

Variación genética y morfológica del nematodo quiste de la papa *Globodera pallida* (Nematoda: Heteroderidae) en el Centro y Nororiente de Colombia

Leonardo Villalba Campos

Trabajo de Grado para Optar al Título de Magister en Biología

Directora

Claudia Maria Holguin A.

Doctorado en Ciencias Vegetales y Ambientales

Codirector

Sergio Andres Marchant Rojas

Doctorado en Ciencias Biológicas

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Biología

Bucaramanga

2026

Dedicatoria

A Gabriela, Tadea, Mónica, Manuel y Leonardo.

Agradecimientos

A Dios, a mi familia y a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia). A mis directores por introducirme al mundo de la Biología Molecular.

Tabla de Contenido

	Pág.
Introducción	13
1. Objetivos.....	17
1.1 Objetivo General.....	17
1.2 Objetivos Especificos.....	17
2. Cuerpo del trabajo.....	18
2.1 Generalidades de los nematodos.....	18
2.2 Nematodos asociados al cultivo de papa	19
2.3 Nematodos quiste de la papa – Género <i>Globodera</i>	19
2.4 Nematodo quiste en Colombia	22
2.5 Filogenia y diversidad genética en nematodos fitoparásitos	23
3. Preguntas de Investigación	25
3.1 Hipotesis	26
4. Métodos.....	27
4.1 Localización y Muestreo Poblacional.....	27
4.2 Aislamiento de quistes	32
4.3 Caracterización morfológica	32
4.4 Caracterización molecular: Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación ...	33
4.5 Identificación molecular y reconstrucción filogenética interespecífica (Gen COI).	34

4.6 Diversidad, filogeografía intraespecífica (Gen Cyt B).....	35
4.7 Diversidad y Estructura Poblacional de <i>Globodera pallida</i> en las Américas.....	36
4.8 Diversidad Genética e Inferencias Demográficas de grupos genéticos.....	41
4.9 Reconstrucción de la historia demográfica e inferencia de escenarios de colonización.....	43
4.9.1 Preparación de datos y Espectro de Frecuencias de Sitios (SFS).	43
4.9.2 Estrategia de modelamiento y topologías en competencia.	43
4.9.3 Estimación de parámetros de selección de modelos.	44
4.10 Análisis de integración de datos genotipo-fenotipo (morfometría <i>G. pallida</i>).	45
5. Resultados.....	47
5.1 Muestras y aislamiento de quistes.....	47
5.2 Identificación taxonómica y caracterización morfométrica de quistes y juveniles.	48
5.2.1 Morfometría de quistes.....	49
5.2.1 Morfometría de juveniles (J2).....	50
5.2.3 Relaciones filogenéticas interespecíficas (Gen COI). ..	52
5.3 Reconstrucción Filogenética Global.....	55
5.4 Red de haplotipos en el Continente Americano.	57
5.5 Estructuración Espacial a través de las Américas (DAPC).	59
5.5.1 Diferenciación Genética Pareada a lo largo del Gradiente Latitudinal.	62
5.5.2 Selección del Modelo Evolutivo (AMOVA) y Proyección Espacial.	65
5.5.3 Diversidad Genética y Dinámica Demográfica.....	68
5.5.4 Inferencia Coalescente y Dinámica de Colonización.	71
5.6 Integración de datos genotipo-fenotipo.	74

5.6.1 Morfometría de <i>G. pallida</i> y diferenciación entre linajes.	74
5.6.2 Relación entre diversidad genética, geográfica y morfométrica.	76
6. Discusión.....	77
6.1 Estabilidad demográfica en el centro de origen.	79
6.2 Un único evento fundador hacia Colombia: El filtro de Huancabamba	80
6.3 Dinámica de expansión y temporalidad en los Andes Septentrionales.	81
7. Conclusiones.....	84
8. Recomendaciones	85
Referencias Bibliográficas	86
Apéndices.....	100

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Localización y coordenadas geográficas de las muestras colectadas.....	27
Tabla 2. Distribución geográfica y tamaño muestral de las poblaciones americanas de <i>Globodera pallida</i> utilizadas en los análisis espaciales	37
Tabla 3. Distribución de muestras, prevalencia de <i>Globodera</i> spp en muestras colectadas, promedio y densidad de quistes en 100 gramos de suelo.	47
Tabla 4. Caracterización morfométrica de quistes de <i>Globodera</i> spp	49
Tabla 5. Caracterización morfométrica de juveniles de <i>Globodera</i> spp.....	50
Tabla 6. Competencia de modelos evolutivos de estructuración espacial evaluados mediante Análisis de Varianza Molecular Jerárquico (AMOVA).	65
Tabla 7. Estimadores de diversidad genética e inferencia demográfica para las cinco Unidades Evolutivas Independientes (ESUs) de <i>G. pallida</i> en las Américas.....	68
Tabla 8. Estadísticos de selección de modelos e inferencia de parámetros demográficos para la colonización de <i>G. pallida</i> en el Norte de Sudamérica y Mesoamérica.....	72
Tabla 9. Resumen de las pruebas estadísticas multivariadas y de correlación de matrices para la integración de datos genéticos, geográficos y morfométricos en <i>G. pallida</i>	76

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Estadios de <i>Globodera pallida</i>	21
Figura 2. Características morfológicas de <i>G. pallida</i>	22
Figura 3. Localización geográfica de los sitios de muestreo en lotes comerciales de papa en las regiones Central y Nororiente de Colombia.	30
Figura 4. Muestreo de suelo en lotes comerciales de papa.	31
Figura 5. Distribución de especies de <i>Globodera</i> spp.	48
Figura 6. Micrografías ópticas de quistes y juveniles de <i>Globodera</i> spp.....	52
Figura 7. Filograma de Máxima Verosimilitud (ML) para el gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I (COI) de <i>Globodera</i> spp.	54
Figura 8. Reconstrucción filogenética de Máxima Verosimilitud (ML) para el gen mitocondrial Citocromo B (Cyt B) de <i>Globodera</i> spp.	56
Figura 9. Red de haplotipos basasa en el algoritmo de Minimum Spanning Tree (MST) para las secuencias del gen mitocondrial (Cyt B) de <i>Globodera pallida</i> en el continente americano.	58
Figura 10. Estructura genética poblacional de <i>Globodera pallida</i> inferida mediante Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC).	61
Figura 11. Mapas de calor (heatmaps) latitudinales de la diferenciación genética pareada entre las poblaciones americanas de <i>Globodera pallida</i>	63
Figura 12. Proyección espacial y topográfica de los modelos de estructuración poblacional evaluados en <i>Globodera pallida</i>	67
Figura 13. Análisis de Distribución de Diferencias Pareadas (MDA) para las Unidades Evolutivas Independientes de <i>Globodera pallida</i> basadas en el Modelo Espacial de 5 Bloques.	70

Figura 14. Representación esquemática de los escenarios demográficos competitivos e historia de colonización de *Globodera pallida*.73

Figura 15. Análisis de Componentes Principales (PCA) de la variación morfométrica en las poblaciones de *G. pallida* agrupadas por linajes genéticos (DAPC).75

Lista de Apéndices**pág.**

Apéndice A. Lista de aislamientos de <i>Globodera pallida</i> , origen de las muestras y números de acceso de GenBank para las secuencias de novo y recuperadas de bases de datos.	100
Apéndice B. Lista de aislamientos de <i>Globodera</i> spp, origen de las muestras y números de acceso de GenBank para las secuencias de novo y recuperadas de bases de datos.	103
Apéndice C. Validación cruzada estratificada (xvalDapc) para el Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC) en las poblaciones de <i>Globodera pallida</i>	105
Apéndice D. Gráfico de optimización del Criterio de Información Bayesiano (BIC) para inferir el número óptimo empírico de clústeres en el Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC).	106

Resumen

Título: Variación genética y morfológica del nematodo quiste de la papa *Globodera pallida* (Nematoda: Heteroderidae) en el Centro y Nororiente de Colombia*

Autor: Leonardo Villalba Campos**

Palabras Clave: Nematodos quiste de la papa, *Globodera pallida*, Coalescencia, DAPC, Biogeografía evolutiva, Genoma mitocondrial.

Descripción: Los nematodos formadores de quiste (*Globodera* spp.) representan una de las principales amenazas para el cultivo de la papa a nivel mundial debido a las severas pérdidas económicas que ocasionan. En Colombia, la exclusión de *Globodera pallida* del listado de plagas de control oficial en 2004 coincide con reportes recientes de su expansión hacia nuevas áreas agrícolas. El objetivo de este estudio fue evaluar la variación morfológica, estimar la diversidad genética y reconstruir la historia demográfica de poblaciones de *G. pallida* provenientes de cuatro departamentos (Boyacá, Cundinamarca, Santander y Norte de Santander). Se implementó un enfoque multivariado (PCA) para los caracteres biométricos, mientras que la estructura genética y la biogeografía se evaluaron utilizando secuencias de los genes mitocondriales COI y CytB, empleando Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC) y simulaciones coalescentes (*fastsimcoal2*) bajo tres escenarios evolutivos alternativos. Los resultados confirmaron un incremento sustancial en las densidades de quistes respecto a reportes históricos. Morfológicamente, el PCA evidenció un profundo solapamiento fenotípico entre los linajes, lo cual sugiere un posible estasis evolutivo o una alta plasticidad adaptativa que limita la resolución de la biometría clásica para la delimitación poblacional. A nivel molecular, se detectó una alta diversidad haplotípica y una estructuración geográfica robusta. El modelado demográfico favoreció un escenario de aislamiento secuencial, sugiriendo que las poblaciones septentrionales conforman un “Clado Norte” estructurado. Los patrones de diversidad y las topologías de las redes haplotípicas indican que el linaje invasor habría experimentado un severo cuello de botella seguido de una rápida expansión demográfica (efecto fundador). Este escenario postula que el norte de los Andes podría haber actuado como un puente evolutivo y fuente inmediata para el establecimiento del clado global, ofreciendo una perspectiva complementaria a la hipótesis de dispersión directa desde los Andes centrales. Estos hallazgos subrayan la urgencia de reactivar protocolos de vigilancia fitosanitaria basados en genómica y resaltan la importancia de esta diversidad regional para los programas de mejoramiento de variedades resistentes.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Ciencias. Escuela de Biología. Maestría en Biología. Directora: Claudia Maria Holguin Aranzazu. Doctorado. Codirector: Sergio Andres Marchant Rojas. Doctorado.

Abstract

Title: Genetic and morphological variation of the potato cyst nematode *Globodera pallida* (Nematoda: Heteroderidae) in Central and Northeastern Colombia*

Author(s): Leonardo Villalba Campos**

Key Words: Potato cyst nematodes, *Globodera pallida*, Coalescence, DAPC, Evolutionary biogeography, Mitochondrial genome.

Description: Potato cyst nematodes (*Globodera* spp.) represent one of the main threats to potato cultivation worldwide due to the severe economic losses they cause. In Colombia, the exclusion of *Globodera pallida* from the official quarantine pest list in 2004 coincides with recent reports of its expansion into new agricultural areas. The objective of this study was to evaluate the morphological variation, estimate the genetic diversity, and reconstruct the demographic history of *G. pallida* populations from four departments (Boyacá, Cundinamarca, Santander, and Norte de Santander). A multivariate approach (PCA) was implemented for biometric traits, while genetic structure and biogeography were assessed using sequences from the COI and CytB mitochondrial genes, employing Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) and coalescent simulations (*fastsimcoal2*) under three alternative evolutionary scenarios. The results confirmed a substantial increase in cyst densities compared to historical reports. Morphologically, the PCA revealed a profound phenotypic overlap among lineages, suggesting possible evolutionary stasis or high adaptive plasticity that limits the resolution of classical biometry for population delimitation. At the molecular level, high haplotype diversity and robust geographic structuring were detected. Demographic modeling favored a sequential isolation scenario, suggesting that northern populations form a structured “Northern Clade”. Diversity patterns and haplotype network topologies indicate that the invasive lineage likely experienced a severe bottleneck followed by rapid demographic expansion (founder effect). This scenario postulates that the northern Andes might have acted as an evolutionary bridge and immediate source for the establishment of the global clade, offering a complementary perspective to the hypothesis of direct dispersal from the central Andes. These findings underscore the urgent need to reactivate genomics-based phytosanitary surveillance protocols and highlight the importance of this regional diversity for breeding programs aimed at developing resistant varieties.

* Degree Work

** Science faculty. School of biology. Director: Claudia Holguin PhD. Codirector: Sergio Marchant PhD.

Introducción

La papa (*Solanum tuberosum* L.) desempeña un papel fundamental en la seguridad alimentaria de los países en desarrollo. A nivel global, este cultivo, junto con el arroz, el trigo y el maíz, aporta cerca del 50 % de los requerimientos energéticos de la población mundial (Wijesinha-Bettoni & Mouillé, 2019). Su importancia radica no solo en su alto valor nutricional, sino también en su elevada productividad, ya que una hectárea de papa puede generar hasta cuatro veces más alimento que los cultivos de cereales y utilizar hasta siete veces menos agua por unidad producida (CIP, 2015). Estas características convierten a la papa en un cultivo estratégico para la sostenibilidad de los sistemas agrícolas y la seguridad alimentaria.

En Colombia, la papa constituye el segundo cultivo más importante en términos de volumen de producción, después del arroz, y aporta aproximadamente el 1,4 % del Producto Interno Bruto (PIB) agropecuario. La producción nacional se concentra principalmente en los departamentos de Cundinamarca, Boyacá y Nariño, que en conjunto representan el 82,4 % del total producido. Se estima que cerca de 100 mil familias dependen económicamente de este cultivo, el cual se desarrolla mayoritariamente en sistemas de minifundio (95 %), y genera alrededor de 264 mil empleos directos e indirectos (UPRA, 2024). En este contexto, la papa cumple una función clave tanto en la economía rural como en la estabilidad social de amplias regiones del país.

No obstante, en los últimos años se ha registrado una disminución progresiva del área sembrada de papa en Colombia. Este fenómeno se ha asociado principalmente a la reducción del consumo interno, las limitaciones para la exportación y el incremento de los rendimientos derivados de la tecnificación del cultivo y del uso de variedades mejoradas (SIOC, 2019). Actualmente, el país cuenta con aproximadamente 184 mil hectáreas sembradas, que producen

cerca de 3,6 millones de toneladas anuales, con un rendimiento promedio de 20 toneladas por hectárea (UPRA, 2024). A pesar de estos avances productivos, los sistemas de cultivo continúan siendo altamente vulnerables a la incidencia de plagas y enfermedades, las cuales representan una de las principales limitantes para la sostenibilidad del sector papero.

Entre los organismos fitopatógenos que afectan el cultivo de la papa, el nemátodo quiste *Globodera pallida* destaca por su alto impacto económico. Este nemátodo endoparásito especializado invade las raíces de la planta y altera su fisiología mediante la formación de un sincitio, estructura que actúa como fuente de nutrientes para el parásito, afectando negativamente el crecimiento y desarrollo de la planta hospedera (Plantard et al., 2008). En condiciones de alta infestación y ausencia de medidas de control, las pérdidas de rendimiento pueden alcanzar hasta el 80 % de la producción (Contina et al., 2020), además de provocar una reducción significativa del tamaño de los tubérculos y una ramificación excesiva del sistema radical (OEPP/EPPO, 2022).

Debido a su relevancia fitosanitaria, *G. pallida* se encuentra bajo estricta vigilancia en los principales países productores de papa (Esquibet et al., 2024). En Colombia, sin embargo, esta especie fue excluida en 2004 del listado de organismos cuarentenarios debido a su baja detección en los muestreos realizados en ese momento (Vallejo et al., 2021). Esta decisión facilitó su dispersión hacia las principales zonas productoras del país, situación que fue confirmada inicialmente en 2012 con registros en Cundinamarca y Boyacá (Arciniegas et al., 2012), y posteriormente con la verificación de su presencia en al menos nueve departamentos productores de papa (Vallejo et al., 2021).

El conocimiento sobre el origen, la diversidad genética y la historia evolutiva de las poblaciones de nemátodos fitoparásitos es fundamental para el diseño de estrategias de manejo, control y prevención de su dispersión (Plantard et al., 2008). En este sentido, estudios basados en

análisis filogenéticos y de diversidad genética han permitido identificar rutas de introducción y patrones de dispersión de *G. pallida* en diferentes regiones del mundo. Los resultados de análisis de distribución mundial de haplotipos de ADN mitocondrial y estimación de tiempo de divergencia sugieren al Sur de Perú, entre Cusco y el lago Titicaca como el centro de origen de *G. pallida*, este sitio puede considerarse una barrera que favoreció procesos de especiación durante el Pleistoceno (Subbotin et al., 2020). En Indonesia, por ejemplo, se logró establecer el origen de las poblaciones del nemátodo quiste y proponer medidas orientadas a contener su propagación y delimitar áreas libres del patógeno para la producción de semilla certificada (Handayani et al., 2020). De manera similar, investigaciones en América del Norte revelaron una baja diversidad genética en poblaciones de Estados Unidos y Canadá, lo que sugiere al menos dos eventos independientes de introducción desde distintas regiones del mundo (Boucher et al., 2013). En Sudamérica, estudios realizados en Ecuador, basados en el gen mitocondrial citocromo B (Cyt B), indican que las poblaciones de *G. pallida* comparten un origen genético común, posiblemente localizado en el centro-norte de Perú, sin evidencia de reintroducciones desde Europa. Estos estudios también evidencian una amplia dispersión del patógeno a nivel nacional y resaltan la necesidad de fortalecer los programas de monitoreo y detección temprana (Llumiyinga et al., 2025). En Colombia, análisis recientes utilizando el mismo marcador mitocondrial revelaron una alta similitud genética entre las poblaciones colombianas y las del sur de Perú, lo que sugiere múltiples eventos de introducción del nemátodo al país (Romero et al., 2025). No obstante, las rutas precisas de ingreso y dispersión aún no han sido claramente establecidas, lo que evidencia vacíos de conocimiento que requieren ser abordados.

La inferencia de la historia demográfica de poblaciones a partir de secuencias génicas ha sido ampliamente utilizada en estudios de biología de la conservación, epidemiología y ecología

(Roman & Palumbi, 2003; Joy et al., 2003; Flanagan et al., 2004; Habib et al., 2023). En este contexto, la teoría coalescente se ha consolidado como uno de los enfoques más robustos para la reconstrucción de genealogías y la estimación de procesos genéticos poblacionales (Drummond et al., 2005). Asimismo, el análisis de regiones mitocondriales, caracterizadas por su alta tasa de mutación y herencia materna (Hu et al., 2004), ha permitido identificar patrones de variación intraespecífica y desarrollar estudios filogeográficos en nemátodos fitoparásitos (Plantard et al., 2008; Subbotin et al., 2018; Subbotin et al., 2020; Cid del Prado-Vera et al., 2023).

Adicionalmente, se ha documentado una considerable variación morfométrica en *G. pallida* y en otras especies del género *Globodera*, la cual podría estar asociada a procesos de adaptación local o a la presencia de especies crípticas (Skantar et al., 2011; Cid del Prado-Vera et al., 2023). En Colombia, estudios recientes han reportado variabilidad morfométrica dentro de poblaciones de *G. pallida* en los departamentos de Cundinamarca, Boyacá y Norte de Santander (Romero et al., 2025). Estos resultados resaltan la necesidad de realizar estudios más detallados que permitan evaluar la magnitud de la plasticidad fenotípica, la posible presencia de linajes crípticos y la validez de hipótesis alternativas sobre el origen de las poblaciones presentes en el país (Vallejo et al., 2020).

En conjunto, el estudio de la diversidad genética, la historia demográfica y la variación morfométrica de *Globodera pallida* en Colombia permitirá comprender con mayor profundidad la dinámica poblacional de este patógeno. Este conocimiento constituye una base científica esencial para el diseño de estrategias de monitoreo, manejo y control, particularmente en las regiones centro y nororiental del país, y contribuirá al fortalecimiento de los programas de sanidad vegetal y a la sostenibilidad del cultivo de la papa.

1.Objetivos

1.1 Objetivo general

Estimar la diversidad e historia demográfica del nemátodo quiste de la papa *Globodera pallida* en el Centro y Nororiente de Colombia utilizando herramientas morfológicas y moleculares.

1.2 Objetivos específicos

Caracterizar la dinámica de poblaciones de *G. pallida* en las regiones Central y Nororiente de Colombia reconstruyendo la historia demográfica reciente y estimando el flujo genético y tiempo de divergencia entre poblaciones.

Determinar la relación entre la diversidad genética y morfométrica de poblaciones de *G. pallida* en el Centro y Nororiente de Colombia.

2. Cuerpo del trabajo

2.1 Generalidades de los nematodos

Los nemátodos, son diminutos gusanos redondos no segmentados que habitan una gran variedad de ecosistemas, poseen cutícula quitinosa, tubo digestivo completo y generalmente dimorfismo sexual (Bhat et al., 2022). Se encuentran entre las criaturas más abundantes en el planeta (Williamson & Gleason, 2013). Aunque se han descrito cerca de 30 mil especies de nemátodos, se estima que la diversidad oscila entre 500 mil y 10 millones de especies (Hodda, 2022). De todas las especies descritas, alrededor de 11.000 son de vida libre, aproximadamente 8.000 son parásitos de vertebrados, cerca de 4.000 son fitoparásitos y alrededor de 3.500 son parásitos de invertebrados (Hugot et al., 2001). La mayoría de los nematodos de vida libre consumen bacterias y organismos microscópicos mientras que los nematodos fitoparásitos son parásitos obligados, que se alimentan exclusivamente del citoplasma de las células vegetales vivas. Los géneros de nematodos más importantes económicamente son los endoparásitos sedentarios que incluyen los géneros *Heterodera* y *Globodera* (formadores de quistes) y *Meloidogyne* (formadores de agallas). Los nematodos formadores de quistes y los formadores de agallas tienen interacciones complejas con su hospedero debido a las diferentes características en sus ciclos parasitarios (Williamson & Gleason, 2013). Los nemátodos fitoparásitos representan una amenaza para la seguridad alimentaria mundial, causando daños anuales estimados en US\$173 billones por año (Elling, 2013). Algunos de los géneros de nemátodos fitoparásitos de mayor importancia en el mundo son: *Meloidogyne*, *Heterodera*, *Globodera*, *Pratylenchus*, *Radopholus*, *Ditylenchus*, *Bursaphelenchus*, *Rotylenchulus*, *Xiphinema*, *Nacobbus* y *Aphelenchoides*, los cuales parasitan hortalizas, tubérculos, cereales, frutales, legumbres, gramíneas, ornamentales y forestales (Jones

et al., 2013).

2.2 Nematodos asociados al cultivo de papa

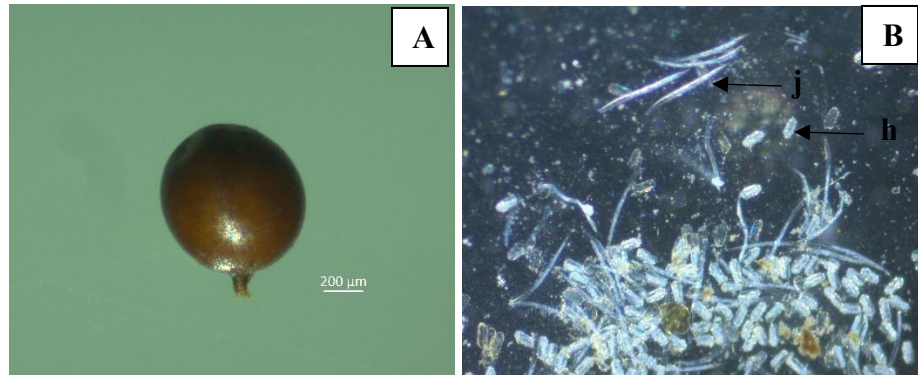
En el cultivo de papa se han reportado más de 140 especies de nemátodos fitoparásitos distribuidas en 45 géneros (Koenning & Barker, 1998). Estudios realizados en zonas productoras de papa en Perú han mostrado la presencia de ocho géneros de nemátodos fitoparásitos: *Meloidogyne*, *Nacobbus*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus*, *Mesocriconema*, *Xiphinema*, *Dorylaimus* y *Globodera* (Flores-Choque et al., 2017). En la región andina los nemátodos que causan severos problemas económicos generalmente pertenecen a los géneros *Globodera* y *Nacobbus* (Franco, 1994). En campos de papa con altas densidades por nemátodos que producen quistes (género *Globodera*) la producción de tubérculos puede reducirse cerca de 80%, además los quistes pueden sobrevivir más de 30 años en el suelo en ausencia de un hospedero (Contina et al., 2020). En Colombia los nemátodos fitoparásitos asociados a cultivos de papa pertenecen principalmente a los géneros *Globodera* spp. y *Meloidogyne* spp. (Barriga, 1978; Vallejo et al., 2021; Holguin et al., 2023; Romero et al., 2025). Sin embargo, nemátodos de cada género representan un problema diferente de acuerdo con su biología, por tanto, los métodos de control también deben ser diferentes (Franco, 1994).

2.3 Nematodos quiste de la papa – Género *Globodera*

El género *Globodera* fue nombrado por primera vez por Skarbilovich (1959) y luego este nombre es recuperado por Behrens (1975). Los nemátodos que producían quistes en papa fueron originalmente descritos como *Heterodera rostochiensis* por Wollenweher (1923); esta especie contenía *G. pallida* y *G. rostochiensis* (Wollenweher, 1923) Behrens, 1975 (Sharma, 1998). El

primer registro de estos nemátodos en papa lo realizó Kühn (1881), pero en ese momento todos los nemátodos que producían quistes se conocían como *Heterodera schachtii* (Sharma, 1998).

