. The consequences of introducing the cactus moth *Cactoblastis cactorum* to the Caribbean and beyond.
- Zimmermann, H.G., Moran, V.C., 1991. Biological control of prickly pear, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae), in South Africa. *Agriculture, ecosystems & environment* 37, 29-35. doi:10.1016/0167-8809(91)90137-M.

## Material suplementario

S1. Matriz de valores pareados de  $F_{ST}$  (bajo la diagonal) y valores de  $D_{ps}$  (alelos compartidos) (arriba de la diagonal) de *Cactoblastis cactorum* en 24 poblaciones nativas de Argentina. Todos los valores fueron significativos

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
1		0.559	0.629	0.699	0.588	0.575	0.748	0.645	0.709	0.604	0.713	0.689	0.680	0.712	0.718	0.718	0.425	0.429	0.552	0.477	0.493	0.510	0.547	0.530
2	0.203		0.417	0.350	0.403	0.431	0.610	0.405	0.529	0.491	0.588	0.608	0.534	0.545	0.618	0.505	0.586	0.521	0.479	0.525	0.596	0.408	0.553	0.442
3	0.219	0.111		0.485	0.423	0.388	0.606	0.496	0.601	0.495	0.622	0.653	0.593	0.570	0.544	0.578	0.658	0.505	0.416	0.537	0.644	0.438	0.498	0.482
4	0.275	0.075	0.231		0.451	0.486	0.573	0.461	0.482	0.476	0.617	0.620	0.518	0.597	0.631	0.530	0.643	0.508	0.589	0.543	0.664	0.493	0.593	0.538
5	0.203	0.140	0.125	0.156		0.489	0.580	0.446	0.493	0.440	0.523	0.520	0.450	0.501	0.507	0.537	0.651	0.459	0.461	0.505	0.661	0.444	0.565	0.428
6	0.183	0.096	0.064	0.191	0.154		0.541	0.420	0.461	0.396	0.546	0.570	0.474	0.527	0.553	0.513	0.643	0.358	0.358	0.347	0.656	0.365	0.381	0.355
7	0.255	0.199	0.206	0.251	0.223	0.189		0.588	0.494	0.462	0.496	0.610	0.507	0.565	0.574	0.547	0.701	0.591	0.632	0.582	0.716	0.555	0.577	0.584
8	0.181	0.091	0.108	0.161	0.112	0.082	0.137		0.487	0.445	0.565	0.575	0.523	0.574	0.551	0.486	0.543	0.505	0.528	0.554	0.593	0.333	0.592	0.439
9	0.223	0.140	0.210	0.165	0.150	0.166	0.141	0.095		0.460	0.444	0.427	0.334	0.488	0.552	0.357	0.637	0.459	0.588	0.565	0.672	0.515	0.613	0.552
10	0.168	0.129	0.148	0.189	0.116	0.097	0.130	0.080	0.107		0.476	0.470	0.438	0.490	0.569	0.518	0.611	0.450	0.504	0.408	0.665	0.406	0.459	0.391
11	0.214	0.161	0.217	0.237	0.173	0.199	0.168	0.121	0.098	0.134		0.479	0.337	0.398	0.519	0.425	0.734	0.462	0.525	0.550	0.716	0.521	0.597	0.443
12	0.278	0.260	0.291	0.322	0.230	0.266	0.283	0.188	0.144	0.189	0.139		0.374	0.444	0.580	0.511	0.699	0.486	0.570	0.550	0.710	0.547	0.649	0.508
13	0.217	0.159	0.207	0.207	0.144	0.166	0.188	0.108	0.059	0.112	0.075	0.084		0.339	0.469	0.402	0.668	0.429	0.508	0.485	0.686	0.471	0.551	0.459
14	0.257	0.195	0.229	0.274	0.218	0.201	0.259	0.155	0.140	0.175	0.127	0.111	0.068		0.585	0.435	0.738	0.510	0.523	0.544	0.763	0.511	0.602	0.404
15	0.246	0.227	0.210	0.304	0.218	0.180	0.204	0.158	0.191	0.177	0.172	0.255	0.173	0.224		0.543	0.693	0.524	0.590	0.611	0.666	0.532	0.640	0.556
16	0.230	0.164	0.235	0.213	0.194	0.206	0.216	0.097	0.076	0.140	0.137	0.151	0.099	0.146	0.229		0.658	0.489	0.477	0.550	0.661	0.482	0.604	0.472
17	0.079	0.204	0.237	0.280	0.228	0.204	0.222	0.167	0.192	0.179	0.201	0.276	0.214	0.256	0.247	0.209		0.539	0.659	0.589	0.307	0.542	0.652	0.645
18	0.106	0.134	0.126	0.199	0.096	0.091	0.143	0.076	0.101	0.076	0.108	0.152	0.093	0.140	0.152	0.136	0.140		0.419	0.378	0.530	0.374	0.434	0.368
19	0.162	0.182	0.150	0.269	0.122	0.140	0.244	0.140	0.209	0.137	0.207	0.268	0.187	0.239	0.221	0.192	0.241	0.105		0.417	0.677	0.384	0.415	0.351
20	0.074	0.202	0.224	0.258	0.190	0.176	0.224	0.179	0.208	0.144	0.227	0.267	0.208	0.261	0.230	0.223	0.124	0.118	0.157		0.584	0.448	0.291	0.258
21	0.082	0.194	0.227	0.236	0.205	0.195	0.217	0.163	0.185	0.176	0.200	0.260	0.192	0.244	0.218	0.181	0.041	0.126	0.217	0.109		0.595	0.670	0.632
22	0.140	0.101	0.103	0.183	0.117	0.068	0.138	0.052	0.105	0.065	0.123	0.188	0.100	0.124	0.159	0.101	0.165	0.042	0.075	0.146	0.158		0.477	0.351
23	0.076	0.163	0.169	0.252	0.179	0.134	0.198	0.151	0.206	0.138	0.223	0.295	0.201	0.246	0.224	0.224	0.139	0.099	0.122	0.035	0.132	0.094		0.412
24	0.127	0.110	0.096	0.202	0.101	0.076	0.172	0.082	0.146	0.071	0.126	0.195	0.129	0.158	0.148	0.159	0.177	0.058	0.064	0.136	0.174	0.028		0.102