El género *Globodera* contiene catorce especies identificadas hasta la fecha (Cid del Prado Vera et al., 2025) de las cuales solo cuatro (*G. pallida*, *G. rostochiensis*, *G. ellingtonae* y *G. tabacum*) son importantes por los daños que generan en la agricultura (Subbotin et al., 2020; Orlando & Boa, 2023). La ontogenia de todas las especies de nemátodos que producen quistes es similar (Baldwin y Mundo-Ocampo, 1991). El ciclo de vida completo de huevo a adulto varía dependiendo de la temperatura en la cual el nemátodo vive, por lo general el ciclo de vida se completa en aproximadamente 30 días para la mayoría de nemátodos que producen quistes (Koenning & Sipes, 1998). A partir de huevos fertilizados por embriogénesis eclosionan juveniles de segunda estadio estimulados por la temperatura del suelo ($> 10^{\circ}\text{C}$) y por los exudados de las raíces del hospedero (Moens et al., 2018), el desarrollo postembriónico continúa después de infectar una planta hospedera y establecer un sitio de alimentación formado por células especializadas que transfieren nutrientes a los nematodos, después de tres etapas adicionales la madurez sexual se alcanza cuando los juveniles dejan de alimentarse y se vuelven vermiformes y móviles mientras las hembras se tornan abultadas y sedentarias (Green et al., 1970). Las hembras tienen forma esferoide con un cuello corto, estas cambian de color durante la maduración, hembras de *G. rostochiensis* pasan de blanco a amarillo y luego a quistes marrones mientras que *G. pallida* cambia de blanco cremoso directamente a marrón (Banks et al., 2012). Las hembras pueden ser muy fecundas y producir hasta 600 huevos que albergan dentro de su cuerpo; después de su muerte la cutícula de la hembra se transforma en un quiste persistente (**Figura 1**), que actúa como una funda protectora y duradera de su progenie que los protege de la desecación y depredación por microorganismos del suelo (Brodie et al., 1993).

Figura 1.*Estadios de G. pallida*

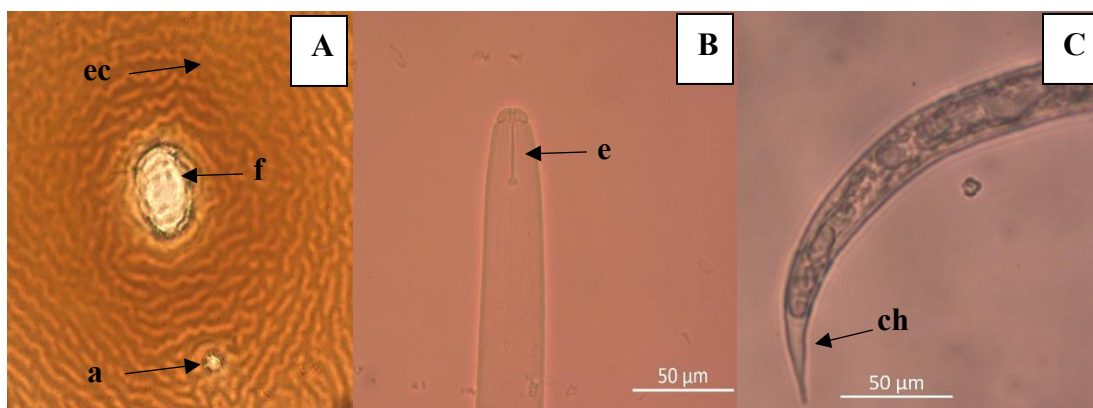
Nota: A) Quiste, B) Quiste estallado con h=huevos y j=juveniles

La identificación del género *Globodera* puede realizarse mediante la morfología de quistes y juveniles (OEPP/EPPO, 2022). Los quistes de *Globodera* son suavemente redondeados con un pequeño cuello prominente, sin cono terminal, diámetro de $\pm 450 \mu\text{m}$ y con una superficie morena o dorada. La superficie de la cutícula tiene un patrón de estrías en zigzag, el área perineal consiste en una circunfenestración única alrededor de la hendidura vulval, con tubérculos en semilunas cerca de la vulva (OEPP/EPPO, 2022). El ano es subterminal sin fenestra. Los juveniles son vermiformes (**Figura 2**), anulados y ahusados en las regiones de cabeza y cola. Dentro del género la longitud corporal oscila entre $445 - 510 \mu\text{m}$, la longitud del estilete entre 18 y $29 \mu\text{m}$, la cola entre 37 y $55 \mu\text{m}$ y la parte hialina de la cola entre 21 y $31 \mu\text{m}$ (OEPP/EPPO, 2022). Los juveniles se pueden distinguir de otros nemátodos por una región labial más esclerotizada, estilete relativamente fuerte y apariencia robusta en la forma de la cola (OEPP/EPPO, 2022).

Sin embargo, diversos estudios han demostrado variación morfométrica entre los diferentes caracteres de las especies del género *Globodera* (Skantar et al., 2007; Skantar et al., 2011, Vallejo et al., 2020; Romero et al., 2025).

Figura 2.

Características morfológicas de G. pallida



Nota: A)Región perineal de quiste a=ano, f=fenestra, ec=estrías cuticulares, B)Juvenil e=estilete, C)Juvenil ch=cola hialina.

2.4 Nematodo quiste en Colombia.

El nemátodo quiste (*Globodera pallida*) es originario del Sur de Perú entre Cusco y el Lago Titicaca (Plantard et al., 2008), y se ha propagado a varias zonas productoras de papa en Europa, Asia y África (Nicol et al., 2011). En Colombia, el primer reporte de *Globodera pallida* basado en caracteres morfológicos se registró en 1970 en Nariño, específicamente en Cumbal (Baeza, 1972). Años después Nieto y colaboradores (1983) realizaron un estudio en varios departamentos productores de papa que incluyó a Cundinamarca y Boyacá (los dos principales productores del tubérculo), encontrando además *G. pallida* en varios municipios de Nariño y Cauca. En 2004, se

excluyó del listado oficial de control de plagas por su bajo reporte en lotes en los lotes examinados. Sin embargo, un estudio realizado entre 2011 y 2012 reveló la presencia de nemátodos quiste en papa en 12 de 14 cultivos muestreados en Cundinamarca y Boyacá (Arciniegas et al., 2012). Recientemente, se encontró a *G. pallida* asociada a cultivos de papa en nueve departamentos de Colombia (Cundinamarca, Boyacá, Nariño, Antioquia, Cauca, Norte de Santander, Santander, Tolima y Caldas) (Vallejo et al., 2021) y, recientemente, se realizó el primer reporte de *G. rostochiensis* en Colombia en el municipio de Chocontá (Cundinamarca) (Holguin et al., 2023).

2.5 Filogenia y diversidad genética en nematodos fitoparásitos

Las regiones genómicas más utilizadas para estudiar relaciones filogenéticas y diversidad genética de nemátodos fitoparásitos incluyen fragmentos de ADN ribosomal (ADNr), ADN mitocondrial (ADNmt), fragmentos del espaciador transcrito interno (ITS) (Subbotin et al., 2020). Los genes ribosomales se pueden utilizar para delimitar especies sin ser propensos a la saturación de marcadores porque presentan suficiente variación genética neutral interespecífica conservada (Xuqing et al., 2020; Vallejo et al., 2021). Estudios genéticos de poblaciones en especies de nemátodos han usado genes mitocondriales por su alta tasa de evolución y herencia materna (Hu et al., 2004). Recientemente se han utilizado genes mitocondriales (COI) para la caracterización de varias especies de nemátodos quiste en cereales, estas secuencias son una herramienta poderosa para la evaluación de patrones genéticos intraespecíficos y filogeografía (Subbotin et al., 2018). Existe evidencia de alta diversidad de haplotipos usando ADN mitocondrial y de patrones filogeográficos de *G. rostochiensis* en Bolivia (Subbotin et al., 2020).

Los datos moleculares proporcionan información sobre las relaciones filogenéticas entre las especies, la genética de poblaciones busca comprender las relaciones genéticas dentro y entre

las poblaciones de una especie y los procesos que generan estos patrones (Viney, 1998). En nueve regiones de la cordillera de Los Andes se encontró que las poblaciones de *G. pallida* son continuas y cuentan con un flujo de genes sustancial que evita la diferenciación debido a la deriva genética sobre grandes áreas (Picard y Plantard, 2006). En este estudio se observó un aislamiento por distancia a 50 kilómetros en áreas sin ningún cultivo de papa o barreras geográficas importantes, hipotetizando que la dispersión pasiva debido a su pequeño tamaño es la clave para explicar este patrón.

Estudios enfocados en diversidad genética de nemátodos quiste de la papa han tenido resultados diversos. En América, se encontró que la mayor diversidad genética se observó en poblaciones de Sur América provenientes de Bolivia y la más baja diversidad en poblaciones de Norte América (Estados Unidos y Canadá), y sugieren que el nemátodo dorado de la papa (*Globodera rostochiensis*) ha sido introducido a Norte América por lo menos dos veces desde distintas regiones del mundo (Boucher et al. 2013). En otro estudio, se identificó el origen de las poblaciones de *G. pallida* en Europa occidental provenía de la costa Norte del lago Titicaca y Cusco en Perú, destacando la utilidad de la genética de poblaciones para identificar el origen de una plaga invasora, una vez que la variabilidad genética nativa haya sido bien descrita (Plantard et al. 2008). Mientras que en Indonesia se detectó la mayor diversidad genética de *G. pallida* en poblaciones de Java comparadas con Sumatra y se sugiere que el origen de poblaciones de quistes en Sumatra proviene de poblaciones de Java (Handayani et al. 2020). Además, se encontró un mayor flujo de genes en Sumatra respecto a Java, lo cual podría ser explicado por la proximidad geográfica de las localidades o por prácticas agronómicas que permiten movimiento de suelo o intercambio de tubérculos entre productores de Sumatra comparado con Java, permitiendo

confirmar zonas libres de nemátodos quiste de la papa y sugerir regiones aptas para la producción de semilla (Handayani et al. (2020).

La “teoría de coalescencia” se basa en el análisis filogenético de eventos evolutivos que sucedieron en el pasado a nivel de poblaciones (Delgado & Piñero, 2002). La coalescencia es un proceso estocástico que describe la manera en la cual los procesos genéticos poblacionales determinan la forma de la genealogía, reconstruida a partir de secuencias génicas, se puede incorporar información espacial y reconstruir la dispersión geográfica de un organismo (Drummond et al., 2005). La inferencia de la historia demográfica de una población a partir de secuencias génicas ha sido utilizada con éxito en investigaciones de biología de conservación (Roman & Palumbi, 2003), epidemiología (Joy et al., 2003) y ecología (Flanagan et al., 2004). Los modelos de reconstrucción demográfica coalescente e inferencia estadística pueden ser útiles para investigar el origen de las poblaciones de *G. pallida* presentes en Colombia.

3. Preguntas de Investigación

1. ¿La historia demográfica reciente de poblaciones de *G. pallida* en las regiones Central y Nororiente de Colombia muestran proceso de expansión o contracción?
2. ¿Existe relación entre la diversidad genética y morfométrica en poblaciones de *G. pallida* del Centro y Nororiente de Colombia?

3.1 Hipótesis

1. La historia demográfica de las poblaciones de *G. pallida* en las regiones Central y Nororiente de Colombia presentará señales genéticas congruentes con una expansión poblacional reciente derivada de un efecto fundador, reflejando el proceso de introducción y colonización exitosa del patógeno en estas zonas agrícolas, en contraste con patrones de equilibrio demográfico.
2. La variación morfométrica presente en quistes de *G. pallida* en el Centro y Nororiente de Colombia refleja la estructura genética poblacional, en la cual poblaciones más divergentes poseen mayores diferencias morfométricas o alternativamente, responde a plasticidad fenotípica inducida por factores ecológicos locales.

4. Métodos

4.1 Localización y Muestreo Poblacional

El estudio se enfocó en cuatro departamentos de Colombia, pertenecientes a la región Central (Boyacá y Cundinamarca) y a la región Nororiental (Norte de Santander y Santander). En cada departamento, se colectaron muestras en los principales municipios productores de papa. En Cundinamarca, en Susa, Tausa, Ubaté, Tenjo y Guatavita. En Boyacá, en los municipios: Toca, Tunja, Chíquiza, Samacá, Sogamoso, Arcabuco, Ventaquemada, Sora y Soracá. En Norte de Santander en Chitagá y Mutiscua y, en Santander en Cerrito y Guaca (**Tabla 1, Figura 3**).

Adicionalmente, se utilizaron muestras previamente colectadas en los principales municipios productores de papa de los departamentos de Antioquia, Boyacá, Cundinamarca y Nariño (**Apéndice A**).

Tabla 1

Localización y coordenadas geográficas de las muestras colectadas.

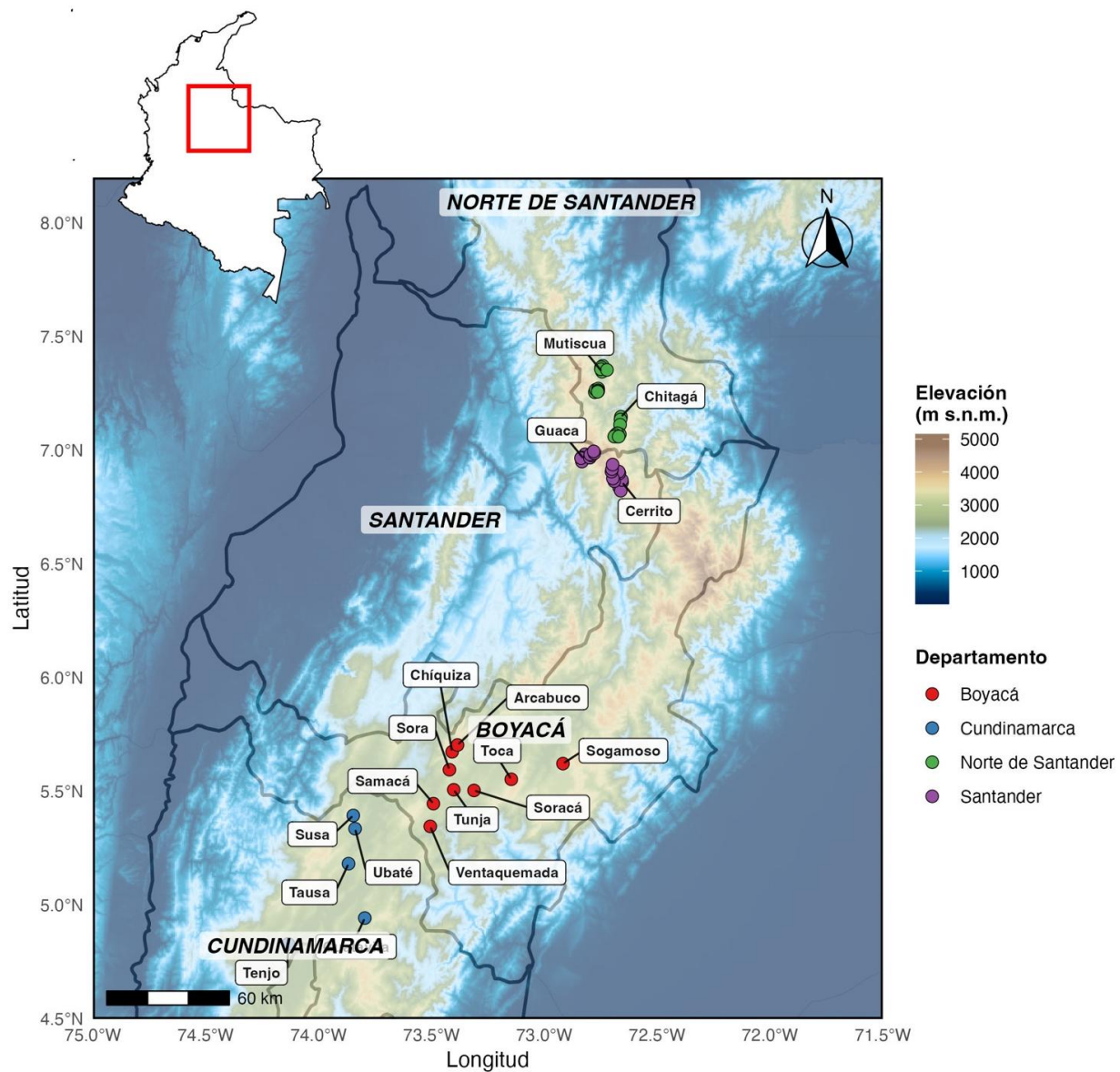
ID	Código	Localización	Latitud	Longitud	Altura	Variedad
1	BT1	Boyacá, Tunja	5.508	-73.401	2944	Diacol Capiro
2	BSO1	Boyacá, Soracá	5.505	-73.311	2930	Diacol Capiro
3	BC1	Boyacá, Chíquiza	5.675	-73.408	2602	Betina
4	BSA1	Boyacá, Samacá	5.447	-73.491	2593	Diacol Capiro
5	BS1	Boyacá, Sogamoso	5.623	-72.917	2671	Parda Pastusa
6	BTO1	Boyacá, Toca	5.554	-73.146	2730	Tocarreña
7	BV1	Boyacá, Ventaquemada	5.347	-73.505	2894	Pastusa Suprema

ID	Código	Localización	Latitud	Longitud	Altura	Variedad
8	BSOR1	Boyacá, Sora	5.596	-73.420	2679	Diacol Capiro
9	BA1	Boyacá, Arcabuco	5.705	-73.384	2728	Parda Pastusa
10	CT1	Cundinamarca, Tausa	5.183	-73.867	3023	Pastusa Suprema
11	CU1	Cundinamarca, Ubaté	5.337	-73.838	2851	Parda Pastusa
12	CG1	Cundinamarca, Guatavita	4.944	-73.795	2786	Pastusa Suprema
13	CS1	Cundinamarca, Susa	5.395	-73.846	2541	Pastusa Suprema
14	CTE1	Cundinamarca, Tenjo	4.830	-74.134	3013	Diacol Capiro
15	NSCH1	N. Santander, Chitagá	7.147	-72.660	2416	Superior
16	NSCH2	N. Santander, Chitagá	7.148	-72.660	2382	Criolla
17	NSCH3	N. Santander, Chitagá	7.136	-72.662	2416	Criolla
18	NSCH4	N. Santander, Chitagá	7.113	-72.664	2429	ICA Única
19	NSCH5	N. Santander, Chitagá	7.071	-72.665	2768	Betina
20	NSCH6	N. Santander, Chitagá	7.061	-72.678	2962	ICA Única
21	NSCH7	N. Santander, Chitagá	7.063	-72.684	3082	ICA Única
22	NSCH8	N. Santander, Chitagá	7.076	-72.676	3155	ICA Única
23	NSCH9	N. Santander, Chitagá	7.068	-72.685	3101	ICA Única
24	NSCH10	N. Santander, Chitagá	7.061	-72.690	3244	Superior
25	NSCH11	N. Santander, Chitagá	7.061	-72.670	2802	ICA Única
26	NSM1	N. Santander, Mutiscua	7.346	-72.744	3036	Superior
27	NSM2	N. Santander, Mutiscua	7.372	-72.741	2647	Criolla
28	NSM3	N. Santander, Mutiscua	7.366	-72.748	2762	Criolla
29	NSM4	N. Santander, Mutiscua	7.357	-72.749	2652	Criolla
30	NSM5	N. Santander, Mutiscua	7.256	-72.776	3611	Criolla
31	NSM6	N. Santander, Mutiscua	7.267	-72.772	3481	Criolla
32	NSM7	N. Santander, Mutiscua	7.272	-72.761	3342	Criolla
33	NSM8	N. Santander, Mutiscua	7.264	-72.761	3354	Superior
34	NSM9	N. Santander, Mutiscua	7.260	-72.761	3391	Criolla
35	NSM10	N. Santander, Mutiscua	7.354	-72.722	3048	Criolla
36	NSM11	N. Santander, Mutiscua	7.258	-72.763	3046	Superior
37	SG1	Santander, Guaca	6.963	-72.825	2965	Criolla
38	SG2	Santander, Guaca	6.960	-72.826	2979	Criolla

ID	Código	Localización	Latitud	Longitud	Altura	Variedad
39	SG3	Santander, Guaca	6.951	-72.833	2954	Superior
40	SG4	Santander, Guaca	6.983	-72.819	3124	Criolla
41	SG5	Santander, Guaca	6.969	-72.835	3394	Criolla
42	SG6	Santander, Guaca	6.966	-72.837	3379	Criolla
43	SG7	Santander, Guaca	6.968	-72.798	3229	Criolla
44	SG8	Santander, Guaca	6.978	-72.790	3322	Criolla
45	SG9	Santander, Guaca	6.982	-72.796	3499	ICA Única
46	SG10	Santander, Guaca	6.988	-72.778	3432	ICA Única
47	SG11	Santander, Guaca	6.996	-72.781	3665	ICA Única
48	SC1	Santander, Cerrito	6.860	-72.655	3295	ICA Única
49	SC2	Santander, Cerrito	6.830	-72.661	2962	ICA Única
50	SC3	Santander, Cerrito	6.838	-72.668	2934	ICA Única
51	SC4	Santander, Cerrito	6.823	-72.661	2976	Superior
52	SC5	Santander, Cerrito	6.870	-72.656	3428	ICA Única
53	SC6	Santander, Cerrito	6.900	-72.667	3572	ICA Única
54	SC7	Santander, Cerrito	6.907	-72.670	3634	Criolla
55	SC8	Santander, Cerrito	6.865	-72.690	2772	ICA Única
56	SC9	Santander, Cerrito	6.877	-72.696	2900	ICA Única
57	SC10	Santander, Cerrito	6.907	-72.702	3226	Betina
58	SC11	Santander, Cerrito	6.918	-72.700	3451	ICA Única
59	SC12	Santander, Cerrito	6.938	-72.697	3518	Superior

Figura 3

Localización geográfica de los sitios de muestreo en cultivos comerciales de papa en las regiones Central y Nororiental de Colombia. Los puntos indican las coordenadas exactas de recolección de las muestras de suelo. El mapa base incorpora un Modelo de Elevación Digital (DEM), ilustrando la compleja topografía andina que caracteriza las zonas de producción agrícola evaluadas.



Se colectaron muestras de suelo en cultivos comerciales de papa que se encontraban en fase de prefloración y floración siguiendo el esquema propuesto por Vallejo et al. (2021), el número de lotes muestreados por municipio fue proporcional al área de papa sembrada. En cada lote, se tomó una muestra de suelo (1,5 cm de diámetro por 5 cm de profundidad) cerca de la rizosfera de las plantas afectadas, se repitió este proceso hasta obtener 60 submuestras en intervalos

de distancia aproximadamente iguales hasta cubrir un área de 10000 m² o menos en un patrón de transecto lineal (**Figura 4**)

Figura 4.

Muestreo de suelo en lotes comerciales de papa



Nota: A) Lote comercial de papa en prefloración, B) y C) Toma de muestra de suelo con barreno, D) Lote comercial de papa en floración.

4.2 Aislamiento de quistes

Para la extracción de quistes de nemátodos de las muestras de suelo colectadas se utilizó el método de Fenwick (1940). Este método consiste en un dispositivo denominado Fenwick generalmente de metal (acero, cobre, etc.) (Figura 4). Las muestras de suelo previamente secas se pasaron a través de un tamiz de 1mm de abertura por el que atraviesan los quistes y las demás partículas, un tubo las transporta hasta el fondo del aparato donde las partículas pesadas como arena y arcilla quedan asentadas y las menos densas como materia orgánica y quistes flotan y posteriormente son conducidas hacia el collar del aparato. El material flotante se pasa a través de mallas de mayor a menor abertura, luego sobre un vaso de precipitado de 500 ml cubierto de papel absorbente se adicionan 100 ml de agua destilada y se vierte el contenido de la malla de menor abertura, las partículas y quistes se mueven hacia la superficie del papel. Por último, cuidadosamente se retira el papel del vaso y se realiza la revisión en el estereoscopio (Figura 4). La cantidad aproximada de suelo que se procesó por cada muestra fue de 500 gramos.

4.3 Caracterización morfológica.

Para la caracterización morfológica se utilizaron juveniles y quistes. Al azar se seleccionaron y midieron entre 10 y 20 quistes y entre 3 y 30 juveniles de cada muestra. Los juveniles J2 fueron extraídos de quistes, luego se fijaron en formaldehído al 3% para permitir su conservación en glicerina, posteriormente se montaron en glicerina anhidra sobre la lámina portaobjetos para ser observados al microscopio. Los juveniles y quistes fueron fotografiados y medidos usando el software de visualización de imágenes (ZEN 3.3 Blue Edition; ZEISS ZEN lite). La identificación morfológica se realizó siguiendo las claves de Handoo et al. (2012) y las directrices de EPPO (2022). Para la caracterización morfométrica de los quistes se incluyeron los

siguientes caracteres: ancho del cuerpo, longitud del cuerpo excluyendo el cuello, relación de largo/ancho, distancia desde el ano al borde más cercano de la fenestra, longitud de la fenestra, relación de Granek que se obtiene de dividir la distancia desde el ano al borde más cercano de la fenestra sobre la longitud de la fenestra y número de estrías cuticulares entre la vulva y el ano. Los juveniles fueron caracterizados morfométricamente midiendo la longitud del cuerpo, longitud del estilete y longitud de la cola hialina.

4.4 Caracterización molecular: Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación.

Para la caracterización molecular se seleccionaron de 5 a 10 quistes por muestra. La extracción de ADN se realizó utilizando el kit de extracción "Sigma Extract-N-Amp Kit (XNAT2)". La calidad de las extracciones de ADN fue verificada mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa al 1,2 % con solución buffer TAE 1X, adicionando 5 µL de Gel Red a un volumen de 50 mL de gel de agarosa. La corrida electroforética se realizó utilizando 2 µL de buffer de carga, 2 µL de marcador de peso molecular y 3 µL de ADN extraído durante 30 minutos a 110 Voltios. El ADN extraído se almacenó a -20°C.

Se amplificaron dos regiones genómicas, Citocromo Oxidasa I (COI) y Citocromo B (Cyt B) por PCR siguiendo el protocolo propuesto por Holguin et al. (2015). Las reacciones se realizaron en un volumen de 20 µL, 8 µL de agua grado molecular, 10 µL de ReadyMix Taq PCR Mix con MgCl₂ (Sigma, ST Louis, MO) (20 mmol/L Tris – HCl pH 8.3, 100 mmol KCl, 3 mmol/L MgCl₂ 0.002 %, 0.4 mmol/L de mezcla de dNTP y 0.06 unidades de Taq ADN polimerasa /mL) 0,5 µL de cada cebador y 1 µL de ADN.

El gen COI fue amplificado con los cebadores forward JB3 (5'-TTT TTT GGG CAT CCT GAG GTT TAT-3') y el reverse JB5 (5'-AGC ACC TAA ACT TAA AAC ATA ATG AAA ATG-

3') (Derycke et al., 2005) con las siguientes condiciones: 94°C por 4 minutos para desnaturalización inicial, seguido por 40 ciclos a 94°C por 1 minuto, 45°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto y 30 segundos para el anillamiento y una extensión final a 72°C por 10 minutos. El gen Cyt B fue amplificado con dos sets de cebadores, el primer set consistió del cebador forward INRA-cytbL (5'GGGTGTGGCCTTGTTATTTTC3') y el reverse INRA-cytbR (5'ACCAGCTAAAACCCCATCCT3') (Picard et al., 2007), el segundo set de cebadores conformado por el cebador forward Het-cytbF2 (5'-CAR TAT TTR ATR TTT GAR GT-3') y el reverse Het-cytbR3 (5'-ACH ARR AAR TTR ATYTCC TC-3') (Subbotin et al. 2020) con las siguientes condiciones térmicas: 94°C por 5 minutos seguido de 38 ciclos a 94°C por 45 segundos, 58°C por 30 segundos y 68°C por 1 minuto y una extensión final a 68°C por 5 minutos. Los productos PCR fueron cargados en un gel de agarosa al 1,2 % y visualizados usando gel Red (Biotium). Los productos PCR amplificados fueron enviados a CORPOGEN para su purificación y secuenciación en ambas direcciones mediante el método de Sanger.

4.5 Identificación molecular y reconstrucción filogenética interespecífica (Gen COI)

Con el fin de identificar molecularmente las especies de *Globodera* presentes en las muestras y establecer sus relaciones evolutivas dentro del género, se analizó la región del gen Citocromo Oxidasa I (COI). Para el alineamiento se incluyeron en total 65 secuencias, de las cuales 19 fueron generadas en este estudio provenientes de las diferentes zonas de muestreo y se incluyeron además taxones de referencia de la base de datos GenBank correspondientes a diferentes especies de *Globodera*: *G. mexicana*, *G. rostochiensis*, *G. tabacum*, *G. ellingtonae*, *G. artemisiae*, *G. millefolii*, *G. agulhasensis*, *G. sandveldensis* y *G. capensis*. Adicionalmente, se incluyeron secuencias de dos taxones del género *Atalodera* (*A. carolynae*, Accesoión: MF425752)

y *Rhizomella* sp. (Accesión: MF425748) para ser utilizados como grupo externo (outgroup) (**Anexo B**).

El alineamiento múltiple se realizó utilizando el algoritmo MAFFT (Kato et al., 2002) y fue posteriormente depurado mediante el programa Gblocks (Castresana, 2000) a través de la plataforma web NGPhylogeny.fr (Lemoine et al., 2019). La filogenia de Máxima Verosimilitud se infirió mediante el software IQ-TREE v.2.2 (Minh et al., 2020), evaluando el soporte topológico de las ramificaciones mediante 1.000 réplicas del remuestreo *Ultrafast Bootstrap* (UFboot; Hoang et al., 2018) y la prueba de Razón de Verosimilitud de Shimodaira-Hasegawa (SH-aLRT; Guindon et al., 2010). Para el enraizamiento, visualización y edición del filograma, se utilizó el paquete ggtree (Yu et al., 2017) en el entorno de R v.4.2 (R Core Team, 2022). La confiabilidad topológica de los nodos se categorizó estrictamente en tres niveles de soporte conjunto: Alto (SH-aLRT \geq 80 y UFboot \geq 90), Medio (SH-aLRT \geq 75 o UFboot \geq 75) y Bajo (valores inferiores).

4.6 Diversidad, filogeografía intraespecífica (Gen Cyt B)

Para estimar la diversidad y estructura poblacional intraespecífica de la especie *Globodera pallida*, se consolidó una segunda base de datos compuesta por 181 secuencias parciales del gen mitocondrial Citocromo b (Cyt b). Este gen fue seleccionado por ofrecer mayor resolución filogenética e intraespecífica superior para el género *Globodera* que el gen Citocromo c oxidasa subunidad I (COI). Del total de 181 secuencias, 55 fueron generadas de novo en el presente estudio, mientras que las restantes corresponden a secuencias disponibles en la base de datos GenBank, abarcando poblaciones nativas e introducidas de América del Sur (Perú, Ecuador, Bolivia, Colombia), Centroamérica (Panamá, Costa Rica) y Norteamérica (Estados Unidos, Canadá), junto con poblaciones de Europa (Francia, España, Países Bajos, Portugal) (**Anexo A**).

Posteriormente, el conjunto de secuencias fue sometido a un alineamiento múltiple utilizando el algoritmo MAFFT (Katoh et al., 2002). Sobre este alineamiento, las secuencias fueron traducidas in silico a aminoácidos para verificar la preservación del marco de lectura abierto y la estricta ausencia de codones de parada prematuros, descartando así la coamplificación de pseudogenes o copias nucleares de origen mitocondrial (NUMTs). Una vez validada la integridad biológica de los datos, y con el objetivo de maximizar la relación señal/ruido filogenética, el alineamiento fue depurado mediante el programa Gblocks (Castresana, 2000) para eliminar posiciones pobremente alineadas o con exceso de vacíos (gaps) ambiguos. Ambos procedimientos se ejecutaron a través de la plataforma web NGPhylogeny.fr (Lemoine et al., 2019).

Previo a los análisis de estructuración espacial, se reconstruyó la genealogía global de los linajes mitocondriales utilizando todas las secuencias e incluyendo una secuencia homóloga de *Globodera mexicana* (Accesión: AY851616.1) para ser utilizada como grupo externo (outgroup). La filogenia de Máxima Verosimilitud se infirió mediante el software IQ-TREE v.2.2 (Minh et al., 2020), evaluando el soporte topológico de las ramificaciones mediante 1,000 réplicas del muestreo *Ultrafast Bootstrap* (UFboot; Hoang et al., 2018) y la prueba de Razón de Verosimilitud de Shimodaira-Hasegawa (SH-aLRT; Guindon et al., 2010). Para la visualización del filograma, se utilizó el paquete ggtree v.3.8 (Yu et al., 2017) en R, y se aplicó un filtro de confiabilidad estricto, mostrando exclusivamente aquellos nodos que alcanzaron un soporte estadístico medio o alto (SH-aLRT $\geq 75\%$ y UFboot $\geq 75\%$).

4.7 Diversidad y Estructura Poblacional de *Globodera pallida* en las Américas.

Para investigar la dinámica espacial a lo largo del rango de distribución natural e introducido en el continente americano, se extrajo un subconjunto de datos excluyendo a las

poblaciones europeas y al grupo externo. La base de datos para este fin consistió en 150 individuos distribuidos a lo largo de un gradiente latitudinal desde Norteamérica hasta Sudamérica. Para los análisis exploratorios de reconstrucción filogeográfica (red de haplotipos) y estructuración espacial algorítmica multivariada (DAPC), se utilizó el conjunto de datos americano completo ($n = 150$), incluyendo haplotipos representados por un único individuo (singletons). Sin embargo, para los análisis estadísticos dependientes del cálculo de varianzas y frecuencias alélicas a nivel poblacional (índices de diversidad, pruebas de neutralidad demográfica, AMOVA y matrices de distancias genéticas pareadas Φ_{ST} y $Dest$), las localidades geográficas representadas por un único individuo ($N < 2$, total $n = 27$ secuencias) fueron excluidas. Este filtrado fue necesario para evitar sesgos analíticos derivados de la sobreestimación de divergencias poblacionales por varianzas nulas, resultando en un subconjunto de 123 individuos agrupados para las comparaciones paramétricas (**Tabla 2**).

Tabla 2.

Distribución geográfica y tamaño muestral de las poblaciones americanas de Globodera pallida utilizadas en los análisis espaciales.

País	Departamento / Localidad	Tamaño Muestral (N)
Canadá	Newfoundland	8
USA	Idaho	1
Panamá	Desconocido	2
	Cartago	1
Costa Rica	Irazú	1
	Zarcero	1
	Cundinamarca	30
Colombia	Boyacá	25

País	Departamento / Localidad	Tamaño Muestral (N)
	Nariño	11
	Santander	6
	Norte Santander	4
	Antioquia	1
	Pichincha	3
Ecuador	Cotopaxi	2
	Tungurahua	1
	Cusco	12
	Amantani	3
	Andahuaylas	3
	Puno	3
	Cruz Pampa	2
	Jauja	2
	Desconocido	2
	Abancay	1
	Arapa	1
	Ayacucho	1
Perú	Cajabamba	1
	Cajamarca	1
	Capachica	1
	Chocom	1
	Chota	1
	Colca	1
	Contumazá	1
	Cutervo	1
	Huamachuco	1
	Huancabamba	1
	Huancavelica	1

País	Departamento / Localidad	Tamaño Muestral (N)
	Huancayo	1
	Huaraz	1
	Huasahuasi	1
	Juliaca	1
	Otuzco	1
	Sicuni	1
	La Paz	5
Bolivia	Keruni	1
TOTAL GENERAL	—	150

Nota: La tabla detalla el conjunto de datos completo (n=150) utilizado para los análisis de estructuración a nivel individual (Red de Haplotipos y DAPC). Las localidades representadas por un único individuo (N=1, total n=27) fueron excluidas exclusivamente de los análisis poblacionales que requieren estimación de varianza (estadísticos de diversidad, AMOVA y matrices de distancia).

Las relaciones filogeográficas entre los linajes mitocondriales de la región Cyt B se reconstruyeron mediante una red de haplotipos basada en el algoritmo de *Minimum Spanning Tree* (MST), implementado con la función haploNet del paquete pegas v.1.3 (Paradis, 2010). Complementariamente, para investigar la estructuración genética espacial sin asumir un modelo genético poblacional *a priori* (ej. equilibrio de Hardy-Weinberg), se ejecutó un Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC; Jombart et al., 2010). El número empírico de clústeres genéticos (K) se infirió mediante un algoritmo de agrupamiento secuencial *K-means*, seleccionando la configuración con el menor Criterio de Información Bayesiano (BIC). La cantidad óptima de Componentes Principales (PCs) retenidos se determinó objetivamente mediante validación cruzada (xvalDapc) con 30 repeticiones estratificadas para maximizar el

poder predictivo y evitar el sobreajuste del modelo. El DAPC se ejecutó con el paquete *adegenet* v.2.1.8 (Jombart, 2008) en R v.4.3.2 (R Core Team, 2023).

Posteriormente, empleando el subconjunto de datos restringido ($n = 123$), se cuantificó la magnitud de la divergencia evolutiva entre las localidades americanas. La diferenciación genética pareada se evaluó mediante dos aproximaciones complementarias: el índice de fijación análogo Φ_{ST} (Excoffier et al., 1992), el cual incorpora las distancias mutacionales entre los haplotipos, y el índice de diferenciación de linajes de Jost D_{ST} (Jost, 2008), el cual estima la divergencia genotípica pura de forma independiente a la varianza intra-poblacional. La significancia estadística de estas distancias genéticas pareadas se determinó mediante 1,000 permutaciones aleatorias utilizando el paquete *mmod* v.1.3.3 (Winter, 2012). Finalmente, para visualizar la magnitud del posible aislamiento genético latitudinal de manera continua, se construyó un mapa de calor (*heatmap*) a partir de las matrices de distancias, ordenando las poblaciones de manera estricta en un gradiente geográfico de Norte a Sur (desde Canadá hasta Bolivia) utilizando el paquete *ggplot2* v.3.4.4 (Wickham, 2016).

Con base en los patrones exploratorios observados, se procedió a definir estadísticamente los grupos genéticos. Para ello, se implementó un Análisis de Varianza Molecular Jerárquico (AMOVA; Excoffier et al., 1992) diseñado para poner a competir cuatro hipótesis evolutivas de estructuración espacial. Cada modelo fue propuesto para evaluar distintos escenarios históricos, geológicos o antrópicos. Los modelos considerados fueron: Modelo A (Demográfico-Espacial): Propone una estructuración empírica fundamentada en la proximidad geográfica, la continuidad de los corredores andinos y las afinidades genéticas preliminares observadas en los análisis exploratorios (Red de Haplotipos y diferenciación genética). Modelo B (Biogeográfico / Orogénesis Andina): Fundamentado en las principales barreras topográficas que han moldeado la

diversificación histórica de la biota andina y sus expansiones (Mutke et al., 2014; Hazzi et al., 2018). Este modelo agrupa las poblaciones en dominios biogeográficos distintos: Región Neártica, Mesoamérica, Andes Septentrionales, Andes Centrales, Apurímac-Vilcanota y Altiplano-Yungas. Modelo C (Geopolítico / Fronteras actuales): Un agrupamiento basado estrictamente en las fronteras administrativas contemporáneas de los países. Se incluyó esta hipótesis nula para evaluar si la estructura genética actual podría explicarse por cuarentenas agrícolas o aislamiento fronterizo reciente. Modelo D (Algorítmico *Data-Driven*): Un modelo ciego guiado puramente por los datos moleculares sin a priori espacial, forzando la estructuración poblacional a la asignación algorítmica derivada de los clústeres del *K-means* óptimo sugerido por el BIC. Las matrices de distancias genéticas pareadas para el AMOVA se calcularon bajo el modelo de sustitución nucleotídica de Tamura y Nei (1993) implementado en el paquete ape v.5.7 (Paradis et al., 2004). Los modelos jerárquicos se ejecutaron en pegas v.1.3 y la significancia estadística del estadístico de fijación entre macro-grupos (Φ_{CT}) se evaluó mediante 1,000 permutaciones aleatorias.

4.8 Diversidad Genética e Inferencias Demográficas de grupos genéticos.

Para evaluar los niveles de polimorfismo y reconstruir la historia demográfica reciente de *Globodera pallida*, las secuencias fueron agrupadas espacialmente de acuerdo con los grupos genéticos definidos por el modelo de estructuración espacial que obtuvo el mayor soporte estadístico en el análisis jerárquico previo (AMOVA). Para garantizar la robustez estadística de las pruebas poblacionales basadas en frecuencias alélicas y simulaciones coalescentes, se aplicó un umbral de tamaño muestral mínimo, excluyendo de esta fase analítica a aquellos grupos genéticos que no permitieran la convergencia matemática de los estadísticos ($N < 3$). Para cada grupo retenido, la diversidad genética estándar se cuantificó estimando el número de sitios

polimórficos segregantes (S), la diversidad haplotípica (Hd) y la diversidad nucleotídica (π) (Nei, 1987). Las desviaciones del modelo de equilibrio mutación-deriva se evaluaron mediante dos pruebas de neutralidad poblacional complementarias: el estadístico D de Tajima (Tajima, 1989), útil para identificar firmas de selección o fluctuaciones demográficas globales, y el estadístico R2 de Ramos-Onsins y Rozas (Ramos-Onsins & Rozas, 2002), el cual ofrece un mayor poder estadístico empírico para detectar eventos de crecimiento poblacional reciente, particularmente bajo escenarios de tamaños muestrales reducidos. La significancia estadística de ambas pruebas se evaluó asumiendo un modelo de coalescencia neutral. Complementariamente, para discernir entre escenarios de poblaciones estacionarias frente a expansiones demográficas súbitas, se implementó un Análisis de Distribución de Diferencias Pareadas (*Mismatch Distribution Analysis*, MDA). Se calculó el índice de rugosidad de Harpending (r) (Harpending, 1994) para evaluar la suavidad de las distribuciones resultantes; bajo este modelo, las distribuciones unimodales y suaves (valores de r bajos y no significativos) son indicativas de expansiones demográficas recientes, mientras que las distribuciones multimodales e irregulares sugieren poblaciones en equilibrio demográfico a largo plazo.

Para aquellos grupos que exhibieron señales empíricas de expansión demográfica, el tiempo absoluto desde el evento de expansión (t , expresado en años) se estimó a partir del parámetro mutacional Tau (τ) derivado del MDA, utilizando la ecuación $t = \tau / 2\mu k$, donde τ es el tiempo relativo de expansión en unidades mutacionales, μ es la tasa de mutación por sitio por generación, y k es la longitud del fragmento secuenciado en pares de bases (441 pb). Para esta estimación, se asumió un tiempo generacional (g) de un año para *G. pallida* y una tasa de mutación mitocondrial estandarizada de $\mu = 7.2 \times 10^{-8}$ sustituciones/sitio/generación. Todos los análisis de

diversidad y simulaciones demográficas se ejecutaron en el entorno de R utilizando los paquetes *pegas* v.1.3 (Paradis, 2010) y *ape* v.5.7 (Paradis et al., 2004).

4.9 Reconstrucción de la historia demográfica e inferencia de escenarios de colonización.

4.9.1 Preparación de datos y Espectro de Frecuencias de Sitios (SFS)

Para caracterizar la dinámica poblacional de *Globodera pallida* en las Américas y reconstruir su historia demográfica reciente, se empleó un enfoque de inferencia basado en la teoría coalescente utilizando el programa *fastsimcoal2* v2.8 (Excoffier et al., 2021). Las estimaciones demográficas se fundamentaron en el Espectro de Frecuencias de Sitios (SFS). El archivo VCF filtrado fue procesado mediante el programa *easySFS* (<https://github.com/isaacovercast/easySFS>) para determinar el tamaño de proyección óptimo que maximizara el número de sitios segregantes, corrigiendo simultáneamente la proporción de datos faltantes. Se construyeron espectros de frecuencia plegados (folded SFS) unidimensionales y multidimensionales para modelar la historia evolutiva conjunta de las unidades poblacionales.

4.9.2 Estrategia de modelamiento y topologías en competencia

Dado que los análisis previos de estructuración espacial (DAPC y AMOVA) revelaron una fuerte afinidad genética entre el bloque de los Andes Septentrionales (Colombia y Ecuador) y las poblaciones del centro-norte de Perú, el modelamiento coalescente se enfocó en dilucidar la mecánica de esta expansión. Se diseñó un marco de competencia de modelos demográficos estructurado para contrastar hipótesis alternativas de invasión. Específicamente, se sometieron a competencia tres topologías principales para evaluar si el establecimiento poblacional en el norte de Sudamérica fue el resultado de: (A) un único evento fundador masivo seguido de divergencia,

(B) dos eventos de dispersión independientes, o (C) tres introducciones asincrónicas desde la cordillera de los Andes centrales. Para modelar matemáticamente los eventos de dispersión (efecto fundador), se incorporaron cuellos de botella en las poblaciones derivadas. Para evitar los problemas documentados de falta de identificabilidad matemática entre la intensidad y la duración temporal de un cuello de botella (Sousa et al., 2020), la duración de estos eventos restrictivos se fijó estrictamente en 10 generaciones hacia el pasado. Este control paramétrico permite estimar la intensidad real de la restricción fundacional (N_{bot}) y el momento del evento de divergencia (T_{div}).

4.9.3 Estimación de parámetros y selección de modelos

La estimación de los tamaños efectivos poblacionales (N_e) y los tiempos de divergencia se realizó asumiendo una tasa de mutación constante de 7.2×10^{-8} sustituciones por sitio por generación. Se asignaron distribuciones previas log-uniformes amplias para todos los parámetros de tamaño poblacional, y distribuciones uniformes para los tiempos de los eventos históricos. Para cada topología demográfica evaluada, se ejecutaron 100 réplicas independientes; cada réplica constó de 100,000 simulaciones coalescentes acopladas a 20 ciclos del algoritmo ECM (Maximización de la Expectativa Condicional). La selección del modelo evolutivo óptimo se basó en el Criterio de Información de Akaike (AIC). Dado que el análisis requirió contrastar topologías complejas, la bondad de ajuste relativa se estandarizó calculando la Desviación o Diferencia de Verosimilitud ($MaxObsLhood - MaxEstLhood$). Esta métrica cuantifica la divergencia absoluta entre la máxima verosimilitud observada teórica (derivada de los datos empíricos) y la verosimilitud máxima estimada por el modelo coalescente. Posteriormente, se penalizó el ajuste por la cantidad de parámetros libres (k) para el cálculo del ΔAIC . El modelo que minimizó esta diferencia estadística ($\Delta AIC = 0.00$) fue seleccionado como el escenario evolutivo más probable.

4.10 Análisis de integración de datos genotipo-fenotipo (morfometría *G. pallida*)

El procesamiento, limpieza y visualización de todas las mediciones morfométricas se realizó en el entorno de programación R v4.2 (R Core Team, 2022), utilizando el ecosistema de paquetes tidyverse (Wickham et al., 2019) y janitor (Firke, 2023). Se generaron tablas de estadística descriptiva (media y desviación estándar) para los caracteres morfométricos evaluados, agrupando las muestras según el linaje genético (clúster DAPC) al que fueron asignadas en el análisis poblacional previo. Todos los análisis se ejecutaron de manera independiente para los estadios de quiste y juvenil.

Para mitigar el efecto de la autocorrelación inherente entre los caracteres morfométricos (alometría) y evitar la inflación del Error Tipo I, se adoptó un enfoque estadístico multivariado. En primer lugar, se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA) empleando el paquete factoextra (Kassambara & Mundt, 2020) sobre las variables centradas y escaladas, visualizando así la ocupación del morfoespacio. Posteriormente, la significancia de las diferencias morfométricas globales entre los linajes genéticos identificados se testeó mediante un Análisis Multivariado de Varianza (MANOVA), empleando el estadístico de la Traza de Pillai implementado en el paquete car (Fox & Weisberg, 2019). Para validar estos resultados sin asumir normalidad multivariante, se ejecutó adicionalmente un Análisis de Varianza Multivariado Permutacional (PERMANOVA) basado en distancias euclidianas utilizando la función adonis2 del paquete vegan (Oksanen et al., 2020).

Finalmente, para entender los patrones evolutivos y de dispersión de *G. pallida*, se ejecutaron pruebas de correlación de matrices de distancia (Prueba de Mantel; 9,999 permutaciones) utilizando el paquete vegan. En primer lugar, se evaluó la existencia de un patrón

de Aislamiento por Distancia (IBD) correlacionando una matriz de distancias geográficas (basada en las coordenadas espaciales) con una matriz de distancias genéticas. La distancia genética se calculó bajo el modelo de sustitución de Kimura de 2 parámetros (K80) a partir de las secuencias del alineamiento múltiple empleando el paquete ape (Paradis et al., 2004). Posteriormente, se evaluó la congruencia evolutiva genotipo-fenotipo a través de una prueba de Mantel inter-clúster, correlacionando una matriz de distancias genéticas poblacionales promedio (K80) con una matriz de distancias morfológicas obtenida a partir de los centroides multivariados de cada clúster genético del DAPC.

5. Resultados

5.1 Muestras y aislamiento de quistes

Se colectaron un total de 59 muestras de suelo en cultivos de papa de los cuatro departamentos evaluados (**Tabla 3**). En todos los municipios muestreados se detectó la presencia del nematodo quiste.

Las mayores densidades promedio se registraron en los municipios de Chiquizá (142) y Soracá (88) en Boyacá, en Cundinamarca Tenjo (79) reporto el mayor valor. En Norte de Santander, Chitagá presentó el mayor promedio regional (86,54), mientras que en Santander se registraron las densidades más bajas (8,8 en Cerrito y 6,3 en Guaca) (**Tabla 3**).

Tabla 3.

Distribución de muestras, prevalencia de Globodera spp. en muestras colectadas, promedio y densidad de quistes en 100 gramos de suelo.