S2. Estimación de la contribución relativa de las diferentes variables ambientales en el modelo Maxent para *Cactoblastis cactorum*. Para el modelo completo fueron incluidas las condiciones de todas las poblaciones de Argentina; en el modelo Concordia la proyección se realizó con las variables ambientales de Concordia (este argentino)

Modelo	Variable	% de contribución
Solo Argentina		
	Temperatura promedio del cuatrimestre más frío	46.2
	Suelo	20.7
	Precipitación anual	14.8
	Altitud	13.8
América modelo completo		
	Estacionalidad	60.2
	Precipitación del cuatrimestre más caliente	15.9
	Temperatura promedio del cuatrimestre más frío	12.8
América Concordia		
	Altitud	72.2
	Estacionalidad	18.1
	Temperatura promedio	6.2

## Discusión General

Los resultados muestran que las características ambientales como la altitud y la estacionalidad son importantes para modelar la estructura genética de las poblaciones de *C. cactorum*. Los patrones de flujo cambian entre las poblaciones nativas y las invadidas. En Argentina, su área de distribución nativa, los tipos de suelo y el clima, así como la altitud parecen estar funcionando como agentes limitantes para el flujo génico (Capítulo 3). Por otro lado, en el área invadida del Caribe, la expansión y la estructura de las poblaciones se ha visto favorecida por dispersión a larga distancia mediada por los huracanes y por factores antropogénicos como el comercio (Capítulos 1 y 2). En otros casos se ha observado que en las áreas invadidas existen factores ambientales favorables. Ejemplos similares incluyen a la polilla, *Uraba lugens*, que ha volado grandes distancias (11km) favorecida por las corrientes de viento o el escarabajo de la papa (*Leptinotarsa decemlineata*) y la mosca parásita de aves introducida en las islas galápagos (*Philornis downsi*), que se han desplazado más en años con tormentas y vientos extraordinarios o fenómenos del niño en las Galápagos (Grapputo *et al.* 2005, Dudaniec *et al.* 2008). Respecto a las invasiones en el caribe, Johnston y Purkis (2011) asociaron el movimiento de del pez león colorado *Pterois volitans* con las corrientes que generan los huracanes; Pratt *et al.* (2006) reporta la presencia del psílido *Boreioglycaspis melaleucae* después del paso de huracanes por las Antillas y México, sin poner a prueba si en efecto las corrientes o huracanes habían expandido las poblaciones. Las variaciones en el patrón de flujo génico en las especies invasoras confirman como los procesos evolutivos pueden estar cambiando en las poblaciones.