Depto.	Municipio	Nº Muestras	Prevalencia (%)	Densidad (quistes/100g)
Boyacá	Tunja	1	100	8 – 45
	Soracá	1	100	1 – 88
	Chíquiza	1	100	1 – 142
	Samacá	1	100	17 – 37
	Sogamoso	1	100	11 – 34
	Toca	1	100	10 – 18
	Ventaquemada	1	100	9 – 22
	Sora	1	100	1 – 5
Cundinamarca	Arcabuco	1	100	1 – 20
	Tausa	1	100	33 – 35
	Ubaté	1	100	1 – 48
	Guatavita	1	100	1 – 39
	Susa	1	100	1 – 7
N. de Santander	Tenjo	1	100	1 - 79
	Chitagá	11	100	2 – 179
Santander	Mutiscua	11	36	1 – 3
	Guaca	11	27	8 – 89
	Cerrito	12	25	22 – 32

5.2.1 Morfometría de quistes

La identificación morfológica se fundamentó en caracteres diagnósticos de la región perineal. Los quistes de las poblaciones identificadas como *G. pallida* presentaron una distancia ano-fenestra más corta ($50,4 \pm 18,45 \mu\text{m}$ a $70,3 \pm 18,3 \mu\text{m}$) y un número reducido de estrías cuticulares entre la vulva y el ano (7,6 a 10,0 estrías). Por el contrario, las poblaciones de *G. rostochiensis* en Chitagá exhibieron caracteres diagnósticos distintivos, incluyendo un mayor número de estrías perineales (16 ± 9) y una distancia ano-fenestra significativamente mayor ($88,56 \pm 24,92 \mu\text{m}$) (Tabla 5). El índice de Granek, un parámetro crítico para la diferenciación específica osciló entre $2,4 \pm 1,4$ y $4,5 \pm 1,6$ a través de todas las muestras. En términos generales, los quistes presentaron una notable plasticidad fenotípica, con longitudes promedio entre $571,95 \pm 121,23 \mu\text{m}$ y $777,62 \pm 140,83 \mu\text{m}$, y anchuras de $557,98 \pm 112,5 \mu\text{m}$ a $721,68 \pm 137,9 \mu\text{m}$ (Tabla 4).

Tabla 4

Caracterización morfométrica de quistes de Globodera spp.

Departamento	Municipio	n	Longitud (μm)	Ancho (μm)	Fenestra (μm)	Dist. Ano-Fen (μm)	Estrías
Boyacá	Tunja	14	635 ± 127	611 ± 109	$27,8 \pm 6,9$	$57,3 \pm 20,2$	9 ± 3
Boyacá	Soracá	23	575 ± 126	563 ± 109	$26,9 \pm 6,5$	$52,5 \pm 18,9$	9 ± 3
Boyacá	Samacá	12	589 ± 129	574 ± 112	$27,0 \pm 6,5$	$52,9 \pm 19,1$	9 ± 3
Boyacá	Sogamoso	14	605 ± 132	587 ± 113	$27,5 \pm 6,6$	$53,3 \pm 19,5$	9 ± 3
Boyacá	Toca	14	623 ± 127	602 ± 107	$27,9 \pm 6,9$	$54,9 \pm 19,3$	9 ± 3
Boyacá	Ventaquemada	14	690 ± 120	653 ± 107	$28,1 \pm 7,7$	$59,5 \pm 20,6$	9 ± 2
Boyacá	Sora	12	584 ± 131	568 ± 115	$26,9 \pm 6,8$	$50,4 \pm 18,5$	9 ± 3
Boyacá	Arcabuco	12	651 ± 132	628 ± 113	$27,9 \pm 7,6$	$56,1 \pm 20,5$	9 ± 3
Cundinamarca	Tausa	18	574 ± 124	558 ± 116	$26,3 \pm 6,2$	$52,7 \pm 18,7$	9 ± 3
Cundinamarca	Ubaté	16	578 ± 125	564 ± 116	$26,4 \pm 6,3$	$52,5 \pm 18,6$	9 ± 3
Cundinamarca	Guatavita	17	572 ± 121	558 ± 113	$26,5 \pm 6,3$	$52,5 \pm 18,9$	9 ± 3
Cundinamarca	Susa	16	576 ± 124	563 ± 113	$26,6 \pm 6,3$	$52,6 \pm 18,7$	9 ± 3

Departamento	Municipio	n	Longitud (μm)	Ancho (μm)	Fenestra (μm)	Dist. Ano-Fen (μm)	Estrías
Cundinamarca	Tenjo	21	–	–	26,2 ± 7,4	70,3 ± 18,3	10 ± 2
Santander	Guaca	20	686 ± 117	629 ± 115	22,4 ± 4,3	60,4 ± 23,7	8 ± 2
Santander	Cerrito	20	778 ± 141	722 ± 138	23,8 ± 6,9	59,9 ± 15,2	8 ± 1
Norte de Santander	Chitagá	22	672 ± 113	656 ± 93	20,6 ± 5,0	88,6 ± 24,9	16 ± 9

Especies: Boyacá, Cun, Sant = *G. pallida*; N. Sant = *G. rostochiensis*. (-) Dato no obtenido

5.2.2 Morfometría de juveniles

Los caracteres de los juveniles de segundo estadio reforzaron la identificación taxonómica (**Tabla 5**). Se observaron estiletes robustos con nódulos basales bien desarrollados (**Figura 6C**), con longitudes que variaron entre $25,28 \pm 4,59 \mu\text{m}$ y $30,29 \pm 4 \mu\text{m}$. La longitud de la cola hialina, otro carácter de alto valor diagnóstico (**Figura 6D**), presentó rangos de $24,1 \pm 5 \mu\text{m}$ a $32,74 \pm 2,39 \mu\text{m}$. Finalmente, la longitud total del cuerpo de los J2 se situó entre $467,73 \pm 18,85 \mu\text{m}$ y $608,10 \pm 33,32 \mu\text{m}$. Estos valores morfométricos son congruentes con las descripciones estándar para ambas especies y proporcionan el marco taxonómico necesario para interpretar la estructuración genética observada en las fases posteriores del estudio.

Tabla 5

Caracterización morfométrica de juveniles de Globodera spp.

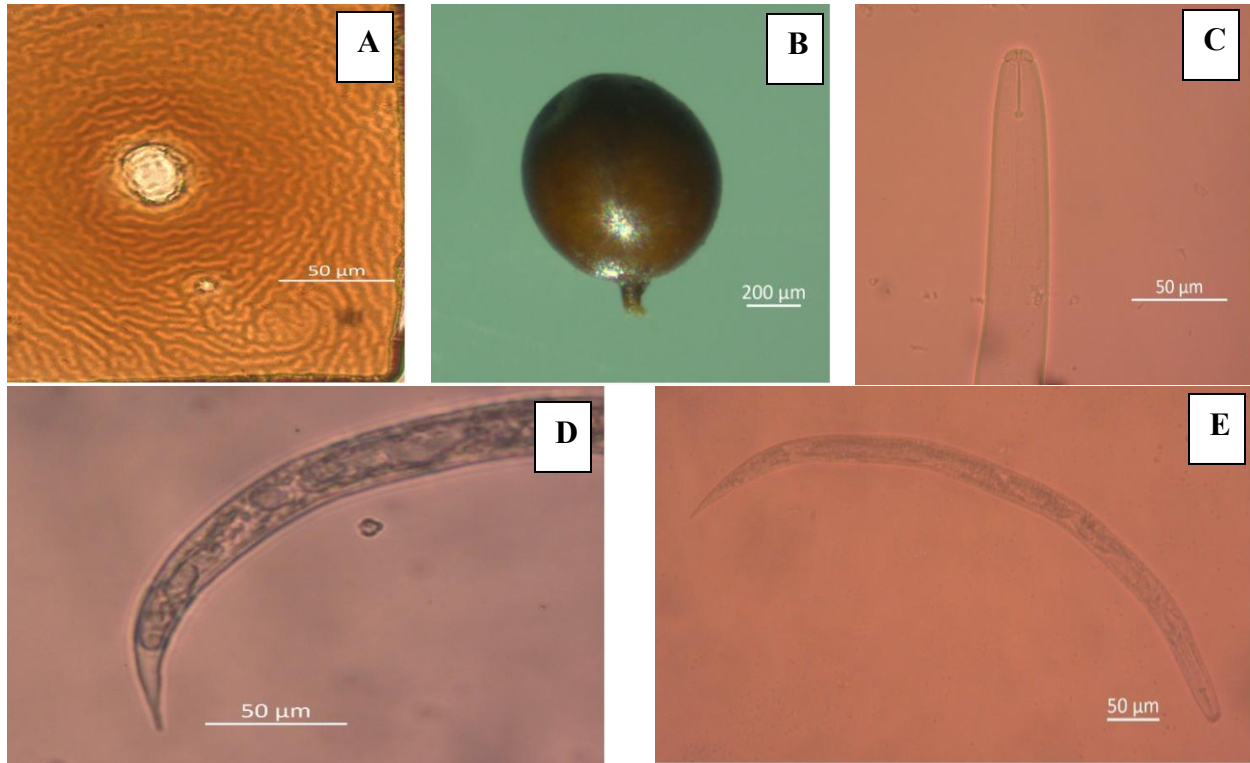
Depto.	Municipio (n)	Especie	Largo (μm)	Estilete (μm)	Cola (μm)
	Tunja (4)	<i>G. pallida</i>	608,1 ± 33,3	28,4 ± 1,0	32,7 ± 2,4
	Soracá (4)	<i>G. pallida</i>	556,5 ± 42,0	28,4 ± 0,5	29,6 ± 1,5
	Samacá (4)	<i>G. pallida</i>	482,0 ± 30,3	28,2 ± 1,8	26,7 ± 5,0
	Sogamoso (4)	<i>G. pallida</i>	490,3 ± 51,2	30,3 ± 4,0	27,9 ± 4,6

Boyacá	Chíquiza (8)	<i>G. rostochiensis</i>	552,9 ± 67,3	26,0 ± 5,4	27,6 ± 4,1
	Toca (4)	<i>G. pallida</i>	476,9 ± 58,3	27,8 ± 2,6	25,8 ± 4,5
	Ventaquemada (4)	<i>G. pallida</i>	482,4 ± 57,2	27,9 ± 6,3	28,5 ± 1,9
	Sora (3)	<i>G. pallida</i>	528,6 ± 37,7	28,5 ± 1,0	28,9 ± 1,7
	Arcabuco (3)	<i>G. pallida</i>	502,3 ± 59,7	28,8 ± 1,1	26,6 ± 5,1
C/marca	Tausa (8)	<i>G. pallida</i>	579,3 ± 80,8	27,6 ± 1,0	31,4 ± 4,4
	Ubaté (7)	<i>G. pallida</i>	474,2 ± 60,4	25,3 ± 4,6	28,4 ± 4,3
	Guatavita (7)	<i>G. pallida</i>	467,7 ± 18,9	28,2 ± 1,3	26,1 ± 5,0
	Susa (10)	<i>G. pallida</i>	470,2 ± 44,2	27,0 ± 1,8	27,5 ± 4,3
	Tenjo (21)	<i>G. pallida</i>	494,5 ± 34,1	28,4 ± 1,6	24,1 ± 5,0
Santander	Guaca (19)	<i>G. pallida</i>	484,4 ± 47,8	26,3 ± 1,4	29,5 ± 4,6
	Cerrito (30)	<i>G. pallida</i>	517,7 ± 48,4	26,3 ± 4,5	29,1 ± 3,6
N. Santander	Chitagá (25)	<i>G. rostochiensis</i>	534,0 ± 51,0	25,8 ± 1,5	26,9 ± 4,8

Nota: SD desviación estándar implícita en los valores (±).

Figura 6

Micrografías ópticas de quistes y juveniles de Globodera spp.



Nota: A) Región perineal de quiste, B) Quiste completo, C) Estilete, D) Cola hialina, E) Juvenil completo.

5.2.3 Relaciones filogenéticas interespecíficas (Gen COI)

La reconstrucción filogenética de Máxima Verosimilitud (ML) estructuró los aislamientos evaluados en dos clados monofiléticos principales con soporte estadístico alto ($SH-aLRT \geq 80$ / $UFboot \geq 90$) (**Figura 7**). El alineamiento final para esta región genómica comprendió un total de 65 secuencias con una longitud depurada de 441 pares de bases.

La mayor proporción de las secuencias generadas en este estudio, provenientes de los departamentos de Cundinamarca, Boyacá y Santander, se agruparon en un clado único junto a las

secuencias de referencia de *Globodera pallida* (**Figura 7**). Por su parte, los aislamientos colectados en Chitagá (Norte de Santander) y en la localidad de Chíquiza (Boyacá) conformaron un linaje independiente que anidó con las secuencias de referencia de *Globodera rostochiensis* (**Figura 7**).

En la topología global del árbol, se observó que el clado de *G. pallida* presentó una mayor afinidad evolutiva con las especies *G. mexicana* y *G. ellingtonae*. Otras especies del género, como *G. tabacum*, *G. artemisiae* y *G. millefolii*, se posicionaron en ramas divergentes. Finalmente, las especies pertenecientes al complejo de Sudáfrica (*G. agulhasensis*, *G. sandveldensis* y *G. capensis*) se ubicaron en una posición basal respecto a los linajes andinos. El enraizamiento del filograma mediante los grupos externos *Atalodera carolynae* y *Rhizomella* sp. permitió confirmar la monofilia de los grupos identificados (**Figura 7**).

Figura 7

Filograma de Máxima Verosimilitud (ML) para el gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I (COI) de Globodera spp..

Filogenia de Máxima Verosimilitud: *Globodera* spp.



Nota: Las ramas terminales coloreadas representan los aislamientos generados en este estudio y las secuencias de referencia de GenBank. Los círculos sobre los nodos indican el soporte estadístico basado en la prueba de Razón de Verosimilitud de Shimodaira-

Hasegawa (SH-aLRT) y el remuestreo Ultrafast Bootstrap (UFboot): verde (alto soporte: $\geq 80/90$), amarillo (soporte medio: ≥ 75) y rojo (bajo soporte: < 75). El árbol fue enraizado utilizando a *Atalodera carolynae* y *Rhizomella* sp. como grupos externos. La escala inferior representa el número de sustituciones nucleotídicas por sitio

5.3 Reconstrucción Filogenética Global

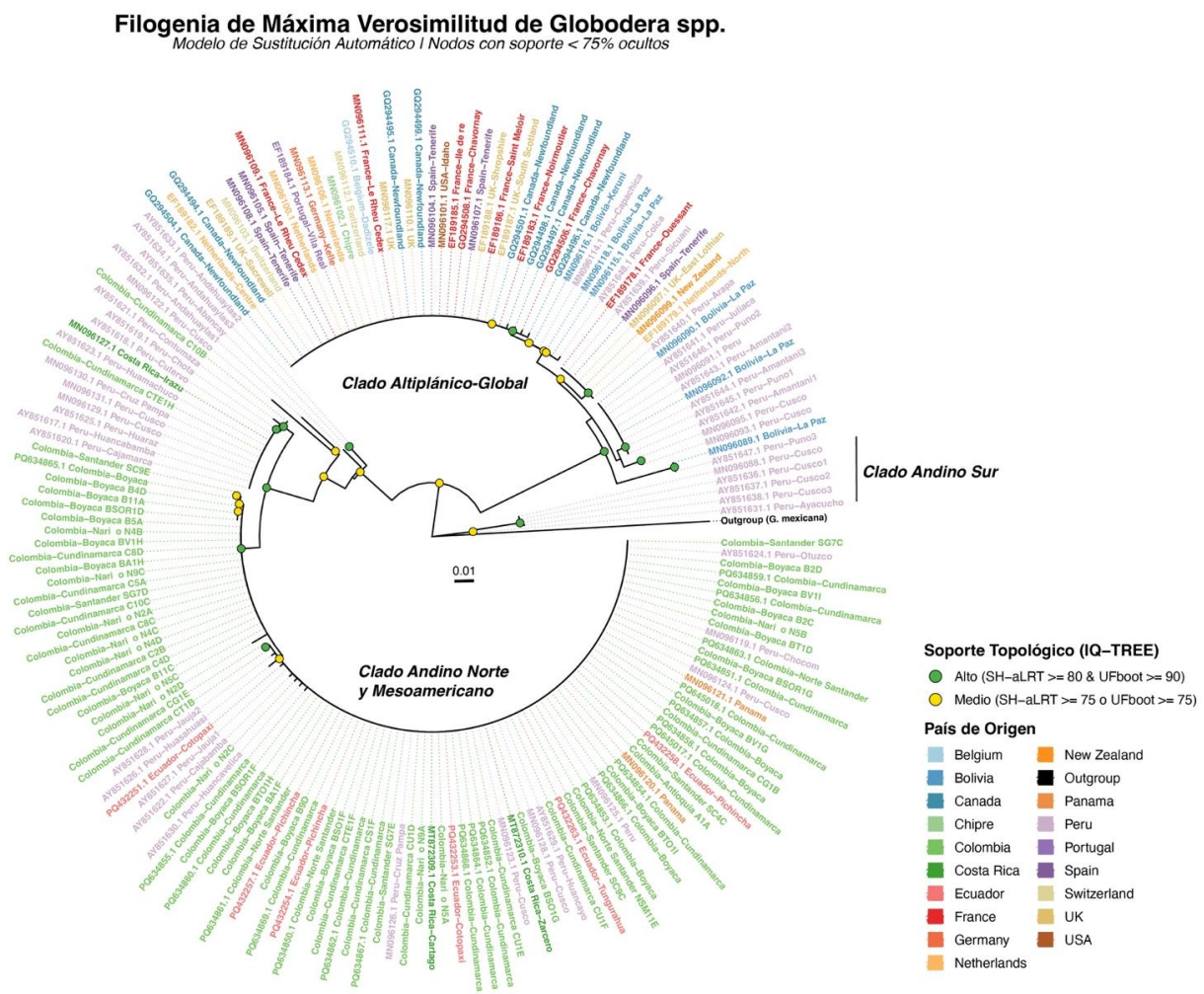
El alineamiento final del gen *Cyt b* comprendió un fragmento homólogo de 441 pares de bases (pb) para las 181 secuencias analizadas. La traducción in silico confirmó la preservación del marco de lectura abierto y la ausencia de codones de parada prematuros. La reconstrucción filogenética de Máxima Verosimilitud se infirió bajo el modelo de sustitución nucleotídica HKY+F+I, seleccionado empíricamente como el de mejor ajuste mediante el Criterio de Información Bayesiano (BIC).

La topología del árbol filogenético reconstruido estructuró a los 180 individuos de *Globodera pallida* en tres cladogrupos principales. El primero, denominado cladogrupo andino sur, presentó un soporte alto y estuvo integrado en su totalidad por secuencias procedentes de los Andes centrales y del sur de Perú, específicamente de los departamentos de Ayacucho y Cusco. El segundo, identificado como cladogrupo altiplánico-global, constituyó una agrupación masiva y heterogénea que incluyó todas las poblaciones extra-andinas de Norteamérica, Europa y Oceanía. Estas secuencias se agruparon con linajes nativos pertenecientes únicamente a la cuenca del Altiplano y el sur andino, abarcando muestras de Bolivia y localidades peruanas como Puno, Juliaca, Capachica, Amantani y Cusco. Por último, el cladogrupo andino norte y mesoamericano se posicionó como el grupo con mayor diversidad, reuniendo todas las secuencias de Colombia, Ecuador y Centroamérica, representadas por Costa Rica y Panamá. Estos linajes conformaron un

clado junto con múltiples poblaciones nativas del norte y centro de Perú, incluyendo a Huancabamba, Cajamarca, Cutervo, Chota, Huaraz, Jauja y Huancavelica (**Figura 8**).

Figura 8

Reconstrucción filogenética de Máxima Verosimilitud para el gen mitocondrial Cyt b de Globodera spp. (n=181).



Nota: El filograma en formato circular ilustra las relaciones topológicas de los linajes a nivel global, enraizado utilizando a *Globodera mexicana* como grupo externo. La filogenia fue inferida bajo el modelo de sustitución nucleotídica HKY+F+I. Los círculos coloreados

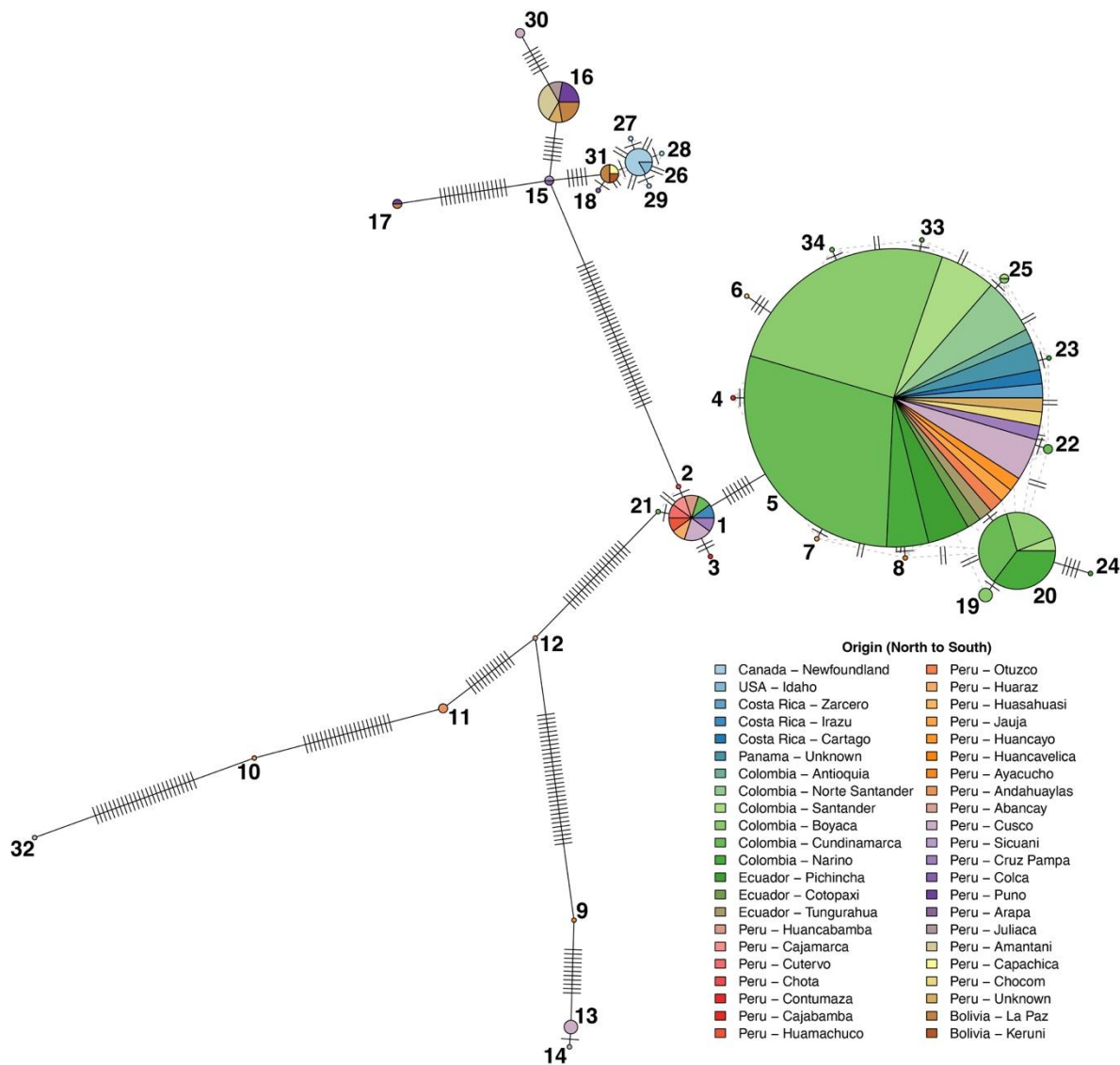
sobre los nodos denotan la confiabilidad estadística de los clados, mostrando exclusivamente aquellas bifurcaciones que alcanzaron un soporte topológico robusto evaluado mediante la prueba de Razón de Verosimilitud (SH-aLRT) y el remuestreo Ultrafast Bootstrap (UFboot). El color verde indica un soporte alto (ambos $\geq 80\%$ y 90% , respectivamente), mientras que el amarillo indica un soporte medio (ambos $\geq 75\%$). El esquema de colores en las etiquetas de las ramas terminales codifica el país o la macrorregión de procedencia de cada secuencia.

5.4 Red de Haplotipos en el Continente Americano

Para el subconjunto de datos correspondiente a las Américas ($n=150$), el análisis de *Minimum Spanning Tree* identificó un total de 34 haplotipos mitocondriales con el gen Cyt B (**Figura 9**). Contrario a un modelo de aislamiento por distancia estricto, la topología de la red no evidenció una correlación clara entre la estructuración de los haplotipos y su proximidad geográfica a nivel de país. En su lugar, la distribución en la red resultó altamente congruente con los macroclados detectados en la filogenia global.

Figura 9

Red de haplotipos basada en el algoritmo de Minimum Spanning Tree (MST) para las secuencias del gen mitocondrial (Cyt b) de Globodera pallida en el continente americano (n=150)



Nota: La red describe las relaciones mutacionales de los 34 haplotipos identificados. El tamaño de los nodos (círculos) es proporcional a la frecuencia absoluta de cada haplotipo en la base de datos empírica. El esquema de colores codifica la procedencia geográfica de las secuencias, listadas en un gradiente latitudinal de Norte a Sur. Las marcas perpendiculares a lo largo de las líneas conectoras (aristas) denotan el número exacto de sustituciones nucleotídicas (pasos mutacionales) observadas entre los diferentes haplotipos.

Se observó la formación de haplogrupos mixtos donde poblaciones separadas por grandes distancias latitudinales compartieron estrechas relaciones mutacionales. Por un lado, las secuencias del clado norte y centroamericano (Colombia, Ecuador, Costa Rica y Panamá) se conectaron directamente con haplotipos pertenecientes al centro y norte de Perú. Por otro lado, un grupo mutacional distinto conectó a las poblaciones del Altiplano andino (Bolivia y la región peruana de Puno/Juliaca) con los linajes introducidos en Norteamérica (Estados Unidos y Canadá). Dentro de este esquema reticular, ciertos linajes exhibieron posiciones marcadamente periféricas y aisladas; en particular, los haplotipos correspondientes a la población de Canadá, así como algunos linajes del sur peruano (ej. Ayacucho), se posicionaron en los extremos distales de la red, separados de sus nodos más cercanos por múltiples pasos mutacionales sin intermediarios muestreados.