El análisis de la diversidad genética en las poblaciones nativas e invadidas permite evaluar los procesos demográficos que han ocurrido como resultado de la invasión. Los datos obtenidos en este trabajo con un marcador mitocondrial y con microsatélites nucleares muestran una disminución de la variación genética en las poblaciones invadidas. Para COI se encontraron tres de los cuatro haplotipos reportados para la región del Caribe en trabajos previos (Simonsen *et al.* 2008; Marsico *et al.* 2011). Mientras que con microsatélites la riqueza alélica y los valores de heterocigocidad observada en el Caribe fueron menores a los encontrados en las poblaciones nativas de Argentina. Este resultado

era de esperarse, ya que procesos como cuellos de botella y/o efectos fundadores son recurrentes durante los eventos de introducción o en la expansión natural de las poblaciones. En cerca del 68% de los trabajos donde se ha comparado la diversidad genética entre poblaciones nativas e invadidas existió una disminución de variación genética en las poblaciones introducidas respecto a la encontrada en las regiones nativas (Alexander *et al.* 2009; Astanei *et al.* 2008; Coisi *et al.* 2008, DeWalt *et al.* 2011; Doorduyn *et al.* 2010; Hassan *et al.* 2003; Maron *et al.* 2004; Puillandre *et al.* 2008; Rubinoff *et al.* 2010; Suarez *et al.* 2008; Stepien *et al.* 2002; Thuling *et al.* 2006, Tonione *et al.* 2011; Tsutsui *et al.* 2000). Esta disminución en la variación genética podría afectar la posibilidad de establecimiento de algunas especies introducidas, como el caso de algunos parasitoides que han sido utilizados para controlar plagas de áfidos. En poblaciones introducidas de estas especies se ha observado una menor habilidad para romper los mecanismos de defensa de los áfidos (Hufbauer 2002).

Sin embargo no siempre la disminución de la variación genética como resultado del efecto de la deriva es negativo; por ejemplo, Perez- Figueroa *et al.* (2009) muestran que existen poblaciones que a pesar de haber pasado por los cuellos de botella drásticos (poblaciones de máximo diez individuos) han sido capaces de establecerse en nuevos ambientes y aumentar su tamaño. En caso de existir una reducción en el tamaño poblacional la deriva y la endogamia provocarán descenso en el número de heterocigos y la pérdida de aquellos alelos que se encuentren en bajas frecuencias. Si pensamos en alelos recesivos deletéreos que generalmente se encuentran en frecuencias bajas, entonces se podría estar dando como resultado una purga de genes (Fauvergue *et al.* 2012), lo cual podría favorecer a las poblaciones. En algunos casos de especies introducidas en prácticas de control biológico se tiene la hipótesis de que esa purga de genes les permite establecerse y expandir sus poblaciones al presentar poco alelos selectivamente negativos. Por ejemplo las poblaciones nativas de la catarina *Harmonia axyridis* utilizada para control de áfidos presentan mayor depresión por endogamia (Lombaert *et al.* 2010). Para *C. cactorum* se observó que las poblaciones han respondido favorablemente a los cuellos de botella, nuestros resultados muestran tamaños poblacionales pequeños y pérdida de alelos en Antigua, Nevis, Puerto Rico y Palisadores. Sin embargo el coeficiente de endogamia ( $F_{IS}$ ) en la mayoría de las poblaciones del Caribe no fue significativo, comparado con lo

obtenido para las poblaciones de Argentina donde la mayoría de las poblaciones presentan una deficiencia de heterocigocidad.

El hecho de que factores ambientales estén promoviendo la estructura genética en las poblaciones nativas de *C. cactorum* en Argentina, confirma la importancia que el ambiente tiene para que esta especie continúe expandiéndose. El ambiente parece ya haber jugado un papel importante en otras regiones donde *C. cactorum* ha sido introducido, por ejemplo la baja tasa de desarrollo que presentaron las larvas en Sudáfrica cuando se encontraban en zonas altas y frías (Zimmermann *et al.* 2007). Por esta razón fue muy importante el modelado de la distribución potencial de *C. cactorum* tomando en cuenta solamente las características de las poblaciones de donde fueron obtenidas las larvas introducidas para control biológico en Australia, Sudáfrica y posteriormente el Caribe. Al delimitar los factores ambientales, el modelo construido se empalmó de mejor forma con la localización de las poblaciones introducidas ya existentes en comparación con las proyecciones realizadas anteriormente (Brooks *et al.* 2012). Esta concordancia entre el modelo y las poblaciones ya existentes, así como las observaciones hechas en Sudáfrica nos confirma que la altitud puede ser un factor importante en la expansión de las poblaciones de *C. cactorum* especialmente hacia México.