5.5 Estructuración Espacial a través de las Américas (DAPC)

En la evaluación de la estructuración genética mediante el Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC), el algoritmo de agrupamiento secuencial *K-means* reportó el valor mínimo del Criterio de Información Bayesiano (BIC) en la partición $K=20$ (**Anexo D**). Por su parte, la validación cruzada estratificada (*xvalDapc*) determinó empíricamente la retención de cuatro Componentes Principales (PCs) para la construcción óptima del modelo (**Anexo C**).

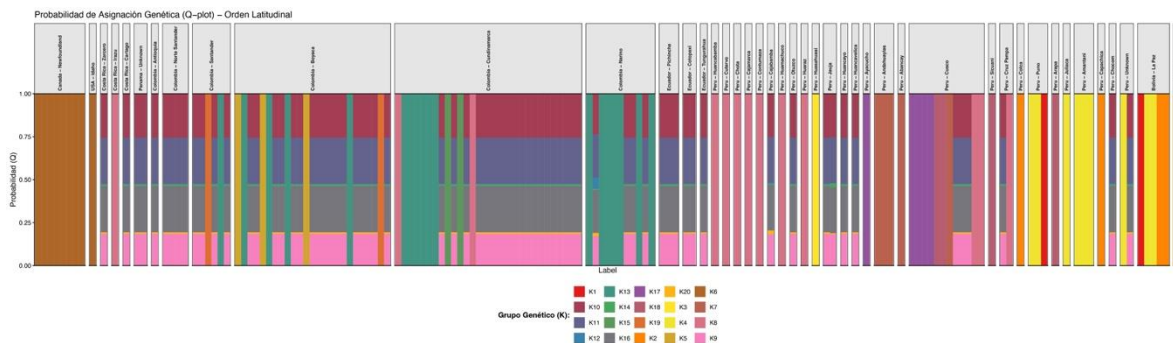
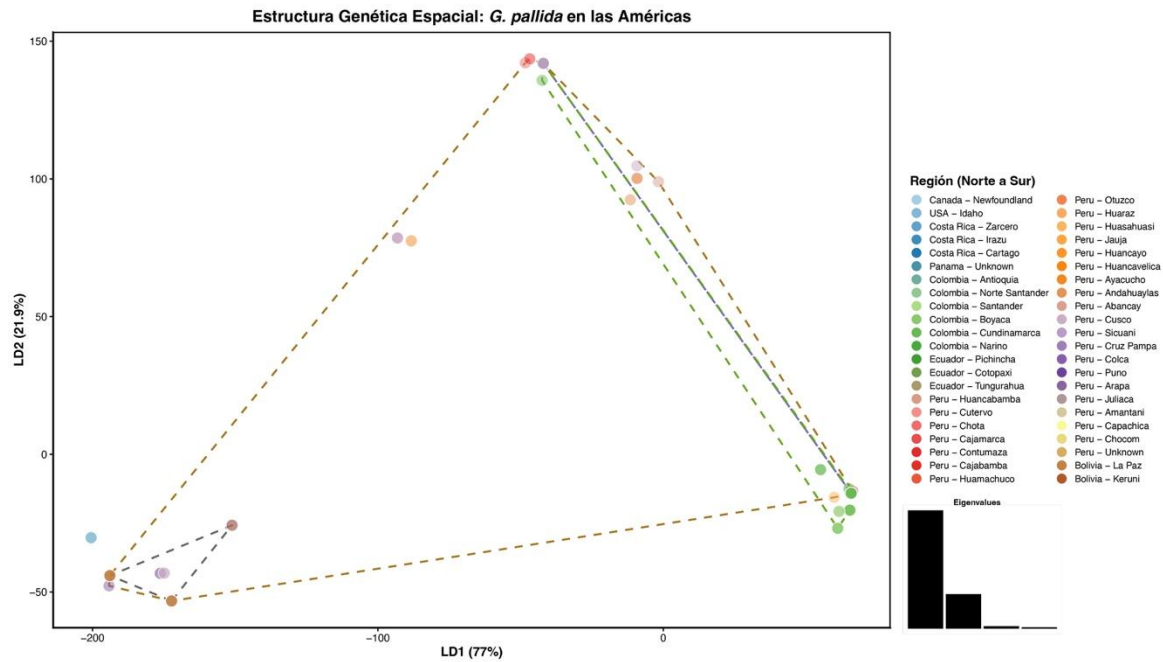
El diagrama de dispersión bivariado (**Figura 10**) organizó a los 150 individuos en agrupaciones espaciales estrictamente segregadas. El primer eje discriminante (LD1), responsable del 77% de la varianza total explicada, separó diametralmente al bloque geográfico del norte

(Norteamérica, Centroamérica, Colombia y Ecuador) de las poblaciones ubicadas en los Andes centrales y del sur (Perú y Bolivia). De manera complementaria, el segundo eje discriminante (LD2), representativo del 21.9% de la varianza explicada, separó de forma ortogonal y exclusiva a las secuencias de Norteamérica (Canadá y Estados Unidos) del resto del conjunto continental.

El análisis de probabilidad de asignación individual (Q-plot; **Figura 10B**), estructurado en un ordenamiento latitudinal de Norte a Sur, detalló la correspondencia de cada individuo a los 20 clústeres genéticos modelados. Las gráficas revelaron transiciones de asignación discretas y abruptas entre las diferentes localidades, documentando bloques con alta pureza de asignación (probabilidades $Q \approx 1.0$) y escasa mezcla interpoblacional, con Canadá exhibiendo un clúster de asignación genómica puro e independiente.

Figura 10

Estructura genética poblacional de Globodera pallida inferida mediante Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC).



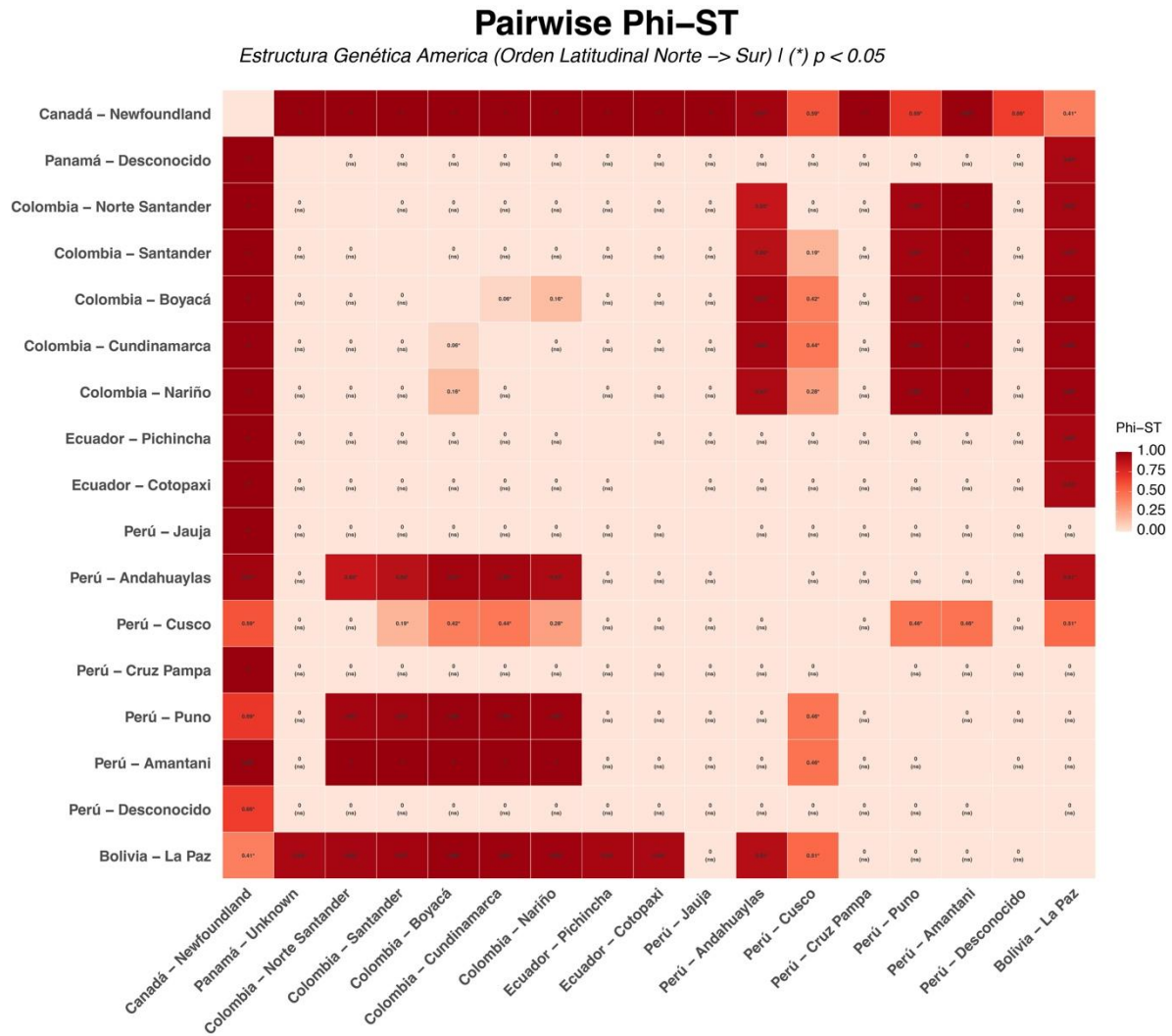
Nota: (A) Diagrama de dispersión bivariado proyectado sobre los dos primeros ejes discriminantes (LD1: 77% y LD2: 21.9%). Los polígonos agrupan a las secuencias por país o macrorregión de origen, mientras que el color de los puntos codifica el departamento o localidad. El gráfico inserto detalla los autovalores retenidos. (B) Gráfico de asignación individual (Q-plot) mostrando la probabilidad posterior de pertenencia (Q) a cada uno de los 20 clústeres genéticos inferidos mediante *K-means*, con las poblaciones ordenadas latitudinalmente desde Norteamérica hasta Sudamérica.

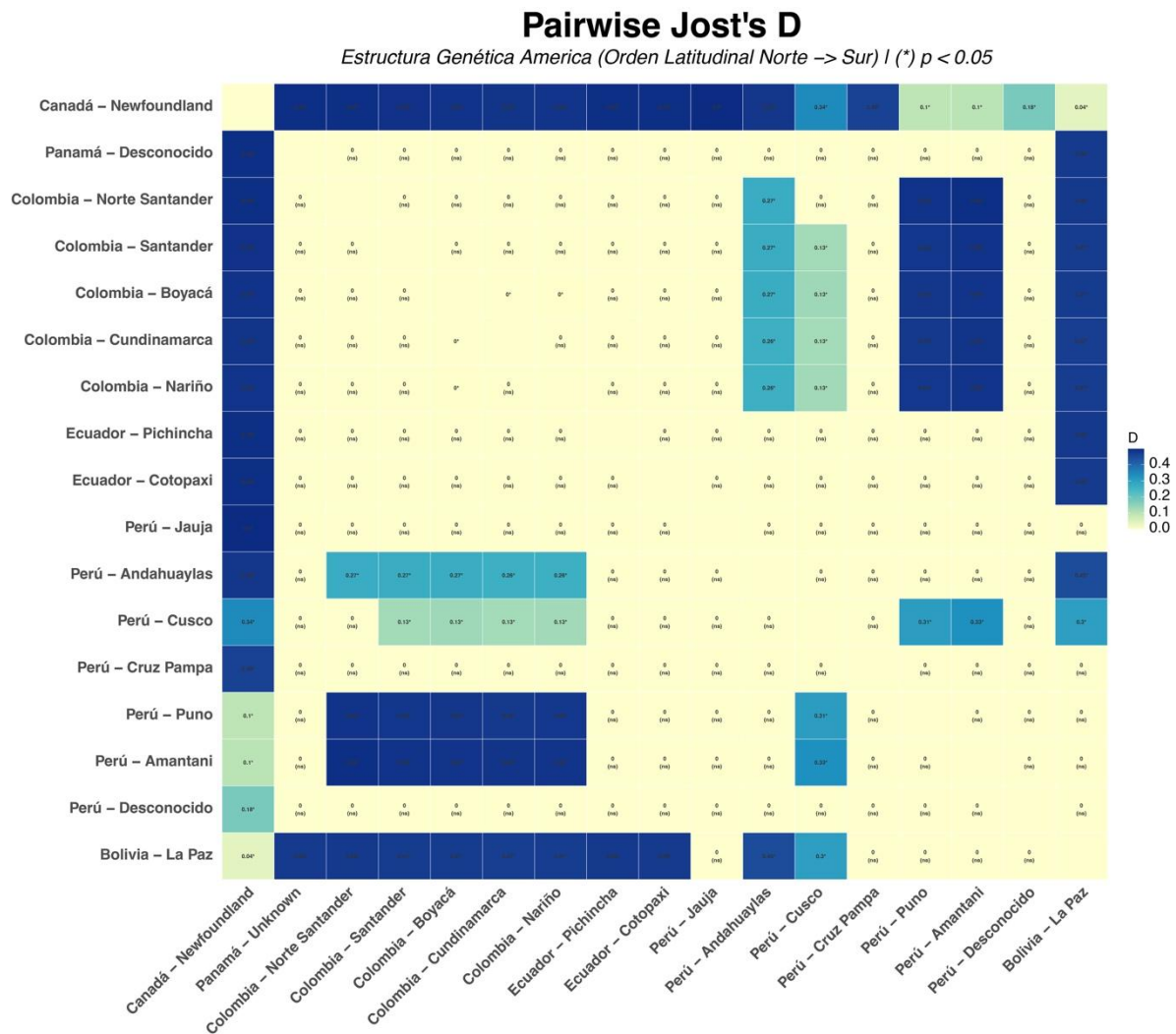
5.5.1 Diferenciación Genética Pareada a lo largo del Gradiente Latitudinal

El análisis de diferenciación genética pareada mostró un alto grado de estructuración espacial, arrojando valores estadísticamente significativos ($p < 0.05$) en la mayor proporción de las comparaciones interpoblacionales (**Figura 11**). Los mapas de calor, estructurados en un ordenamiento latitudinal estricto desde Norteamérica (Canadá) hasta el límite sur de la distribución andina (Bolivia), proyectaron la formación de bloques discretos de similitud genética. Las estimaciones más bajas para ambos índices se registraron de manera consistente en las comparaciones entre localidades geográficamente contiguas, particularmente a nivel intra-departamental en Colombia (ej. entre Boyacá y Cundinamarca) y entre las localidades del sur de Perú. En marcado contraste, se reportaron valores de diferenciación altos ($D_{est} > 0.8$ y $\Phi_{ST} > 0.9$) al comparar la población de Canadá contra la totalidad de las poblaciones sudamericanas y centroamericanas. Patrones equiparables de alta divergencia se replicaron al contrastar el bloque de los Andes Septentrionales (Colombia y Ecuador) frente a las localidades ubicadas al sur de la Depresión de Huancabamba (centro y sur de Perú, y Bolivia). El agrupamiento empírico de este análisis corresponde a cinco macro-bloques demográficos con estricta cohesión geográfica: 1) Población Introducida (Norteamérica), 2) Bloque Norte (Centroamérica, Colombia, Ecuador y norte de Perú), 3) Andes Centrales (centro y sur de Perú), 4) Región Apurímac (considerada de forma independiente por su aislamiento topográfico en el cañón del Apurímac), y 5) Altiplano Sur (Puno y Bolivia).

Figura 11

Mapas de calor (heatmaps) latitudinales de la diferenciación genética pareada entre las poblaciones americanas de *Globodera pallida*





Nota: Los gráficos representan las estimaciones de diferenciación basadas en (A) distancias mutacionales análogas al índice de fijación (Φ_{ST}) y (B) la medida absoluta de divergencia de linajes de Jost (Dest). Las matrices ordenan las localidades de manera estricta en un gradiente geográfico de Norte a Sur (desde Canadá hasta Bolivia). La intensidad de las escalas de colores cálidos (hacia el rojo/púrpura) es proporcional a la magnitud de la diferenciación genética empírica calculada entre los pares de poblaciones. La notación “(ns)” sobre las celdillas indica comparaciones que no mostraron diferencias estadísticamente significativas tras 1,000 permutaciones aleatorias ($p > 0.05$); las celdillas sin esta notación corresponden a pares poblacionales significativamente diferenciados ($p < 0.05$).

5.5.2 Selección del Modelo Evolutivo (AMOVA) y Proyección Espacial

Los resultados comparativos de la competencia de modelos espaciales se detallan en la tabla 6.

Tabla 6

Competencia de modelos evolutivos de estructuración espacial evaluados mediante Análisis de Varianza Molecular Jerárquico (AMOVA).

Modelo	Grupos (K)	% Var. Entre Clústeres	% Var. Entre Deptos (Intra-Clúster)	% Var. Intra-Deptos	Φ CT	P-valor (CT)	Φ SC	P-valor (SC)	Φ ST	P-valor (ST)
Modelo D: Algorítmico Puro (DAPC)	14	98.09	—	1.91	0.9809	< 0.001	—	—	0.9809	< 0.001
Modelo A: Demográfico (5 Bloques)	5	77.14	7.51	15.35	0.7714	< 0.001	0.3283	0.003	0.8465	< 0.001
Modelo B: Biogeográfico	7	74.84	8.75	16.41	0.7484	< 0.001	0.3476	< 0.001	0.8359	< 0.001
Modelo C: Geopolítico (Países)	6	61.17	20.77	18.06	0.6117	< 0.001	0.535	0.003	0.8194	< 0.001

Nota: Φ CT= Diferenciación entre grupos (clústeres); Φ SC= Diferenciación entre poblaciones (departamentos) dentro de los grupos; Φ ST= Diferenciación total. En el Modelo D, debido a la alta homogeneidad de los clústeres algorítmicos que colapsan la jerarquía geográfica, se reporta la varianza mediante un AMOVA simple de un solo nivel (Clúster vs. Individuo). Los modelos alternativos se ordenan de mayor a menor ajuste basado en la proporción de varianza genética retenida entre macro-grupos (Φ CT). El valor P empírico fue calculado mediante 1,000 permutaciones espaciales aleatorias.

El Modelo C, fundamentado en las fronteras geopolíticas, retuvo la menor proporción de varianza entre grupos (Φ CT= 0.611, $p < 0.001$). Por su parte, el Modelo B, basado en los dominios biogeográficos y la orogenia andina, explicó el 74.84% de la varianza genética total (Φ CT= 0.748, $p < 0.001$). El Modelo D, estructurado a partir del agrupamiento algorítmico (*K-means*), retuvo la

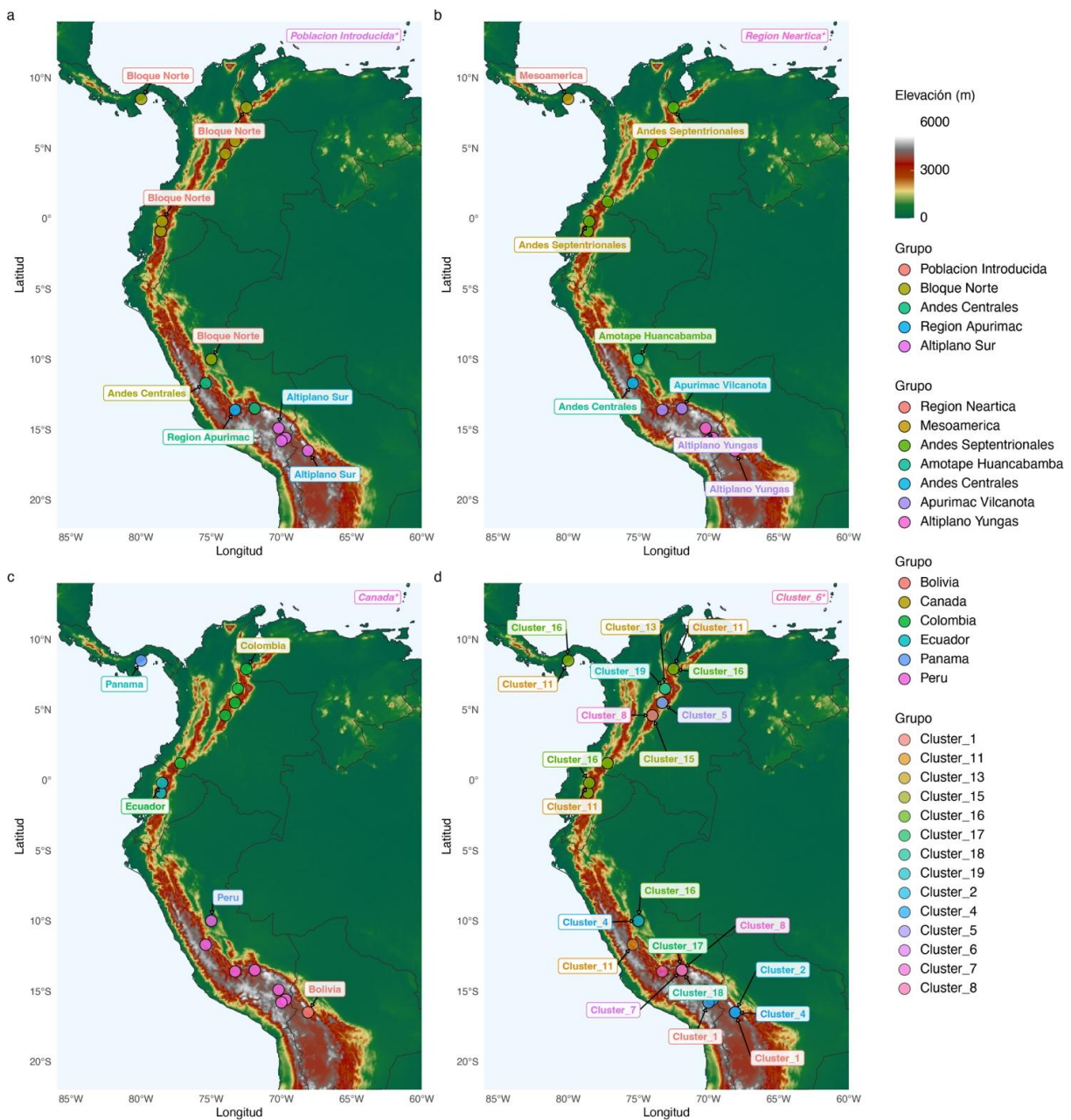
mayor proporción de varianza genética (98.09%; Φ_{CT} = 0.980, $p = 0.001$). No obstante, los clústeres resultantes carecieron de contigüidad geográfica; por ejemplo, el Clúster 4 agrupó la localidad de Canadá con Bolivia, mientras que el Clúster 5 incluyó simultáneamente poblaciones de Colombia, Ecuador, Panamá y el centro de Perú. El Modelo A, estructurado espacialmente en cinco bloques demográficos locales (Población Introducida, Bloque Norte, Altiplano Sur, Andes Centrales y Región Apurímac), explicó el 77.14% de la varianza (Φ_{CT} = 0.771, $p < 0.001$).

La proyección espacial de estas agrupaciones sobre la topografía continental (**Figura 12**) corroboró los contrastes geográficos entre las hipótesis evaluadas. El Modelo A evidenció la estructuración espacial de mayor coherencia biológica (**Figura 12a**), delimitando claramente los cinco macro-bloques con estricta cohesión territorial y aislando a la región de Apurímac como un clado local de alto endemismo. Por el contrario, la visualización del Modelo D (**Figura 12d**) evidenció de forma gráfica la extrema dispersión espacial de sus agrupaciones algorítmicas, uniendo linajes transcontinentales sin continuidad física.

Figura 12

*Proyección espacial y topográfica de los modelos de estructuración poblacional evaluados en *Globodera pallida**

Topografía y estructuración genético-espacial de *Globodera pallida*
 Contraste de hipótesis evolutivas frente al límite máximo de varianza teórica



Nota: Los mapas ilustran la distribución geográfica de las agrupaciones validadas por (a) el Modelo Demográfico-Espacial A, (b) el Modelo Biogeográfico B, (c) el Modelo Geopolítico C, y (d) el Modelo Algorítmico D (*K-means*). Los polígonos y puntos codifican la pertenencia poblacional a cada macro-grupo delineado en el AMOVA. (*) La localidad geográfica de Canadá no se muestra a escala espacial para preservar la resolución

topográfica de la cordillera de los Andes, pero su asignación se indica en la etiqueta superior derecha de cada panel.

Al maximizar la varianza retenida manteniendo la congruencia topográfica, el Modelo A fue seleccionado empíricamente como el marco de estructuración espacial. En consecuencia, las cinco agrupaciones definidas por este modelo fueron designadas como los grupos genéticos.

5.5.3. Diversidad Genética y Dinámica Demográfica

Las estimaciones de diversidad genética e inferencia demográfica para las cinco agrupaciones derivadas del modelo de estructuración espacial (Modelo A), se resumen en la

Tabla 7.

Tabla 7

Estimadores de diversidad genética e inferencia demográfica para las cinco Unidades Evolutivas Independientes (ESUs) de Globodera pallida en las Américas.

ESU	N	S	Hd	π	D de Tajima	p-valor	R ² de Ramos	p-valor	τ	r (Harpending)	Expansión (años)
1. Población Introducida	9	3	0.5833	0.00151	-1.513	0.130	0.1571	0.352	0.667	0.1806	NA
2. Bloque Norte	98	49	0.6072	0.00607	-2.284	0.022*	0.0707	0.286	2.676	0.0815	~42,146
3. Altiplano Sur	18	55	0.7647	0.03781	0.176	0.860	0.1466	0.617	16.673	0.2048	NA
4. Región Apurímac	4	27	0.8333	0.03288	-0.159	0.873	0.2391	0.541	14.500	0.5000	NA
5. Andes Centrales	21	84	0.9190	0.06330	0.792	0.428	0.1362	0.410	19.667	0.0435	NA

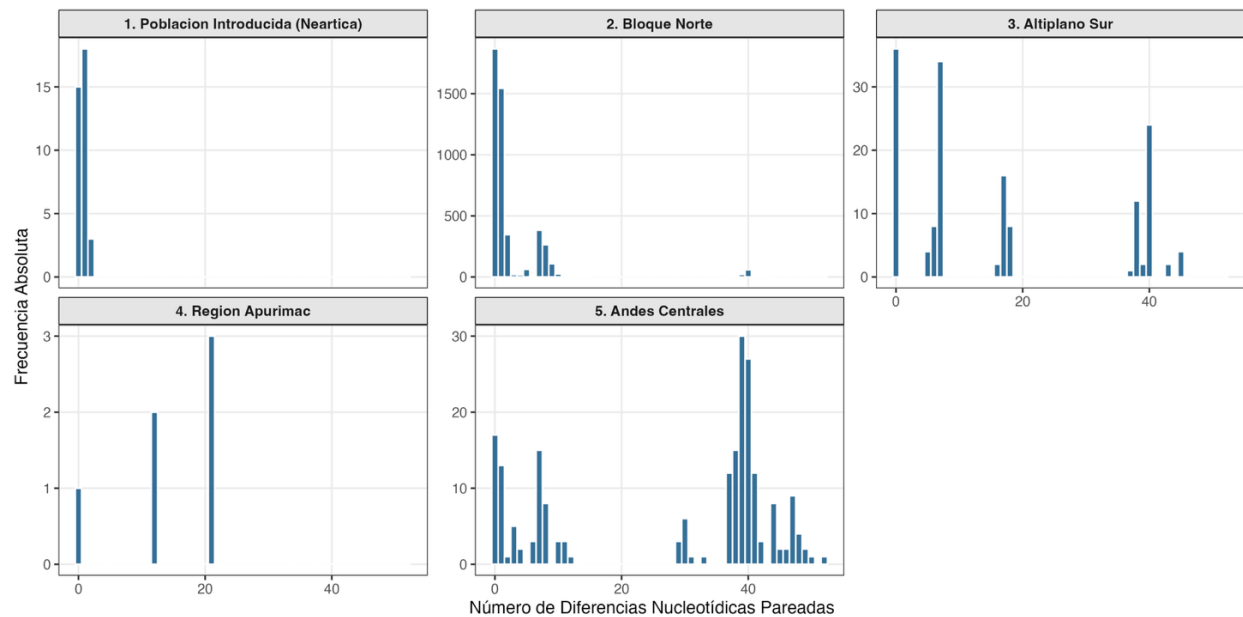
Nota: Se reportan el tamaño muestral (N), el número de sitios segregantes (S), la diversidad haplotípica (Hd) y la diversidad nucleotídica (π). Las desviaciones de la neutralidad se evaluaron mediante el estadístico D de Tajima y el índice R² de Ramos-Onsins y Rozas (* p<0.05). Los parámetros derivados del Análisis de Distribución de Diferencias Pareadas (MDA) incluyen el tiempo mutacional relativo de expansión (τ), el índice de rugosidad de Harpending (r) y el tiempo absoluto de expansión (estimado asumiendo $\mu=7.2 \times 10^{-8}$ y 441 pb). El cálculo de Expansión (años) se reporta exclusivamente para aquellos linajes

con topologías unimodales compatibles con modelos de crecimiento súbito reciente (NA= No Aplica para poblaciones en equilibrio estacionario y fuertemente estructuradas).

Los niveles de polimorfismo variaron entre las agrupaciones a lo largo del gradiente latitudinal. La población de los Andes Centrales presentó los valores más altos de diversidad nucleotídica ($\pi=0.06330$) y diversidad haplotípica ($Hd=0.9190$), concentrando el mayor número de sitios segregantes del estudio ($S=84$) con un tamaño muestral de $N=21$. Las agrupaciones del Altiplano Sur y la Región Apurímac también registraron valores de diversidad nucleotídica altos ($\pi=0.03781$ y $\pi=0.03288$, respectivamente). Por el contrario, el Bloque Norte presentó una diversidad genómica en un orden de magnitud inferior ($\pi=0.00607$), a pesar de ser el grupo con el mayor esfuerzo de muestreo ($N=98$). Los niveles más bajos de polimorfismo se observaron en la Población Introducida Neártica ($\pi=0.00151$). En cuanto a las pruebas empíricas de neutralidad, únicamente el Bloque Norte mostró una desviación estadísticamente significativa del modelo de equilibrio mutación-deriva. Esta agrupación registró un valor negativo en el estadístico D de Tajima ($D=-2.284$, $p=0.022$), lo cual es indicativo de un proceso de expansión demográfica reciente. Las demás agrupaciones no arrojaron valores estadísticamente significativos para estas pruebas ($p>0.05$ en todos los casos), sugiriendo una estabilidad demográfica relativa en el tiempo. El Análisis de Distribución de Diferencias Pareadas (MDA) reveló diferencias topológicas entre las agrupaciones (**Figura 13**).

Figura 13

Análisis de Distribución de Diferencias Pareadas (MDA) para las Unidades Evolutivas Independientes de Globodera pallida basadas en el Modelo Espacial de 5 Bloques.



Nota: Los histogramas ilustran la frecuencia absoluta (eje Y) del número de diferencias nucleotídicas (eje X) observadas entre los pares de secuencias dentro de cada ESU. La línea de fondo refleja el umbral de ajuste.

El Bloque Norte exhibió una distribución unimodal truncada, con la mayor proporción de las comparaciones acumuladas entre cero y dos diferencias nucleotídicas. El parámetro mutacional relativo estimado bajo el modelo de expansión para esta unidad fue de $\tau=2.676$, lo que corresponde a un tiempo absoluto de expansión poblacional de aproximadamente 42,146 años. La Población Introducida también presentó una curva unimodal desplazada hacia el cero ($\tau=0.667$). En contraste, los linajes nativos de los Andes Centrales, el Altiplano Sur y la Región Apurímac mostraron distribuciones amplias, irregulares y multimodales, con diferencias pareadas que alcanzaron hasta las 40 sustituciones en algunas comparaciones. Estas topologías son características de poblaciones en equilibrio demográfico estacionario. En consecuencia, el modelo de expansión súbita no convergió para estas tres unidades andinas. El índice de rugosidad de Harpending (r) para estos grupos osciló entre 0.0435 y 0.5000 (**Tabla 7**).

5.5.4. Inferencia Coalescente y Dinámica de Colonización

Para dilucidar el mecanismo evolutivo detrás de la expansión de *Globodera pallida* hacia los Andes Septentrionales y Mesoamérica (Bloque Norte), se evaluaron tres topologías demográficas competitivas basadas en el Espectro de Frecuencias de Sitios (SFS) conjunto. El análisis se fundamentó en 93 individuos distribuidos en las cuatro unidades poblacionales definidas para la competencia de modelos: Perú Fuente (n=16), Clúster 16 (n=22), Locales (n=27) y Clúster 11 (n=28). Tras el proceso de pre-visualización y filtrado mediante *easySFS* para maximizar el número de sitios polimórficos y corregir datos faltantes, se aplicó una proyección descendente (*down-projection*) de 32 haploides para la población fuente de Perú y de 44, 54 y 56 haploides para las poblaciones colombianas, respectivamente. Esta estrategia de proyección permitió retener un total de 2,482 sitios segregantes (SNPs) para la construcción de los espectros de frecuencia plegados. La selección de modelos basada en el Criterio de Información de Akaike (AIC) demostró que el escenario de un único evento fundador masivo (Modelo 1) presentó el ajuste estadístico superior ($\Delta AIC=0.00$; Diferencia de Verosimilitud = 10.494). Las topologías alternativas que modelaban múltiples invasiones independientes desde el centro de origen (Modelo 2 de dos eventos y Modelo 3 de tres eventos) exhibieron un ajuste significativamente inferior al ser penalizadas por su mayor grado de parametrización (k=13 y k=14, respectivamente), por lo cual fueron estadísticamente rechazadas (**Tabla 8**).

Tabla 8

*Estadísticos de selección de modelos e inferencia de parámetros demográficos para la colonización de *Globodera pallida* en el norte de Sudamérica y Mesoamérica.*

Modelo Evolutivo	k	Max Est Lhood	Δ Verosimilitud	Δ AIC	Tdiv (gen)	Tsplit (gen)	NANC global	NANC derivado	Nbot	Ne Contemporáneos (Perú ; Loc ; C16 ; C11)
Modelo 1 (Ganador)	11	-51.592	10.494	0	7,637	7,065 ; 5,756	44,727	38,877	3,726	232 ; 44,897 ; 43,772 ; 238
Modelo 2	13	-51.564	10.466	3.87	10,849	11,480 ; 5,467	41,082	412	476	205 ; 48,070 ; 43,704 ; 881
Modelo 3	14	-51.734	10.636	6.65	6,407	8,594 ; NA	44,773	NA	968 ; 362 ; 2,089	285 ; 44,549 ; 40,616 ; 456

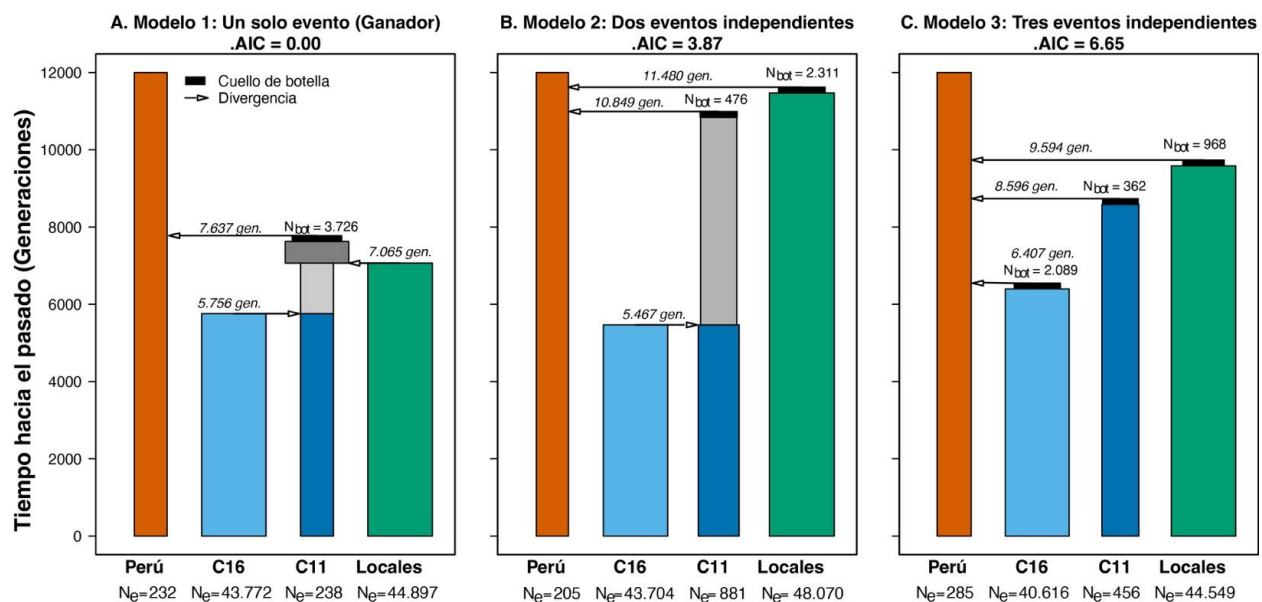
Nota: La tabla resume el marco de competencia de modelos demográficos analizados mediante *fastsimcoal2*. Se reportan los siguientes estadísticos: k, número de parámetros libres estimados; MaxEstLhood, log-verosimilitud máxima estimada por el modelo tras 100 réplicas independientes; Δ Verosimilitud, diferencia absoluta entre la verosimilitud máxima observada teórica (MaxObsLhood=-41.098) y la estimada (MaxObsLhood-MaxEstLhood); y Δ AIC, diferencia en el Criterio de Información de Akaike penalizado por la complejidad del modelo, donde el valor de 0.00 identifica la topología con mejor ajuste estadístico. Los parámetros demográficos incluyen: Tdiv, tiempo de divergencia inicial desde la población ancestral peruana (en generaciones hacia el pasado); Tsplit, tiempos de subdivisiones internas en el clado invasor; NANC global, tamaño efectivo del ancestro común pre-divergencia; NANC derivado, tamaño efectivo post-cuello de botella; y Nbot, intensidad de la restricción fundacional (fijada estrictamente en 10 generaciones de duración para asegurar la identificabilidad del modelo). Los tamaños efectivos poblacionales contemporáneos (Ne) se listan para las cuatro unidades analizadas siguiendo el orden: Perú; Locales; C16; C11. Todas las estimaciones se basan en un SFS construido a partir de 2,482 SNPs segregantes y asumiendo una tasa de mutación de 7.2×10^{-8} . El modelo ganador se resalta en negrita.

Bajo la topología del modelo seleccionado (**Figura 14A**), la colonización del bloque norte se explica por una única divergencia a partir de la macropoblación ancestral peruana ocurrida hace aproximadamente 7,637 generaciones. Este proceso estuvo caracterizado por una severa restricción fundacional (cuello de botella) que redujo el tamaño efectivo de la población invasora de un contingente ancestral de NANC=44,727 a un tamaño de fundadores de Nbot =3,726 individuos, lo que representa una reducción poblacional mayor al 91%. Tras superar este filtro

demográfico de 10 generaciones de duración, el modelo infiere un restablecimiento poblacional súbito (NANC derivado = 38,877) que precedió la rápida diversificación secuencial de los linajes derivados colombianos y mesoamericanos en el pasado reciente (**Tabla 8**).

Figura 14

Representación esquemática de los escenarios demográficos competitivos e historia de colonización de Globodera pallida



Nota: Los diagramas ilustran las tres topologías evolutivas puestas a prueba mediante inferencia coalescente para explicar la dispersión desde los Andes centrales (Perú) hacia el bloque norte (Andes Septentrionales y Mesoamérica): (A) Modelo 1, escenario de un único evento fundador masivo seguido de diversificación local ($\Delta AIC=0.00$); (B) Modelo 2, escenario de dos eventos de dispersión independientes ($\Delta AIC=3.87$); y (C) Modelo 3, escenario de tres introducciones asincrónicas ($\Delta AIC=6.65$). El eje vertical representa el tiempo en generaciones hacia el pasado. El ancho de los bloques poblacionales es proporcional al logaritmo base 10 del tamaño efectivo estimado ($\log_{10} N_e$) para facilitar la visualización de las diferencias de magnitud demográfica. El esquema de colores sigue

la paleta de Wong para asegurar la accesibilidad visual: Perú (Naranja), C16 (Azul claro), C11 (Azul oscuro) y Locales (Verde). Las flechas horizontales indican eventos de divergencia o mezcla poblacional, mientras que los bloques horizontales de color negro representan las restricciones fundacionales (Nbot) estimadas. Las etiquetas de texto detallan los tiempos de los eventos históricos en generaciones (gen) y la intensidad de los cuellos de botella para cada modelo.

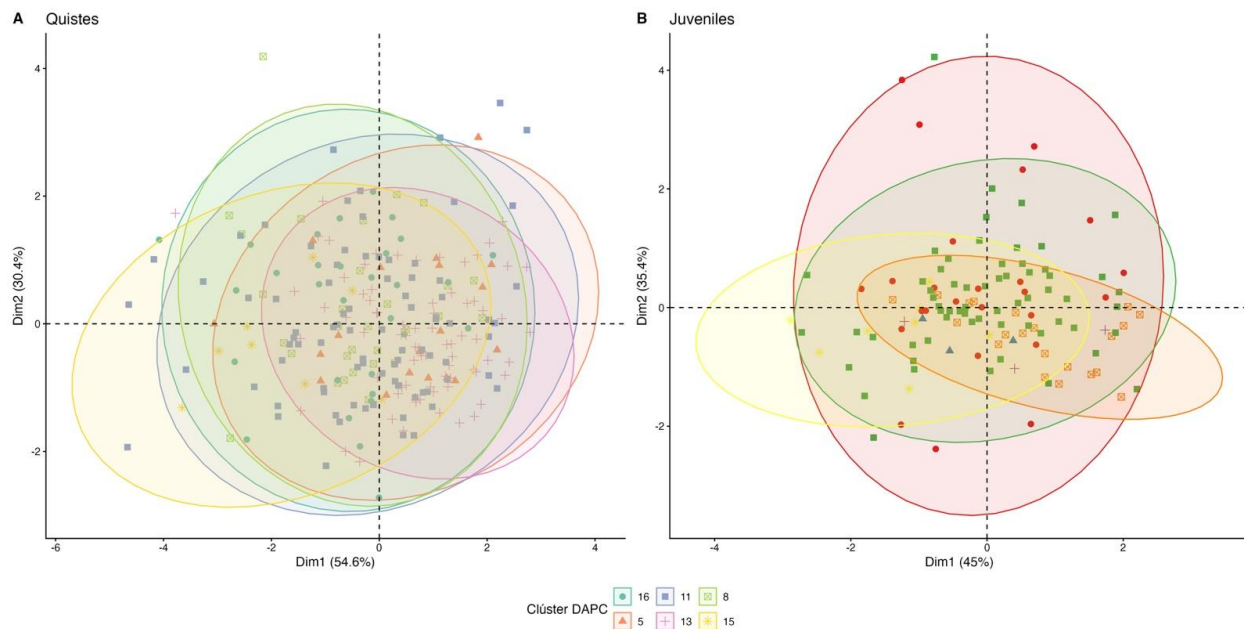
5.6 Integración de datos genotipo-fenotipo

5.6.1. Morfometría de *G. pallida* y diferenciación entre linajes

El Análisis de Componentes Principales (PCA) mostró la distribución de la varianza morfométrica en relación con los clústeres genéticos definidos mediante el DAPC. En los estadios de quiste (**Figura 15A**) y juvenil (**Figura 15B**), se registró un solapamiento de los elipsoides de confianza al 95% entre los diferentes grupos genéticos.

Figura 15.

Análisis de Componentes Principales (PCA) de la variación morfométrica en poblaciones de Globodera pallida agrupadas por linajes genéticos (DAPC).



Nota: (A) Proyección de los caracteres de quistes en los dos primeros componentes principales. (B) Proyección de los caracteres de juveniles (J2) en los dos primeros componentes principales. Los puntos representan individuos y los elipsoides de color corresponden al 95% de confianza para cada clúster genético identificado.

Para el caso de los quistes, el Análisis Multivariado de Varianza (MANOVA) detectó diferencias en la morfología global entre los clústeres genéticos (Traza de Pillai = 0,347; $F(20,976) = 4,63$; $p < 0,001$). El análisis permutacional (PERMANOVA) indicó que el linaje genético explica el 11,7% de la variación morfométrica observada en este estadio ($R^2 = 0,117$; $F = 6,48$; $p = 0,001$). En los juveniles (J2), el MANOVA reportó una segregación morfológica entre los linajes genéticos (Traza de Pillai = 0,323; $F(15,351) = 2,82$; $p = 0,0003$). Los resultados del PERMANOVA determinaron que la estructura genética explica el 12,3% de la varianza fenotípica total para este estadio ($R^2 = 0,123$; $F = 3,29$; $p = 0,001$) (**Tabla 9**).

Tabla 9

Resumen de las pruebas estadísticas multivariadas y de correlación de matrices para la integración de datos genéticos, geográficos y morfométricos en Globodera pallida.

Análisis	Estadio / Nivel	Estadístico (R² / r)	p-valor
PERMANOVA (Genotipo-Fenotipo)	Quistes	11,7	<0.001
PERMANOVA (Genotipo-Fenotipo)	Juveniles	12,3	0.001
Mantel IBD (Genética vs Geográfica)	Global	0.092	0.274
Mantel Inter-clúster (Genética vs Morfología)	Entre clústeres	-0.041	0.327

5.6.2. Relación entre diversidad genética, geográfica y morfométrica

La prueba de Mantel para evaluar el patrón de Aislamiento por Distancia (IBD) no mostró una correlación significativa entre la matriz de distancias genéticas y la matriz de distancias geográficas ($r=0,092$; $p=0,274$) (**Tabla 9**).

De igual manera, la prueba de Mantel entre los clúster para evaluar la congruencia entre genotipo y fenotipo no detectó una relación significativa entre la matriz de distancias genéticas promedio (K80) y la matriz de distancias morfológicas obtenida de los centroides de cada clúster ($r=-0,041$; $p=0,327$) (**Tabla 9**).

6. Discusión.

En este estudio se actualizó el estatus fitosanitario de los nematodos quiste de la papa (*Globodera* spp.) en la región central y nororiental de Colombia. *Globodera pallida* fue reportada inicialmente en los departamentos de Santander y Norte de Santander con densidades bajas (0,95 y 0,98 quistes/100 g de suelo, respectivamente (Vallejo et al., 2021). En contraste, los resultados obtenidos evidencian un incremento en la densidad promedio, alcanzando 7,55 quistes/100 g en Santander y 43,9 quistes/100 g en Norte de Santander. Este aumento puede atribuirse, a la ausencia de medidas de control desde 2004, cuando la especie fue retirada de la lista oficial de vigilancia fitosanitaria en Colombia. Adicionalmente, la detección de *G. rostochiensis* en ambos departamentos sugiere una expansión posterior a su primer registro en Cundinamarca (Holguín et al., 2023), lo que agrava el panorama fitosanitario del cultivo de la papa en la región centro-oriente del país.

Las mediciones morfométricas y las observaciones morfológicas de quistes y juveniles realizadas en este estudio concuerdan con las descripciones diagnósticas establecidas por EPPO (2022) para *G. pallida* y *G. rostochiensis*, y fueron confirmadas mediante herramientas moleculares. En Colombia, estudios previos han caracterizado la morfometría de *G. pallida* en tres departamentos (Cundinamarca, Boyacá y Norte de Santander), reportando valores promedio de $25,2 \pm 1,3 \mu\text{m}$ para la longitud del estilete y $30,2 \pm 3,2 \mu\text{m}$ para la longitud de la cola hialina, a partir de un total de 83 juveniles y 175 quistes (Romero et al., 2025).

El presente trabajo amplió la cobertura geográfica a cuatro departamentos (Cundinamarca, Boyacá, Santander y Norte de Santander) y duplicó el tamaño muestral (167 juveniles y 265 quistes), obteniendo valores comparables para la longitud del estilete ($27,3 \pm 3,04 \mu\text{m}$) y la

longitud de la cola hialina ($28,04 \pm 4,62 \mu\text{m}$). Este incremento en el tamaño de muestra fortalece la robustez estadística de las estimaciones morfométricas disponibles para *G. pallida* en Colombia.

Los genes mitocondriales COI y CytB demostraron ser útiles para la diferenciación interespecífica dentro del género *Globodera*, aunque difirieron en su resolución a nivel poblacional. El gen COI permitió resolver las relaciones filogenéticas del género *Globodera* e identificar con alta resolución las especies del género presentes en la zona de estudio (*G. pallida* y *G. rostochiensis*). El gen CytB mostró una mayor capacidad discriminatoria, reveló para la especie *G. pallida* 12 haplotipos en Colombia y 32 a nivel mundial, agrupando las secuencias colombianas dentro del grupo *G. pallida* Tipo B, que incluye poblaciones de Sur y Centroamérica y se asocia geográficamente con el centro y norte de Perú (Subbotin et al., 2020). Resultados similares fueron obtenidos por Romero et al. (2025), quienes también encontraron una alta diversidad haplotípica en Colombia en comparación con poblaciones de Norteamérica, Europa y Asia. Esta elevada variabilidad intraespecífica respalda la hipótesis de que *G. pallida* posee una notable plasticidad evolutiva, facilitando su adaptación a diversos ambientes y condiciones climáticas (Llumiquinga et al., 2025).

Aunque se identificaron diferencias estadísticamente significativas en la longitud corporal de los juveniles y en la longitud de la fenestra de los quistes, estas variaciones no se correlacionaron con la diversidad genética inferida a partir de los marcadores mitocondriales COI y CytB. No obstante, el Análisis de Componentes Principales (PCA) evidenció un solapamiento de las elipsoides de los grupos genéticos reflejando la ausencia de una estructuración morfológica definida, las pruebas de Mantel para comprobar aislamiento por distancia y congruencia entre fenotipo y genotipo no se correlacionaron significativamente. En este contexto, las variaciones morfológicas observadas a escala local se interpretan como expresiones de plasticidad fenotípica

asociadas a condiciones específicas del suelo, manejo agronómico o ambiente edáfico, y no como indicadores de divergencia evolutiva.