Con respecto a la factibilidad de que las poblaciones de *C. cactorum* se sigan expandiendo hacia México, en esta tesis se encontró que los huracanes y actividades humanas como el comercio pueden favorecer la dispersión. Por otro lado, también se mostró que las zonas costeras y de baja altitud son las que tienen un mayor riesgo de establecimiento. Debe tomarse en cuenta esta información para plantear estrategias que eviten un reingreso a México; de donde después de los primeros eventos de introducción ocurridos en Isla Contoy e Isla Mujeres pudo ser erradicado. Se debe continuar con las regulaciones en el comercio con países donde se han registrado poblaciones de *C. cactorum*, además de establecer convenios con países como Cuba. En particular la población de Pinar del Río se encuentra separada por pocos kilómetros, lo que podría propiciar un reingreso facilitado por el constante paso de huracanes entre la región noreste de Cuba y la península de Yucatán, región donde se distribuye especies como *Opuntia dilenii* que ha sido ya utilizada como planta huésped en algunas islas del Caribe.



Sin duda se puede considerar a la península de Yucatán como el foco de mayor atención por tener las condiciones ambientales y de hospederos potenciales idóneas, además de ser un territorio afectado continuamente por huracanes. Sin embargo, la región norte de México también debe monitorearse. Si bien los estados norteros del país no presentan una alta probabilidad en nuestro modelado de nicho, la cercanía con poblaciones de *C. cactorum* en el sur de Estados Unidos los convierte en zonas de riesgo; además de ser zonas con altas densidades de especies nativas y de cultivos comerciales, lo cual podría permitir el establecimiento de *C. cactorum*.

Es muy importante tomar en cuenta todos los datos de los que se dispongan para proponer planes de monitoreo de especies y su posible expansión y de esa forma no solo controlar las invasiones, sino también evitar consecuencias negativas de algunos casos de prácticas de control biológico donde se pasó por alto la posibilidad de que las especies pueden modificar sus requerimientos ambientales (Gallagher *et al.* 2010). O La capacidad de modificar sus interacciones. Por ejemplo, el braconido *Microctonus aethioides* introducido originalmente para controlar el gorgojo de la alfalfa *Sitona discoideus* en Nueva Zelanda, actualmente ha puesto en peligro 19 especies de escarabajos nativos en la región (Barratt *et al.* 2012); también el depredador de semillas *Rhinocyllus conicus*, que fue introducido para eliminar una especie de *Cardus*, ahora ataca otras especies nativas de *Cardus* y *Cirsium* reduciendo no solo su número de individuos si no de polinizadores asociados a ellos (Cory & Myers 2000). Finalmente, que pueden encontrar las condiciones idóneas para expandir sus poblaciones, como el caso de la catarina *Harmonia axyridis* que ha sido introducida repetidamente en varias partes del mundo para control de áfidos de los cítricos y ahora ha expandido sus poblaciones por todos los continentes (Lombaert *et al.* 2010, Lombaert *et al.* 2011).

Esta tesis permitió evaluar, la diversidad y estructura genética; así como los patrones de flujo génico de *C. cactorum*, factores evolutivos importantes para la formulación de programas de control de plagas (Cerritos *et al.* 2012). Sin embargo falta conocer si han desarrollado adaptaciones locales con el ambiente y los hospederos y poder relacionar si los factores bióticos y abióticos afectan la adecuación de las poblaciones. Para ello sería interesante buscar mediante barridos genéticos más extensos genes que se encuentren correlacionados con la altitud, enfocándose principalmente en la comparación

ente las poblaciones de mayor y menor altitud de la distribución nativa. Estos datos proveerían información importante para entender el proceso de invasión y en particular elementos necesarios para evaluar la viabilidad de realizar prácticas de control biológico.

## Bibliografía

- Alexander, J.M., Poll, M., Dietz, H., Edwards, P.J., 2009. Contrasting patterns of genetic variation and structure in plant invasions of mountains. *Diversity and Distributions* 15, 502-512.
- Allendorf, F.W., Lundquist, L.L., 2003. Introduction: Population Biology, Evolution, and Control of Invasive Species. *Conservation Biology* 17, 24-30. doi:10.1046/j.1523-1739.2003.02365.x.
- Astaneï, I., Gosling, E., Wilson, J. I. M., Powell, E., 2005. Genetic variability and phylogeography of the invasive zebra mussel, *Dreissena polymorpha* (Pallas). *Molecular Ecology* 14, 1655-1666.
- Barratt, B. I. P., Worner, S. P., Affeld, K., Ferguson, C. M., Barton, D. M., Bell, N. L., Townsend, R. J., 2012. Biodiversity of indigenous tussock grassland sites in Otago, Canterbury and the Central North Island of New Zealand VI. Coleoptera biodiversity, community structure, exotic species invasion, and the effect of disturbance by agricultural development. *Journal of the Royal Society of New Zealand* 42, 217-239.
- Blackburn, T.M., Pyšek, P., Bacher, S., Carlton, J.T., Duncan, R.P., Jarošík, V., Wilson, J.R.U., Richardson, D.M., 2011. A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in Ecology and Evolution* 26, 333-339. doi:10.1016/j.tree.2011.03.023.
- Brooks, C.P., Ervin, G.N., Varone, L., Logarzo, G.A., 2012. Native ecotypic variation and the role of host identity in the spread of an invasive herbivore, *Cactoblastis cactorum*. *Ecology* 93, 402-410. doi:10.1890/11-0541.1.
- Cerritos, R., Wegier, A., Alavez, V., 2012. Toward the development of novel long-term pest control strategies based on insect ecological and evolutionary dynamics. *Agricultural and Biological Sciences: Integrated Pest Management and Pest Control—Current and Future Tactics*. InTech, 35-62.
- Ciosi, M., Miller, N.J., Kim, K.S., Giordano, R., Estoup, A., Guillemaud, T., 2008. Invasion of Europe by the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera*: multiple transatlantic introductions with various reductions of genetic diversity. *Molecular Ecology* 17, 3614-3627. doi:10.1111/j.1365-294X.2008.03866.x.

- Cory, J. S., Myers, J. H., 2000. Direct and indirect ecological effects of biological control. *Trends in Ecology and Evolution* 15, 137-139.
- DeWalt, S.J., Siemann, E., Rogers, W.E., 2011. Geographic distribution of genetic variation among native and introduced populations of Chinese tallow tree, *Triadica sebifera* (Euphorbiaceae). *American Journal of Botany* 98, 1128-1138.
- Doorduyn, L.J., Van Den Hof, K., Vrieling, K., Joshi, J., 2010. The lack of genetic bottleneck in invasive *Tansy ragwort* populations suggests multiple source populations. *Basic and Applied Ecology* 11, 244-250.
- Dudaniec, R. Y., Gardner, M. G., Donnellan, S., Kleindorfer, S., 2008. Genetic variation in the invasive avian parasite, *Philornis downsi* (Diptera, Muscidae) on the Galápagos archipelago. *BMC ecology*, 8, 13.
- Estoup, A., Guillemaud, T., 2010. Reconstructing routes of invasion using genetic data: why, how and so what? *Molecular Ecology* 19, 4113-4130. doi:10.1111/j.1365-294X.2010.04773.x.
- Estoup, A., Lombaert, E., Marin, J.-M., Guillemaud, T., Pudlo, P., Robert, C.P., Cornuet, J.-M., 2012. Estimation of demo-genetic model probabilities with Approximate Bayesian Computation using linear discriminant analysis on summary statistics. *Molecular Ecology Resources* 12, 846-855. doi:10.1111/j.1755-0998.2012.03153.x.
- Everett, R.A., 2000. Patterns and pathways of biological invasions. *Trends in Ecology and Evolution* 15, 177-178. doi:10.1016/S0169-5347(00)01835-8.
- Fauvergue, X., Vercken, E., Malausa, T., Hufbauer, R. A., 2012. The biology of small, introduced populations, with special reference to biological control. *Evolutionary applications* 5, 424-443.
- Fitzpatrick, B.M., Johnson, J.R., Kump, D.K., Smith, J.J., Voss, S.R., Shaffer, H.B., 2010. Rapid spread of invasive genes into a threatened native species. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107, 3606-3610. doi:10.1073/pnas.0911802107.
- Gallagher, R.V., Beaumont, L.J., Hughes, L., Leishman, M.R., 2010. Evidence for climatic niche and biome shifts between native and novel ranges in plant species introduced to Australia. *Journal of Ecology* 98, 790-799.