6.1 Estabilidad demográfica en el centro de origen

Los análisis de este estudio confirman empíricamente a la región de los Andes Centrales (sur de Perú y la cuenca del Altiplano) como el centro de diversificación primario de *G. pallida*, coincidiendo con las inferencias de estudios filogeográficos recientes (Thevenoux et al., 2020; Romero et al., 2025). Este patrón está respaldado por los niveles máximos de diversidad nucleotídica ($\pi=0.0633$) y la topología multimodal en la distribución de diferencias pareadas (MDA). La ausencia de firmas de expansión indica que estas poblaciones han mantenido tamaños efectivos grandes y estables a lo largo del tiempo. Este equilibrio estacionario es congruente con la historia evolutiva de su hospedero, dado que los Andes Centrales constituyen el centro primario de domesticación de *Solanum tuberosum* y albergan una alta riqueza de especies de papas silvestres (Berdugo-Cely et al., 2017). La coexistencia ininterrumpida a largo plazo entre el nematodo y esta amplia diversidad de genotipos ha promovido el mantenimiento de la variabilidad genética del parásito mediante dinámicas de coevolución.

En este estudio, la aproximación multivariada libre de supuestos poblacionales (DAPC) detectó un número elevado de clústeres genéticos óptimos ($K=20$) caracterizados por una alta mezcla transnacional. Este modelo algorítmico (Modelo D) agrupó secuencias separadas por grandes distancias latitudinales, uniendo linajes introducidos en Norteamérica con poblaciones nativas del Altiplano andino, o mezclando individuos de Colombia, Ecuador y el centro de Perú en clústeres únicos. Aunque el DAPC maximiza la retención de la varianza genética total mediante la agrupación de haplotipos similares, la topología resultante carece de viabilidad demográfica

contemporánea al asumir panmixia entre individuos que no comparten flujo genético actual ni simpatria ecológica. En patógenos agrícolas como *G. pallida*, esta alta reticulación algorítmica refleja la ascendencia compartida producto del movimiento histórico o reciente de tubérculos-semilla infectados a través de las fronteras, más que la existencia de poblaciones biológicamente cohesivas. Esta discrepancia metodológica resalta la necesidad de integrar pruebas de hipótesis espaciales en la delimitación de los grupos genéticos. La competencia de modelos evolutivos mediante AMOVA jerárquico demostró que la estructuración en cinco macro-bloques geográficos (Modelo A) logra explicar una alta y significativa proporción de la varianza genética ($\Phi_{CT}=0.771$) manteniendo una estricta congruencia con la orogenia andina. A diferencia del agrupamiento del DAPC, el Modelo A respeta el aislamiento por distancia y las barreras topográficas que modulan el flujo génico natural. La selección de este modelo geográfico permitió que las inferencias coalescentes y demográficas subsiguientes (estimaciones de expansiones y tamaños efectivos poblacionales) se ejecutaran sobre linajes espacialmente continuos, evitando los severos sesgos matemáticos que surgen al modelar dinámicas poblacionales sobre grupos transcontinentales artificialmente agregados.

6.2 Un único evento fundador hacia Colombia: El filtro de Huancabamba

El aporte central de este estudio es la resolución del mecanismo de dispersión de *G. pallida* hacia Colombia y el norte del continente. Estudios previos en Colombia (Vallejo et al., 2021) y Ecuador (Llumiquinga et al., 2025) habían documentado la presencia de linajes genéticamente relacionados con el norte de Perú, mientras que otros estudios sugieren que las poblaciones colombianas se asemejan genéticamente a las del sur de Perú (Romero et al., 2025) y sugieren múltiples eventos de introducción desde diferentes fuentes o frecuente intercambio genético entre

las poblaciones suramericanas (Picard et al., 2007; Subbotin et al., 2020; Romero et al., 2025), pero el modelo poblacional de invasión permanecía inexplorado. Los resultados de *fastsimcoal2* ($\Delta AIC=0.00$) indican que la amplia distribución de la especie en Colombia, Ecuador y Centroamérica se deriva de una sola divergencia ancestral, descartando la hipótesis de introducciones múltiples o flujos genéticos independientes desde el sur. Este modelo ganador infiere un cuello de botella que redujo el tamaño poblacional efectivo en más del 91% respecto al ancestro peruano. Esta reducción genómica, reflejada en la baja diversidad nucleotídica actual del Bloque Norte ($\pi=0.0060$), es consistente con el cruce de una barrera geográfica mayor. La colonización de los Andes Septentrionales desde Perú requiere sortear la Depresión de Huancabamba, la barrera topográfica y ecológica más importante de la cordillera andina, reconocida por forzar eventos de vicarianza y severos cuellos de botella en la biota endémica de alta montaña (Mutke et al., 2014; Hazzi et al., 2018). Este filtro geográfico habría restringido el paso a un número muy reducido de linajes de *G. pallida*, configurando el efecto fundador observado en las poblaciones colombianas.

6.3 Dinámica de expansión y temporalidad en los Andes Septentrionales

Tras superar el cuello de botella inicial, el linaje colonizador experimentó una marcada recuperación poblacional en su avance hacia el norte. Las pruebas de neutralidad (estadístico D de Tajima negativo y significativo) y la topología unimodal del MDA respaldan un proceso de expansión demográfica, resultados similares han sido reportados en modelos de expansión del área de distribución con heterogeneidad espacial (Wegmann et al., 2006) y en ciclos de expansión en peces (García-Martínez et al., 2015). El éxito del nematodo en Colombia se explica mediante un "efecto de cabeza de puente" (*bridgehead effect*), un fenómeno donde una sola población

fundadora, tras superar los filtros iniciales y adaptarse, coloniza rápidamente un territorio extenso y puede actuar como una fuente secundaria para nuevas invasiones (Lombaert et al., 2010) Sin embargo, mientras que el análisis MDA estimó el tiempo absoluto de expansión en aproximadamente 42,000 años, el modelo coalescente situó la divergencia inicial en $\sim 7,600$ generaciones hacia el pasado. Esta discrepancia temporal es común en estudios basados en un único locus mitocondrial cuando se aplican sobre eventos recientes (Ho et al., 2005). El método MDA utiliza una tasa de mutación a largo plazo que suele sobreestimar el tiempo de eventos demográficos recientes debido al fenómeno de dependencia temporal de las tasas de mutación evolutivas (*time-dependent mutation rates*) y a la estimación del tiempo de expansión a partir de la distribución de diferencias pareadas bajo un modelo de expansión súbita (Rogers & Harpending, 1992). Por el contrario, *fastsimcoal2* estima el tiempo de separación basándose en la varianza del espectro de frecuencias de sitios (SFS), el cual resume la distribución de frecuencias alélicas en la población bajo escenarios evolutivos complejos (Excoffier et al., 2013), ofreciendo una escala temporal relativa en generaciones. Más allá de los valores absolutos —los cuales están sujetos a la estimación del número de generaciones por año de *G. pallida* en ecosistemas andinos—, ambas aproximaciones coinciden en una misma secuencia histórica: la colonización original de los Andes Septentrionales es un evento antiguo que antecede a las redes de comercio colonial. Esto sugiere que la dispersión inicial pudo ser un proceso natural durante el Pleistoceno tardío o mediado por el movimiento temprano de germoplasma durante las primeras etapas de domesticación en Sudamérica. Al establecerse en Colombia, el nematodo habría encontrado una alta disponibilidad de hospedantes, adaptándose a los cultivares andinos locales (grupos Andigenum y Phureja) (Berdugo-Cely et al., 2017).

Aunque los modelos coalescentes de este estudio ofrecen un marco robusto para entender

la historia invasiva de *G. pallida*, este estudio presenta ciertas limitaciones inherentes al uso de un único marcador molecular, ya que las inferencias basadas en un solo locus pueden no reflejar la historia demográfica completa del genoma (Edwards & Beerli, 2000). El gen mitocondrial *Cyt B*, por su naturaleza de herencia uniparental (materna) y ausencia de recombinación, se comporta como un solo locus ligado (Avise, 2000). Aunque esta característica es ideal para rastrear linajes ancestrales y estimar tiempos de divergencia sin el ruido de la recombinación, impide detectar eventos de hibridación, introgresión o flujo genético mediado por machos (Ballard & Whitlock, 2004). Las estimaciones de tamaño efectivo poblacional (N_e) basadas exclusivamente en el genoma mitocondrial reflejan la historia demográfica de los linajes maternos, la cual puede diferir de la historia genómica global debido a la deriva genética estocástica (Birky et al., 1989) o a fenómenos de selección selectiva (*selective sweeps*) en el mitogenoma que pueden distorsionar la inferencia demográfica (Bazin et al., 2006). Por lo tanto, aunque la huella del cuello de botella hacia el Bloque Norte es estadísticamente contundente, la intensidad exacta del mismo y la posibilidad de mezclas secundarias complejas requieren validación futura utilizando marcadores nucleares a escala genómica.

7. Conclusiones

Este trabajo aporta información actualizada sobre el nematodo quiste de la papa, *Globodera pallida*, en Colombia. robusteciendo la información de estudios recientes al aumentar el tamaño de la muestra para mediciones morfométricas pasando de tres a cuatro departamentos e incluyendo secuencias del gen COI y CytB, Sin embargo, los resultados indicaron que la identificación usando herramientas tradicionales (morfológicas y morfométricas) puede ser insuficiente para delimitar poblaciones de nematodo quiste en Colombia, ya que la estabilidad del fenotipo oculta una alta diversidad genética mitocondrial. El solapamiento observado en el PCA indica que la identificación debe priorizar herramientas moleculares como el gen CytB.

Las poblaciones de *Globodera pallida* en Colombia no son el resultado de introducciones agrícolas modernas ni de múltiples eventos de dispersión independientes. Pertenecen a un macrobloque evolutivo (Bloque Norte) originado a partir de un único y antiguo evento fundador desde los Andes Centrales peruanos.

El cruce de barreras biogeográficas mayores, presuntamente la Depresión de Huancabamba, impuso un severo cuello de botella demográfico que redujo la diversidad genómica fundadora en más de un 91%, explicando la homogeneidad genética observada hoy en los campos paperos de Colombia y Ecuador.

A pesar de su reducida diversidad genética original, el linaje fundador experimentó una rápida expansión demográfica in situ (Efecto de cabeza de puente), consolidando a los Andes Septentrionales como una Unidad Evolutiva Independiente y diferenciada del centro de origen primario.

8. Recomendaciones

Al confirmarse que las poblaciones de Colombia y el resto del Bloque Norte poseen una trayectoria evolutiva independiente y un acervo genético derivado de un evento fundador específico, las medidas de cuarentena e inspección no deben subestimar la conectividad regional. La altísima similitud genética entre los departamentos de Colombia sugiere que el movimiento interno de tubérculo-semilla no certificado es el principal riesgo de diseminación de patotipos locales virulentos.

Los programas de mejoramiento de papa en Colombia y Ecuador deben priorizar la evaluación de cultivares (y la introgresión de genes de resistencia como *Gpa2*) frente a las poblaciones locales de *G. pallida*. Dependiendo de perfiles de resistencia validados exclusivamente contra poblaciones europeas (que provienen de eventos de introducción diferentes) podría resultar ineficaz ante la dinámica evolutiva local.

Se recomienda que estudios futuros empleen metodologías de secuenciación de próxima generación (e.g., GBS, ddRADseq o genomas completos) para capturar marcadores nucleares a lo largo del genoma. Esto permitirá no solo confirmar las topologías demográficas aquí descritas, sino también identificar loci bajo selección adaptativa local que le permitieron a este nematodo prosperar en las condiciones agroecológicas de los Andes Septentrionales.

Referencias Bibliográficas

- Arciniegas, N., Caicedo, R., & Arévalo, E. (2012). Nemátodo dorado. *Revista Papa*, 33-36.
- Avise, J. C. (2000). *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard university press.
- Baeza, C. A. (1972). El nemátodo dorado (*Heterodera rostochiensis* Wol) en Colombia. *Segunda reunión de Fitopatología y Sanidad Vegetal*, 20.
- Baldwin, J. G., & Mundo-Ocampo, M. (1991). Heteroderinae, cyst-and non cyst forming nematodes. En W. R. Nickle (Ed.), *Manual of Agricultural Nematology* (pp. 275-362). Marcel Dekker.
- Banks, N. C., Hodda, M., Singh, S. K., & Matveeva, E. M. (2012). Dispersal of potato cyst ne-matodes measured using historical and spatial statistical analyses. *Phytopathology*, 102, 620-626.
- Barriga, R. (1978). Nemátodos fitoparásitos en papa. En *El cultivo de la papa* (pp. 287-304). Instituto Colombiano Agropecuario.
- Berdugo-Cely, J., Valbuena, R. I., Sánchez-Betancourt, E., Stella Barrero, L., and Yockteng, R. (2017). Genetic diversity and association mapping in the Colombian central collection of *Solanum tuberosum* L. Andigenum group using SNPs markers. *PLoS One* 12:e0173039.
- Ballard, J. W. O., & Whitlock, M. C. (2004). The incomplete natural history of mitochondria. *Molecular Ecology*. 13(4):729-44. doi: 10.1046/j.1365-294x.2003.02063.x.
- Bhat, K. A., Mir, R. A., Farooq, A., Manzoor, M., Hami, A., Allie, K. A., et al. (2022). Advances in Nematode Identification: A Journey from Fundamentals to Evolutionary Aspects. *Diversity*, 14(7), 536. <https://doi.org/10.3390/d14070536>

- Bazin, E., Glémin, S., & Galtier, N. (2006). Population size does not influence mitochondrial genetic diversity in animals. *Science*, 28;312(5773):570-2. doi: 10.1126/science.1122033.
- Birky, C. W., Maruyama, T., & Fuerst, P. (1989). An approach to population and evolutionary genetic theory for genes in mitochondria and chloroplasts. *Genetics* DOI:10.1093/genetics/103.3.513
- Boucher, A. C., Mimee, B., Montarry, J., Bardou-Valette, S., Bélair, G., Moffet, P., & Grenier, E. (2013). Genetic diversity of the golden potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* and determination of the origin of populations in Quebec, Canada. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 69, 75-82.
- Brodie, B. B., Evans, K., & Franco, F. (1993). Nematode parasites of potatoes. En *Plant-Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture* (pp. 87-132). CAB International.
- Castillo, P. (2011). Los nemátodos fitopatógenos y la nematología agraria en España: importancia y principales avances científicos. *Phytoma*, 233, 54-57.
- Castresana, J. (2000). Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Molecular Biology and Evolution*, 17(4), 540-552.
- Centro Internacional de la Papa. (2015). *Datos y cifras de la papa – Plagas y enfermedades de la papa*. Consultado en junio de 2021, desde <https://cipotato.org/es/category/lapapa/>
- Chitambo, O. (2018). Genetic diversity of potato cyst nematodes in Kenya. *GenBank Direct Submission*.
- Cid del Prado-Vera, I., Ceron, J. A. M., Orlando, V., Lawson, R., Prior, T., & Subbotin, S. A. (2023). Morphological and molecular characterisation of the Mexican cyst nematode, *Globodera mexicana*. *Russian Journal of Nematology*, 31, 89-99.
- Cid del Prado-Vera, I., Ceron, J. A. M., & Subbotin, S. A. (2025). A new cyst forming

- nematode, *Globodera chizhovi* sp. n., with molecular characterisation of two species of this genus from Mexico. *Russian Journal of Nematology*, 33, 57-72.
- Contina, J. B., Dandurand, L. M., & Knudsen, G. R. (2020). Use of *Globodera pallida* cysts as a delivery system for the biological control agent *Fungus*. *Phytopathology*, 101(2), 379-392.
- Delgado, P., & Piñero, D. (2002). Sistemática filogeográfica y sus aplicaciones a la evolución y conservación de los bosques de coníferas en México. *Acta Universitaria*, 12(2), 3-19.
- Denver, D. R., Morris, K., Lynch, M., Vasilleva, L. L., & Thomas, W. K. (2000). High direct estimate of the mutation rate in the mitochondrial genome of *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 289, 2342-2344.
- Derycke, S., Remerie, T., Vierstraete, A., Backeljau, T., & Vanfleteren, J. (2005). Mitochondrial DNA variation and cryptic speciation within the free living marine nematode *Pellioditis marina*. *Marine Ecology-Progress Series*, 300, 91-103.
- Drummond, A. J., Rambaut, A., Shapiro, B., & Pybus, O. G. (2005). Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 22, 1185-1192.
- Edwards SV, & Beerli P.(2000). Perspective: gene divergence, population divergence, and the variance in coalescence time in phylogeographic studies. *Evolution*. 54(6):1839-54. doi: 10.1111/j.0014-3820.2000.tb01231.x.
- Elling, A. A. (2013). Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. *Phytopathology*, 103, 1092-1102.
- EPPO. (2022). PM 7/40 (5) *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. *EPPO Bulletin*, 52(2), 119-138. <https://doi.org/10.1111/epp.12836>
- Esquibet, M., Mwangi, J. M., Kiewnick, S., et al. (2024). Europe as a secondary

- distribution hub in the worldwide invasion of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Scientific Reports*, *14*, 13915. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-64617-0>
- Eves-van den Akker, S., Laetsch, D. R., Thorpe, P., et al. (2016). The genome of the yellow potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, reveals insights into the basis of parasitism and virulence. *Genome Biology*, *17*(1), 124. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-0985-1>
- Excoffier, L., & Ray, N. (2008). Surfing during population expansions promotes genetic revolutions and structuration. *Trends in Ecology Evolution*, *23*(7), 347-357.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*. (2):479-91. doi: 10.1093/genetics/131.2.479.
- Excoffier L, Marchi N, Marques DA, Matthey-Doret R, Gouy A, Sousa, VC. (2021). fastsimcoal2: demographic inference under complex evolutionary scenarios. *Bioinformatics*. *37*(24):4882-4885. doi: 10.1093/bioinformatics/btab468.
- Fenwick, D. W. (1940). Methods for the recovery and counting of cysts of *Heterodera schachtii* from soil. *Journal of Helminthology*, *18*(4), 155-173.
- Fite, T., Tefera, T., Gofitshu, M., & Damte, T. (2022). Genetic diversity and demographic history of the Old World Bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae), in Ethiopia inferred from mitochondrial gene sequences. *Ecology and Evolution*, *12*(5). <https://doi.org/10.1002/ece3.8907>
- Firke S (2024). janitor: Simple Tools for Examining and Cleaning Dirty Data. R package version 2.2.1.9000, <https://github.com/sfirke/janitor>.

- Flanagan, N. S., Tobler, A., Davison, A., et al. (2004). Historical demography of Mullerian mi-micry in the neotropical Heliconius butterflies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *101*, 9704-9709.
- Flores-Choque, Y., Bravo, R., Lima, I., & Machaca, C. (2017). Prospección de nematodos fitoparásitos en cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) de la Región Puno. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, *19*(1), 11-20.
- Franco, J. (1994). Problemas de nemátodos en la producción de papa en climas templados de la región Andina. *Nematropica*, *24*(2), 179-195.
- Galtier, N., Nabholz, B., Glémin, S., & Hurst, G. D. (2009). The mitochondrial genome of Meta-zoa: evolutionary patterns and their consequences. *Genetics*, *183*(3), 755-774.
- Garcia-Martinez, R.M., Mejia, O., Garcia- De Leon, F.J. & Barriga Sosa, I. (2015). Extreme genetic divergence in the endemic fish *Chirostoma humboldtianum*: implications for its conservation. *Hidrobiologica* *25*(1).
- Guindon S, Dufayard JF, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W, Gascuel O. (2010). New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst Biol*. doi: 10.1093/sysbio/syq010.
- Green, C. D., Greet, D. N., & Jones, F. G. W. (1970). The influence of multiple mating on the reproduction and genetics on *Heterodera rostochiensis* and *H. schachtii*. *Nematologica*, *16*, 309-326.
- Habib, K. A., Akter, S., Islam, M. J., et al. (2023). Genetic Diversity, Population Structure and Demographic History of Orange Mud Crab *Scylla Olivacea* from the Bay of Bengal, Bangladesh and Adjacent Seas. *Journal of Science and Technology Research*, *4*(1), 101-118.
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and

- analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95-98.
- Handayani, N., Esquibet, M., Montarry, J., et al. (2020). Distribution, DNA barcoding and genetic diversity of potato cyst nematodes in Indonesia. *European Journal of Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02078-7>
- Handoo, Z. A., Carta, L. K., Skantar, A. M., & Chitwood, D. J. (2012). Description of *Globodera ellingtonae* n. sp. (Nematoda: Heteroderidae) from Oregon. *Journal of Nematology*, 44, 40-57.
- Harpending, R.C. (1994) Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology*, 66, 591-600.
- Hazzi, N. A., Moreno, J. S., Ortiz-Movliav, C., & Palacio, R. D. (2018). Biogeographic regions and events of isolation and diversification of the endemic biota of the tropical Andes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(31), 7985-7990. <https://doi.org/10.1073/pnas.1803908115>
- Henn, B. M., Cavalli-Sforza, L. L., & Feldman, M. W. (2012). The great human expansion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(44), 17758-17764.
- Hewitt, G. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405, 907-913. <https://doi.org/10.1038/35016000>
- Hey, J., Chung, Y., Sethuraman, A., et al. (2018). Phylogeny Estimation by Integration over Isolation with Migration Models. *Molecular Biology and Evolution*, 35(11), 2805-2818. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy162>
- Ho, S. Y. W. et al. (2005). Time dependency of molecular rate estimates. and systematic overestimation of recent divergence times, *Molecular Biology and Evolution*, 22(7) 1561–1568, <https://doi.org/10.1093/molbev/msi145>

- Ho, S. Y. W., & Shapiro, B. (2011). Skyline-plot methods for estimating demographic history from nucleotide sequences. *Molecular Ecology Resources*, *11*, 423-434.
- Hodda, M. (2022). Phylum Nematoda: a classification, catalogue and index of valid genera. *Zootaxa*, *5114*(1), 1-289.
- Hoang DT, Chernomor O, von Haeseler A, Minh BQ, Vinh LS. (2018). UFBoot2: Improving the Ultrafast Bootstrap Approximation. *Mol Biol Evol.* *35*(2):518-522. doi: 10.1093/molbev/msx281.
- Holguin, C. M., Baeza, J. A., Mueller, J. D., & Agudelo, P. (2015). High genetic diversity and geographic subdivision of three lance nematodes species (*Haplolaimus* spp.) in the United States. *Ecology and Evolution*, *5*(14), 2929-2944.
- Holguin, C. M., Rojas, D. A., Perez, O. Y., & Marchant, S. (2023). First detection of the potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, infecting potato in the central region of Colombia. *Plant Disease*, *107*, 2889.
- Hu, M., Chilton, N., & Gasser, R. (2004). The mitochondrial genomics of parasitic nematodes of socio-economic importance: Recent progress, and implications for population genetics and systematics. *Advances in parasitology*, *56*, 133-212.
- Hugot, J. P., Baujard, P., & Morand, S. (2001). Biodiversity on helminths and nematodes as a field of study: an overview. *Nematology*, *3*(3), 199-208.
- Jones, J. T., Haegeman, A., Geraert, E., et al. (2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, *14*(9), 946-961.
- Jombart T, Devillard S, Balloux F. (2010) Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genet.*;11:94. doi: 10.1186/1471-2156-11-94
- Jombart,T. (2008) adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic

- markers, *Bioinformatics*, Volume 24, Issue 11, 1403–1405, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>
- Jost, L. (2008), GST and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology*, 17: 4015-4026. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03887.x>
- Joy, D. A., Feng, X. R., Mu, J. B., et al. (2003). Early origin and recent expansion of *Plasmodium falciparum*. *Science*, 300, 318-321.
- Kassambara, A. and Mundt, F. (2020) Factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses. R Package Version 1.0.7.
- Katoh K, Misawa K, Kuma K, Miyata T.(2002) MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids* 15;30(14):3059-66. doi: 10.1093/nar/gkf436.
- Koenning, R., & Barker, K. R. (1998). Developing sustainable systems for nematode management. *Annual Review Phytopathology*, 36, 165-205.
- Koenning, R., & Sipes, S. (1998). Biology. En *The Cyst Nematodes*. Springer Science.
- Lemoine F, Correia D, Lefort V, Doppelt-Azeroual O, Mareuil F, Cohen-Boulakia S, Gascuel O. (2019) NGPhylogeny.fr: new generation phylogenetic services for non-specialists. *Nucleic Acids Res.* doi: 10.1093/nar/gkz303.
- 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(3): e9743. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009743>
- Llumiquinga, P., Cobo, R., Gallegos, P., et al. (2025). Prevalence, genetic diversity, molecular phylogeny and phylogeography data of the potato cyst nematode, *Globodera pallida*, associated with potato crops in Ecuador. *European Journal*

- of Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1007/s10658-025-03132-y>
- Madani, M., Subbotin, S. A., Ward, L. J., Li, X., & De Boer, S. H. (2010). Molecular characterization of Canadian populations of potato cyst nematodes, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* using ribosomal nuclear RNA and cytochrome b genes. *Canadian Journal of Plant Pathology*, *32*, 252-263.
- Minh, B. Q., Schmidt, H. A., Chernomor, O., Schrempf, D., Woodhams, M. D., Von Haeseler, A., & Lanfear, R. (2020). IQ-TREE 2: new models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Molecular Biology and Evolution*, *37*(5), 1530-1534.
- Moens, M., Perry, R. N., & Jones, J. T. (2018). Cyst Nematodes—Life Cycle and Economic Importance. En R. N. Perry, M. Moens & J. T. Jones (Eds.), *Cyst Nematodes* (pp. 1-26). CAB International.
- Mutke J, Jacobs R, Meyers K, Henning T and Weigend M (2014) Diversity patterns of selected Andean plant groups correspond to topography and habitat dynamics, not orogeny. *Front. Genet.* 5:351. doi: 10.3389/fgene.2014.00351
- Nicol, J. M., Turner, S. J., Coyne, D. L., et al. (2011). Current nematode threats to world agriculture. En *Genomics and Molecular Genetics of Plant–Nematode Interactions* (pp. 21-43). Springer.
- Nieto, L. E., Agudelo, F. V., & Dess, J. E. (1983). Reconocimiento y distribución del nemátodo quiste de la papa (*Globodera pallida* Stone) en Colombia. *Revista ICA*, *18*(2), 87-94.
- Orlando, V., & Boa, E. (2023). Potato cyst nematodes: A persistent and fearsome foe. *Plant Pathology*, *72*, 1541-1556.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P.R., O'Hara, B., Simpson, G.L., Solymos, P., Henry, M., Stevens, M., Szoecs, E. & Wagner, H. (2020). Vegan community ecology version 2.5-