- Grapputo, A., Boman, S., Lindstroem, L., Lyytinen, A., Mappes, J., 2005. The voyage of an invasive species across continents: genetic diversity of North American and European Colorado potato beetle populations. *Molecular Ecology* 14, 4207-4219.
- Habeck, D. H., Bennett, F. D., 1990. *Cactoblastis cactorum* Berg (*Lepidoptera: Pyralidae*), a phycitine new to Florida. Fla. Department Agric. & Consumer Services, Division of Plant Industry.
- Hassan, M., Harmelin-Vivien, M., Bonhomme, F., 2003. Lessepsian invasion without bottleneck: example of two rabbitfish species (*Siganus rivulatus* and *Siganus luridus*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 291, 219-232.
- Hufbauer, R. A., 2002. Evidence for nonadaptive evolution in parasitoid virulence following a biological control introduction. *Ecological Applications* 12, 66-78.
- Johnston, M.W., Purkis, S.J., 2011. Spatial analysis of the invasion of lionfish in the western Atlantic and Caribbean. *Marine Pollution Bulletin* 62, 1218-1226. doi:10.1016/j.marpolbul.2011.03.028.
- LaRue, E.A., Ruetz, C.R., Stacey, M.B., Thum, R.A., 2011. Population genetic structure of the round goby in Lake Michigan: implications for dispersal of invasive species. *Hydrobiologia* 663, 71-82. doi:10.1007/s10750-010-0555-6.
- Lee, C. E. 2002. Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in Ecology and Evolution* 17, 386-391.
- Lombaert, E., Guillemaud, T., Cornuet, J.-M., Malausa, T., Facon, B., Estoup, A., 2010. Bridgehead Effect in the Worldwide Invasion of the Biocontrol Harlequin Ladybird. *PLOS ONE* 5, e9743. doi:10.1371/journal.pone.0009743.
- Lombaert, E., Guillemaud, T., Lundgren, J., Koch, R., Facon, B., Grez, A., Loomans, A., Lombaert, E., Guillemaud, T., Thomas, C. E., Lawson Handley, L. J., Li, J., Wang, S., Pang, H., Goryacheva, I., Zakharov, I. A., Jouselin, E., Poland, R. L., Migeon, A., Van Lenteren, J., De Clercq, P., Berkvens, N., Jones, W., Estoup, A., 2011. Inferring the origin of populations introduced from a genetically structured native range by approximate Bayesian computation: case study of the invasive ladybird *Harmonia axyridis*. *Molecular Ecology* 20, 4654-4670.
- Malausa, T., Nedved, O., Rhule, E., Staverlokk, A., Steenberg, T., Estoup, A., 2014. Complementarity of statistical treatments to reconstruct worldwide routes of