- 7“vegan”
- Paradis, E. (2010). pegas: an R package for population genetics with an integrated–modular approach, *Bioinformatics*, Volume 26, Issue 3, 419–420, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp696>
- Picard, D., & Plantard, O. (2006). What constitutes a population for the plant parasitic nematode *Globodera pallida* in its native area (Peru)? *International Journal for Parasitology*, 36, 115-122.
- Picard, D., Sempere, T., & Plantard, O. (2007). A northward colonisation of the Andes by the potato cyst nematode during geological times suggests multiple host-shifts from wild to cultivated potatoes. *Molecular Phylogenetic Evolution*, 42, 308-316.
- Plantard, O., Picard, D., Vallete, S., et al. (2008). Origin and genetic diversity of Western European populations of the potato cyst nematode (*Globodera pallida*) inferred from mitochondrial sequences and microsatellite loci. *Molecular Ecology*, 17, 2208-2218.
- Price, J. A., Coyne, D., Blok, V. C., & Jones, J. T. (2021). Potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Molecular Plant Pathology*, 22, 495-507.
- Pylypenko, L. A., Phillips, M. S., & Blok, V. C. (2008). Characterisation of two Ukrainian po-pulations of *Globodera pallida* in terms of their virulence and mtDNA, and the biological assessment of a new resistant cultivar Vales Everest. *Nematology*, 10, 585-590.
- Ramos-Onsins, J.R. (2002) Statistical Properties of New Neutrality Tests Against Population Growth, *Molecular Biology and Evolution*, 19(12) 2092–2100, <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a004034>

- R Core Team. (2022). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- R Core Team (2023) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Roman, J., & Palumbi, S. R. (2003). Whales before whaling in the North Atlantic. *Science*, *301*, 508-510.
- Romero, L., Peng, H., Jiang, R., et al. (2025). Cytochrome b Gene of *Globodera pallida* populations from Colombia reveals diversity within populations. *Nematology*, *115*(7), 869-880. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-24-0395-R>
- Rogers, A. R., & Harpending, H. (1992). Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*.
- Sandoval-Ruiz, R., Flores-Chaves, L., & Humphreys-Pereira, D. A. (2020). Molecular characterization and distribution of *Globodera pallida* in the main potato production area of Costa Rica. *Nematropica*, *50*, 218-228.
- Sharma, S. B. (1998). *The Cyst Nematodes*. Springer Science+Business Media. <https://doi.org/10.1007/978-94-015-9018-1>
- SIOC. (2019). *Estrategia de Ordenamiento de la Producción – Cadena Productiva de la papa y su industria* (inf. téc.). Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Consultado en noviembre de 2025, desde <https://sioc.minagricultura.gov.co/Papa/Normatividad/Plan%5C%20de%5C%20Ordenamiento%5C%20papa%5C%202019-2023.pdf>
- Skantar, A. M., Handoo, Z. A., Carta, L. K., & Chitwood, D. J. (2007). Morphological and molecular identification of *Globodera pallida* associated with potato in Idaho. *Journal of Nematology*, *39*(2), 133-144.
- Skantar, A. M., Handoo, Z. A., Zasada, I. A., et al. (2011). Morphological and molecular

- characterization of Globodera populations from Oregon and Idaho. *Nematology*, 101(4), 480-491.
- Sousa F, Civán P, Foster PG and Cox CJ (2020) The Chloroplast Land Plant Phylogeny: Analyses Employing Better-Fitting Tree- and Site-Heterogeneous Composition Models. *Front. Plant Sci.* 11:1062. doi: 10.3389/fpls.2020.01062
- Subbotin, S. A., et al. (2019). Phylogenetic relationships of the cyst nematodes. *Nematology*.
- Subbotin, S. A., & Franco, J. (2022). Molecular characterisation of the sedentary cystoid nematode, *Mesodolichodera andina* (Golden, Franco, Jatala Astogaza, 1983) gen. n., comb. n. (Tylenchida: Heteroderidae) parasitising potatoes in the Andes. *Russian Journal of Nematology*, 30(1), 31-42.
- Subbotin, S. A., Franco, J., Knoetze, R., Roubtsova, T. V., Bostock, R. M., & Cid Del Prado Vera, I. (2020). DNA barcoding, phylogeny and phylogeography of the cyst nematode species from the genus *Globodera* (Tylenchida: Heteroderidae). *Nematology*, 269-297.
- Subbotin, S. A., Sainz, C., Villarroel, C. L., & Franco, J. (2023). Molecular characterisation of the potato cyst nematode, *Globodera ellingtonae* Handoo et al., 2012 (Tylenchida: Heteroderidae) from Bolivia. *Nematology*, 1-9.
- Subbotin, S. A., Toumi, F., Elekçioğlu, I. H., Waeyenberge, L., & Tanha Maafi, Z. (2018). DNA barcoding, phylogeny, and phylogeography of the cyst nematode species of the Avenae group from the genus *Heterodera* (Tylenchida: Heteroderidae). *Nematology*, 20(7), 671-702.
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3), 585-595.
- Tamura K, Nei M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol Biol Evol.* 10(3):512-26. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023.

- Thevenoux, R., Folcher, L., Esquibet, M., Fouville, D., Montarry, J., and Grenier, E. (2020). The hidden diversity of the potato cyst nematode *Globodera pallida* in the south of Peru. *Evol. Appl.* 13:727-737.
- Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., & Higgins, D. G. (1997). The ClustalX windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25(1), 4876-4882.
- UPRA. (2024). *Reconversión productiva de la papa colombiana: acciones para mejorar la producción agropecuaria*. Consultado en noviembre de 2025, desde <https://upra.gov.co>
- Vallejo, D., Rojas, D. A., Martínez, J. A., et al. (2020). Occurrence and characterization of cyst nematode species (*Globodera* spp.) associated with potato crops in Colombia. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.10.13.337238>
- Vallejo, D., Rojas, D. A., Martínez, J. A., et al. (2021). Occurrence and molecular characterization of cyst nematode species (*Globodera* spp.) associated with potato crops in Colombia. *PLOS ONE*, 16(7), e0241256.
- Viney, M. E. (1998). Nematode population genetics. *Journal of Helminthology*, 72, 281-283.
- Wegmann D, Currat M, Excoffier L. (2006) Molecular diversity after a range expansion in heterogeneous environments. *Genetics*. 174(4):2009-20. doi: 10.1534/genetics.106.062851.
- Wickham et al., (2019). Welcome to the Tidyverse. *Journal of Open Source Software*, 4(43), 1686, <https://doi.org/10.21105/joss.01686>
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. useR. Springer.
- Wijesinha-Bettoni, R., & Mouillé, B. (2019). The Contribution of Potatoes to Global Food Security, Nutrition and Healthy Diets. *American Journal of Potato Research*, 96,

139-149. <https://doi.org/10.1007/s12230-018-09697-1>

Winter, D.J. (2012). mmod: an R library for the calculation of population differentiation statistics. *Molecular Ecology Resources*, 12: 1158–1160. doi: 10.1111/j.1755-0998.2012.03174.x

Williamson, V. M., & Gleason, C. A. (2013). Plant-nematode interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, 6(4), 327-333.

Xuqing, L., Munawar, M., Ruihang, C., et al. (2020). Distribution of trichodorid species in mainland China with description of *Trichodorus hangzhouensis* sp. nov. (Nematoda, Triplonchida). *Zookeys*, 945, 163-189.

Yu, G., Smith, D. K., Zhu, H., Guan, Y., & Lam, T. T.-Y. (2017). Ggtree: An r package for visualization and annotation of phylogenetic trees with their covariates and other associated data. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(1), 28–36. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12628>

Zhao, S., Zheng, P., Dong, S., Zhan, X., Wu, Q., Guo, X., et al. (2013). Whole-genome sequencing of giant pandas provides insights into demographic history and local adaptation. *Nature Genetics*, 45(1), 67-71.

Apéndices

Apéndice A.

Lista de aislamientos de Globodera pallida, origen de las muestras y números de acceso de GenBank para las secuencias generadas de novo y recuperadas de bases de datos.

Especie	Localización	Número de accesión	Código	Gen	Referencia
<i>G. pallida</i>	Perú, Huancabamba	AY571617		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Cutervo	AY571618		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Chota	AY571619		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Cajamarca	AY571620		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Contumazá	AY571621		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Cajabamba	AY571622		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Huamachuco	AY571623		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Otuzco	AY571624		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Huaraz	AY571625		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Huasahuasi	AY571626		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Jauja	AY571627,-28		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Huancayo	AY571629		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Huancavelica	AY571630		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Ayacucho	AY571631		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Andahuaylas	AY571632, -33,-34		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Abancay	AY571635		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Cusco	AY571636, -37,-38		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Sicuani	AY571639		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Arapa	AY571640		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Juliaca	AY571641		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Amantani	AY571642, -43,-44		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Puno	AY571645, -46,-47		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Perú, Colca	AY571648		CytB	Picard et al. 2007
<i>G. pallida</i>	Francia, Ouessant	EF189178		CytB	Plantard et al. 2008
<i>G. pallida</i>	Países Bajos, Norte	EF189179		CytB	Plantard et al. 2008
<i>G. pallida</i>	Países Bajos, Centro	EF189182		CytB	Plantard et al. 2008
<i>G. pallida</i>	Francia, Noirmoutier	EF189183		CytB	Plantard et al. 2008
<i>G. pallida</i>	Portugal, Vila Real	EF189184		CytB	Plantard et al. 2008
<i>G. pallida</i>	Francia, Re Bois	EF189185		CytB	Plantard et al. 2008
<i>G. pallida</i>	Francia, Saint Meloir des Ondes	EF189186		CytB	Plantard et al. 2008
<i>G. pallida</i>	Reino Unido, Escocia	EF189187		CytB	Plantard et al. 2008
<i>G. pallida</i>	Reino Unido, Shropshire	EF189188		CytB	Plantard et al. 2008
<i>G. pallida</i>	Reino Unido, Sacrewell	EF189189		CytB	Plantard et al. 2008

<i>G. pallida</i>	Canadá, Newfoundland	GQ294494,-95,-96,- 97,-98,-99,-01,-04	CytB	Madani et al. 2010
<i>G. pallida</i>	Francia, Chavornay	GQ294506, -08	CytB	Madani et al. 2010
<i>G. pallida</i>	Bélgica, Dadizele	GQ294510	CytB	Madani et al. 2010
<i>G. pallida</i>	Costa Rica, Zarcero	MT872310	CytB	Sandoval-Ruiz et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Costa Rica, Cartago	MT872309	CytB	Sandoval-Ruiz et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		CU1D	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		CU1E	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		CU1F	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		CS1F	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		CT1B	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		CTE1F	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		CTE1H	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		CG1B	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		CG1E	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		C4D	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		C2B	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		C5A	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		C8C	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		C8D	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		C10B	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		C10C	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		BSOR1G	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		BSOR1F	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		BTO1H	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		BTO1I	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		BSO1F	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		BSO1G	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		BT1D	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		BV1G	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		BA1F	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		B2C	CytB Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		B2D	CytB Este trabajo

<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		B4D	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		B5A	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		B9D	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		B11A	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		B11C	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		BV1H	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		BV1I	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		BSOR1D	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		BA1H	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Norte de Santander		NSM11E	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Santander		SG7C	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Santander		SG7D	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Santander		SG7E	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Santander		SC4C	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Santander		SC9C	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Santander		SC9E	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Antioquia		A1A	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Nariño		N2A	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Nariño		N2C	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Nariño		N2D	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Nariño		N4B	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Nariño		N4C	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Nariño		N4D	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Nariño		N5A	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Nariño		N5B	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Nariño		N5C	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Nariño		N9A	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Nariño		N9C	CytB	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá	PQ634853,-57,-58,-65,-66		CytB	Romero et al. 2025
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca	PQ645017,-18,-51,-52,-54,-55,-56,-59,-60,-62,-64,-67,-68,-69		CytB	Romero et al. 2025
<i>G. pallida</i>	Colombia, Norte de Santander	PQ634850,-61,-63		CytB	Romero et al. 2025
<i>G. pallida</i>	Ecuador, Cotopaxi	PQ432251,-53		CytB	Llumiquinga et al. 2025
<i>G. pallida</i>	Ecuador, Pichincha	PQ432254,-57,-58		CytB	Llumiquinga et al. 2025
<i>G. pallida</i>	Ecuador, Tungurahua	PQ432263		CytB	Llumiquinga et al. 2025
<i>G. pallida</i>	Perú, Cruz Pampa	MN096130,-26		CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Perú, Cusco	MN096129,-28,-31		CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Perú	MN096125		CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Perú, Cusco	MN096124,-23,-22		CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Perú, Chocom	MN096119		CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Perú, Capachica	MN096114		CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Perú, Cusco	MN096095,-93,-88		CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Perú	MN096091		CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Costa Rica, Volcán Irazú	MN096127		CytB	Subbotin et al. 2020

<i>G. pallida</i>	Panama	MN096121,-20	CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Bolivia, Keruni	MN096116	CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Bolivia, La Paz	MN096115,-92,-90,-89,18	CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	USA, Idaho	MN096101	CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	España, Tenerife	MN096108,-07,-05,-04,96	CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	UK	MN096117,-10	CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	UK, East Lothian	MN096097	CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Alemania, Kelle	MN096113	CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Suiza	MN096112,-13	CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Francia, Le Rheu Cedex	MN096111,-09	CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Países Bajos	MN096106,-00	CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Chipre	MN096102	CytB	Subbotin et al. 2020
<i>G. mexicana</i>	Mexico, Tlaxcala	AY851616	CytB	Picard et al. 2007

Apéndice B.

Lista de aislamientos de Globodera spp, origen de las muestras y números de acceso de GenBank para las secuencias generadas de novo y recuperadas de bases de datos.

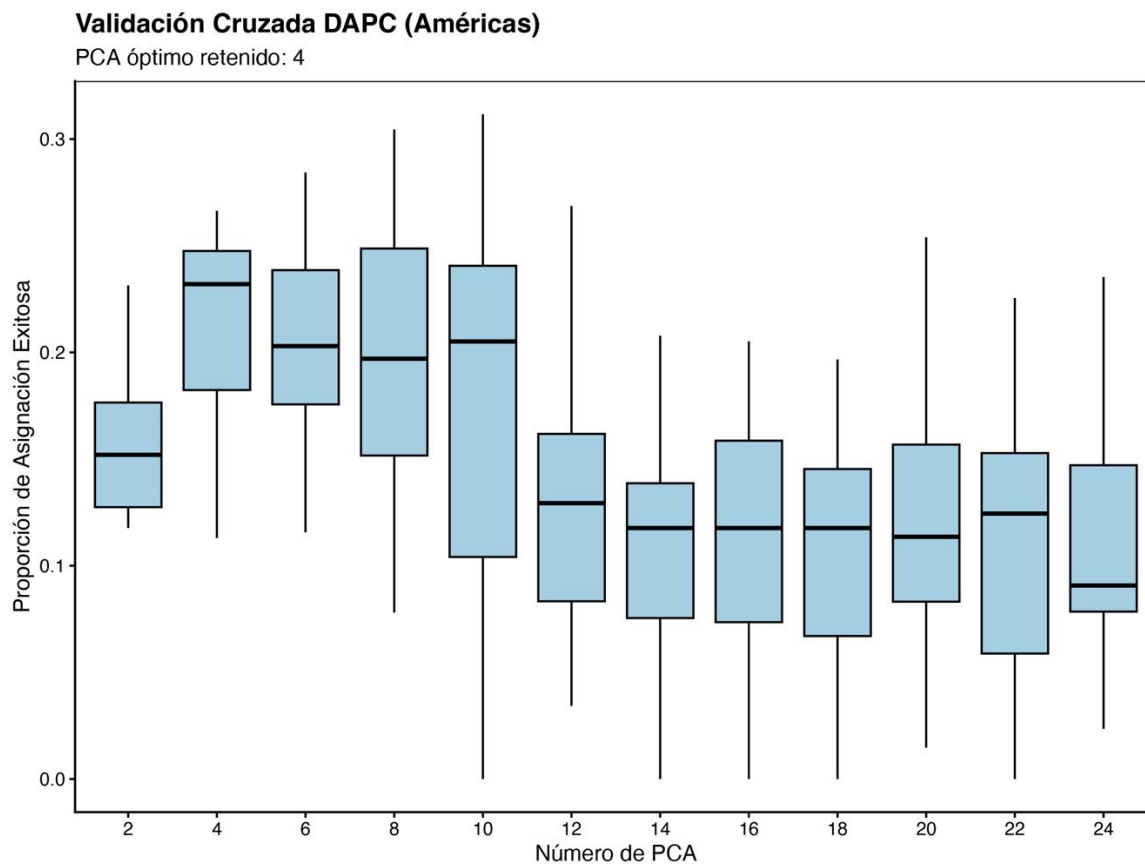
Especie	Localización	Número de Acesión	Código	Gen	Referencia
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		CG1A	COI	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Cundinamarca		CG1C	COI	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		BA1C	COI	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		BA1D	COI	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Boyacá		BA1D	COI	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Norte de Santander		NSM11E	COI	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Santander		SC9D	COI	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Santander		SC4A	COI	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Nariño		N2A	COI	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Colombia, Nariño		N2B	COI	Este trabajo
<i>G. pallida</i>	Bolivia, La Paz	MN095923		COI	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Bolivia, La Paz	MN095920		COI	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Bolivia, La Paz	MN095917		COI	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Perú, Capachica	MN095921		COI	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Perú, Capachica	MN095922		COI	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	USA, Idaho	MN095909		COI	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	France, Le Rheu	MN095907		COI	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Germany, Delmsen	MN095905		COI	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Germany, Kelle	MN095902		COI	Subbotin et al. 2020
<i>G. pallida</i>	Netherlands, Pa2	MN095903		COI	Subbotin et al. 2020

<i>G. pallida</i>	UK	MN095900	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. pallida</i>	UK	MN095896	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. pallida</i>	Switzerland, Pa2/3	MN095899	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. pallida</i>	Spain, Tenerife	MN095897	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. pallida</i>	Cyprus, Eastern part	MN095895	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. pallida</i>	Kenya	MH399818	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. rostochiensis</i>	Colombia, Cundinamarca		CCH1A	COI	Este trabajo
<i>G. rostochiensis</i>	Colombia, Cundinamarca		CCH1J	COI	Este trabajo
<i>G. rostochiensis</i>	Colombia, Norte de Santander		NSCH1A	COI	Este trabajo
<i>G. rostochiensis</i>	Colombia, Norte de Santander		NSCH1B	COI	Este trabajo
<i>G. rostochiensis</i>	Colombia, Norte de Santander		NSM2E	COI	Este trabajo
<i>G. rostochiensis</i>	Colombia, Norte de Santander		NSM5B	COI	Este trabajo
<i>G. rostochiensis</i>	Colombia, Santander		SC3D	COI	Este trabajo
<i>G. rostochiensis</i>	Colombia, Santander		SG8C	COI	Este trabajo
<i>G. rostochiensis</i>	Colombia, Boyacá		BC1E	COI	Este trabajo
<i>G. rostochiensis</i>	Portugal, Azores	MK798162	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. rostochiensis</i>	Bolivia, Cochabamba	MN095980	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. rostochiensis</i>	Bolivia, Cochabamba	MN095976	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. rostochiensis</i>	Bolivia, La Paz	MN095978	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. rostochiensis</i>	Bolivia, La Paz	MN095974	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. rostochiensis</i>	Chile	MN095968	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. rostochiensis</i>	Germany, Harmerz	MN095979	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. rostochiensis</i>	Germany, Hannover	MN095933	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. rostochiensis</i>	UK, Ro 4	MN095934	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. rostochiensis</i>	Russia, Kaliningrad	MN095975	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. rostochiensis</i>	Russia, Vladimir	MN095969	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. rostochiensis</i>	Kyrgystan	MN095970	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. mexicana</i>	Mexico, Estado de Mexico	MN095863	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. mexicana</i>	Mexico, Estado de Mexico	MN095864	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. mexicana</i>	Mexico, Tlaxcala	MN095865	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. ellingtonae</i>	USA, Oregon	MN095879	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. tabacum</i>	USA, Virginia	MN096035	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. tabacum</i>	USA, Virginia	MN096037	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. tabacum</i>	USA, Virginia	MN096046	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. zelandica</i>	New Zealand	MN095883	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. zelandica</i>	New Zealand	MN095884	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. capensis</i>	New Zealand	MN095880	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. sp.</i>	New Zealand, North Island	MN095881	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. sp.</i>	New Zealand, South Island	MN095882	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. sandveldensis</i>	South Africa, Western Cape	MN095888	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. millefoli</i>	Estonia	MN095889	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. algulhasensis</i>	South Africa, Western Cape	MN095891	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>G. artemisiae</i>	Russia, Primorskii Krai	MN095892	COI	Subbotin et al. 2020	
<i>Atalodera carolynae</i>	USA, California Outgroup	MF425752	COI	Subbotin et al. 2020	

Rhizomella sp. USA, California **Outgroup** MF425748 COI Subbotin et al. 2020

Apéndice C.

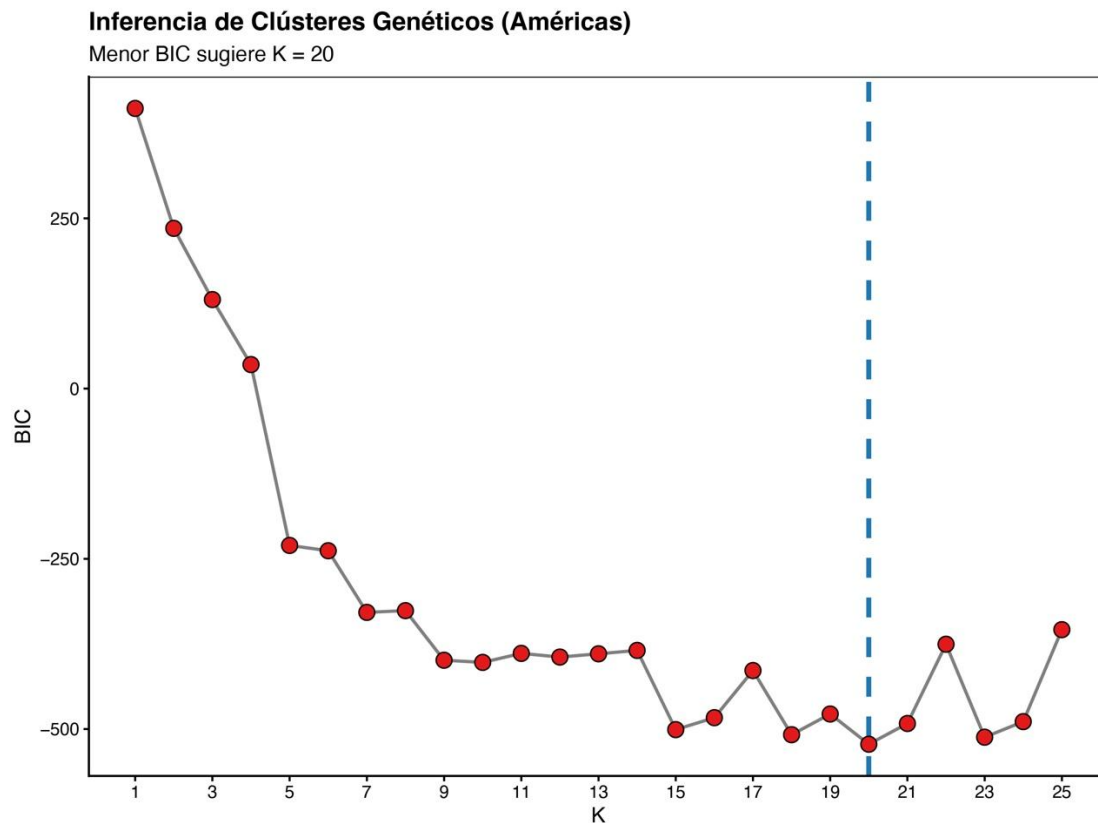
Validación cruzada estratificada (xvalDapc) para el Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC) en las poblaciones de Globodera pallida.



Nota: El gráfico ilustra la tasa de éxito de asignación predictiva en función del número de Componentes Principales (PCs) retenidos. La línea de tendencia y la dispersión de los puntos (derivados de 30 repeticiones por cada nivel de PCs) permiten determinar empíricamente la cantidad óptima de componentes que maximiza el poder discriminante sin incurrir en sobreajuste del modelo.

Apéndice D.

Gráfico de optimización del Criterio de Información Bayesiano (BIC) para inferir el número óptimo empírico de clústeres en el Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC).



Nota: La curva muestra la minimización del BIC a lo largo de sucesivas particiones (valores de K), donde el punto más bajo (K=20) indica la configuración de agrupamiento genético que mejor explica los datos empíricos de *Globodera pallida*, maximizando la discriminación inter-grupos.