- invasion: the case of the Asian ladybird *Harmonia axyridis*. *Molecular Ecology* 23, 5979-5997. doi:10.1111/mec.12989.
- Maron, J. L., Vilà, M., Bommarco, R., Elmendorf, S., Beardsley, P., 2004. Rapid evolution of an invasive plant. *Ecological Monographs* 74, 261-280.
- Marsico, T.D., Wallace, L.E., Ervin, G.N., Brooks, C.P., McClure, J.E., Welch, M.E., 2011. Geographic patterns of genetic diversity from the native range of *Cactoblastis cactorum* (Berg) support the documented history of invasion and multiple introductions for invasive populations. *Biological Invasions* 13, 857–868. doi:10.1007/s10530-010-9874-9.
- New, T.R., 2016. *Alien Species and Insect Conservation*. Springer International Publishing, Cham.
- Pemberton, R.W., 1995. *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) in the United States. An immigrant biological control agent or an introduction of the nursery trade? *American Entomologist* 41, 230-232.
- Perez-Figueroa, A., Caballero, A., Garcia-Dorado, A., Lopez-Fanjul, C., 2009. The action of purifying selection, mutation and drift on fitness epistatic systems. *Genetics* 183, 299-313.
- Pratt, P.D., Rayamajhi, M.B., Bernier, L.S., Center, T.D., 2006. Geographic Range Expansion of *Boreioglycaspis melaleucae* (Hemiptera: Psyllidae) to Puerto Rico. *Florida Entomologist* 89, 529-531.
- Puillandre, N., Dupas, S., Dangles, O., Zeddani, J.L., Capdevielle-Dulac, C., Barbin, K., Torres-Leguizamon, M., Silvain, J.F., 2008. Genetic bottleneck in invasive species: the potato tuber moth adds to the list. *Biological Invasions* 10, 319–333.
- Robertson, H.G., Hoffmann, J.H., 1989. Mortality and life-tables of *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Lepidoptera:Pyralidae) compared on two host-plant species. *Bulletin of Entomological Research* 79, 7-17.
- Rollins, L.A., Woolnough, A.P., Wilton, A.N., Sinclair, R., Sherwin, W.B., 2009. Invasive species can't cover their tracks: using microsatellites to assist management of starling (*Sturnus vulgaris*) populations in Western Australia. *Molecular Ecology* 18, 1560-1573. doi:10.1111/j.1365-294X.2009.04132.x.

- Rubinoff, D., Holland, B.S., Shibata, A., Messing, R.H., Wright, M. G., 2010. Rapid Invasion Despite Lack of Genetic Variation in the Erythrina Gall Wasp (*Quadrastichus erythrinae* Kim) 1. *Pacific Science* 64, 23-31.
- Sakai, A.K., Allendorf, F.W., Holt, J.S., Lodge, D.M., Molofsky, J., With, K.A., Baughman, S., Cabin, R.J., Cohen, J.E., Ellstrand, N.C., McCauley, D.E., O'Neil, P., Simberloff, D., Stiling, P., 1996. How Risky is Biological Control? *Ecology* 77, 1965-1974. doi:10.2307/2265693.
- Simonsen, T.J., Brown, R.L., Sperling, F.A.H., 2008. Tracing an Invasion: Phylogeography of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) in the United States Based on Mitochondrial DNA. *Annals of the Entomological Society of America* 101, 899-905. doi:10.1093/aesa/101.5.899.
- Stepien, C.A., Taylor, C.D., Dabrowska, K. A., 2002. Genetic variability and phylogeographical patterns of a nonindigenous species invasion: a comparison of exotic vs. native zebra and quagga mussel populations. *Journal of Evolutionary Biology* 15, 314-328.
- Suarez, A.V., Holway, D.A., Tsutsui, N.D., 2008. Genetics and behavior of a colonizing species: The invasive Argentine ant. *The American Naturalist* 172, S72-S84.
- Thuling, C.G., Simberloff, D., Barun, A., Mccracken, G., Pascal, M., Islam, M.A., 2006. Genetic divergence in the small Indian mongoose (*Herpestes auropunctatus*), a widely distributed invasive species. *Molecular Ecology* 15, 3947-3956.
- Tonione, M.A., Reeder, N., Moritz, C.C., 2011. High genetic diversity despite the potential for stepping-stone colonizations in an invasive species of gecko on Moorea, French Polynesia. *PLoS One* 6, e26874.
- Tsutsui, N.D., Case, T.J., 2001. Population genetics and colony structure of the argentine ant (*linepithema humile*) in its native and introduced ranges. *Evolution* 55, 976-985. doi:10.1554/0014-3820(2001)055[0976:PGACSO]2.0.CO;2.
- Tsutsui, N.D., Suarez, A.V., Holway, D.A., Case, T.J., 2000. Reduced genetic variation and the success of an invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97, 5948-5953. doi:10.1073/pnas.100110397.

- Wang, I.J., 2010. Recognizing the temporal distinctions between landscape genetics and phylogeography. *Molecular Ecology* 19, 2605–2608. doi:10.1111/j.1365-294X.2010.04715.x.
- Williamson, M., Fitter, A., 1996. The varying success of invaders. *Ecology* 77, 1661-1666.
- Zimmermann, H.G., Bloem, S., Klein, H., 2007. *Cactoblastis cactorum*. The Biology, history, threat, surveillance and control of the cactus moth. FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture.