



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA

Rastro molecular de la especie invasora *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) utilizando secuencias de ADN mitocondrial

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

Presentado ante la ilustre Universidad Central de Venezuela, por el bachiller **Leomar Alejandro González Núñez** como requisito parcial para optar al título de Licenciado en Biología.

Tutor: Prof. Juan Carlos Navarro (UCV)

CARACAS, VENEZUELA
NOVIEMBRE, 2013



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA

Quienes suscriben, miembros designados por el Consejo de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela para examinar el Trabajo Especial de Grado “Rastro molecular de la especie invasora *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) utilizando secuencias de ADN mitocondrial”, presentado por el Br. Leomar Alejandro González Núñez, titular de la Cédula de Identidad No. 17.976.070, a los fines de cumplir con el requisito para optar al título de Licenciado en Biología; consideramos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por esta Casa de Estudios y es aprobado en nombre de la Universidad Central de Venezuela por el Jurado examinador, abajo firmantes, en la ciudad de Caracas a los 18 días del mes de noviembre del año 2013.

Prof. Juan Carlos Navarro

CI: 5.305.409

TUTOR (UCV)

Prof. Jorge Pérez Emán

CI: 6.915.515

JURADO (UCV)

Prof. Yadira Rangel

CI: 3.310.601

JURADO (UCV)

A mi madre, que con su apoyo,
su amor incondicional, sus
enseñanzas, virtudes y valores
pero sobre todo con mucho sacrificio
ha forjado el hombre que soy hoy día.

A Gerardo, por inspirarme a ser
un modelo a seguir, un ejemplo.

A Papito y Mamita,
esto es pa' ustedes, viejitos; sigan
cuidándome y guiándome,
donde quiera que se encuentren.

AGRADECIMIENTOS

A mi madre por sus consejos, su apoyo incondicional, sus valores. Gracias por amarme, protegerme y consentirme. Gracias por ser la mejor. A mi hermano por todas las alegrías, risas, los dolores de cabeza y (¿por qué no?) hasta las arrecheras que me has hecho pasar desde que llegaste a nuestras vidas, inspirándome a ser un ejemplo para ti. Los amo a los dos... A mi tía Cricel por complementar las enseñanzas de mi madre y enseñarme el camino hacia la UCV. A la Gorda, por sus sabios consejos y deliciosas comidas que me preparó y enseñó a preparar.

A mi tutor Juan Carlos Navarro por el apoyo para realizar este Trabajo Especial de Grado y por darme la oportunidad de pertenecer al Laboratorio de Biología de Vectores. A todo el personal que allí trabaja, por toda la ayuda, los consejos y su aporte importante a este T.E.G., por todos los momentos compartidos, los almuerzos politiqueros y todo el café que acompañaba nuestras tertulias. Gracias a todos. A mis jurados Jorge Pérez y Yadira Rangel, por sus ideas para que esta tesis quedara lo mejor posible. Adrianita y Hermes, se les extraña...

Adicionalmente, Jorge que además de ser un excelente profesor eres una excelente persona y amigo, y una de mis principales influencias en la carrera; la otra, Juan Carlos. Un honor que formen parte de mi T.E.G.

A mi Sany por su amor, paciencia, comprensión y apoyo en todo lo que tuve que enfrentar durante los dos largos años de realización de este trabajo. Por todo lo que hemos vivido en estos cinco años en la facultad y fuera de ella y todo lo que nos falta vivir.

A esos 19 años de amistad con mis compadres Elady y Jhoniél (colega, de paso), que nos han permitido acompañarnos en las buenas y malas y que seguramente esa

cuenta se extenderá. Igualmente con mi otro colega y amigo Eduardo, han sido menos años juntos, pero seguro vendrán más. A todos esos amigos que vienen recorriendo la vida conmigo desde la infancia y adolescencia y que hemos compartido tantas experiencias; gracias a ustedes también.

A Indira, Luis Manuel, Rubén, Ginette, Luisana, Jenny, Juancho, y todos esos compañeros y amigos que me regalo la Facultad de Ciencias y que mejor dejo de nombrar, no vaya a ser que se me olvide uno y después, bueno... ¡Pa' qué te cuento!... Gracias por todo a todos muchachos. Seguro seguiremos cosechando.

A la Universidad Central de Venezuela y especialmente a la Facultad de Ciencias, por todas esas cosas que viví, disfruté y sufrí durante todos estos años de vida estudiantil, por lo que aprendí académicamente y en términos de la vida misma dentro de sus espacios y en sus alrededores que ayudó a que me formara integralmente como humano, como ciudadano, como Científico, como hombre... Nunca, jamás te olvidaré...

A la Ciencia, a la Naturaleza, a la Vida... a la Biología misma... A mis otras pasiones, la Música y la fotografía

En resumen, a todos los que directa o indirectamente me han contribuido a la realización de este Trabajo Especial de Grado y a ser más ameno y feliz el camino recorrido para llegar a esta etapa de mi vida. Si me faltó alguien, que de verdad me disculpe, no es que no lo lleve en mi mente y corazón, es que simplemente se escabulleron de mis ideas al escribir esto.

Agradecido por siempre.

ÍNDICE GENERAL

INDICE DE TABLAS.....	vii
INDICE DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES.....	7
• Expansión de <i>Ae. albopictus</i> e introducción en América.....	7
• Estudios previos de trazas moleculares de <i>Ae. albopictus</i>	9
HIPÓTESIS.....	24
OBJETIVOS.....	25
MATERIALES Y METODOS.....	26
• Muestras y Poblaciones.....	26
• Muestreo.....	27
• Procedimientos de laboratorio.....	27
• Análisis de secuencias de ND5.....	29
RESULTADOS.....	32
• Análisis de secuencias de ND5.....	32
• Diferencias poblacionales.....	35
• Relaciones filogenéticas y Red de haplotipo.....	36
DISCUSIÓN.....	43
CONCLUSIONES.....	49
BIBLIOGRAFIA.....	50
ANEXOS.....	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Localidades donde se realizaron las colectas de las poblaciones de *Ae albopictus* estudiadas y su información geoespacial.----- 26

Tabla 2. Protocolo y condiciones (programa del termociclador) para la amplificación por PCR del gen mitocondrial ND5 (Tomado de Quintero, 2010).----- 28

Tabla 3. Haplotipos de ND5 en *Ae.albopictus*, localidades y códigos de identificación. -
----- 33 - 34

Tabla 4. Haplotipos y sitios variables reportados. [+] representa que son sitios variables nuevos. [*] indica que el es el cambio compartido entre H14 (Venezuela) y H15 (Colombia). El sitio marcado con [**] es considerado un sitio hipervariable.----- 36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema representativo del ciclo de vida de *Aedes albopictus*. Tomado y modificado de <http://www.taringa.net/posts/salud-bienestar/2405724/DENGUE---Como-prevenirlo-Sintomas-e-Informacion-Detallad.html>----- 2

Figura 2. Esquema de la molécula del ADN mitocondrial (ADNmt) en donde se muestra la ubicación de los genes que la conforman. Tomado de <http://miadn-biologia.blogspot.com/2010/11/que-es-el-adn-mitocondrial.html>----- 4

Figura 3. Mapa de distribución a escala mundial de *Aedes albopictus* hasta el año 2008. Se ilustra como se expande la distribución desde la región nativa. Tomado y modificado de <http://tiger-mosquito.info/tiger-mosquito-world-map-united-states-latin-america-europe-africa/>----- 8

Figura 4. Mapa de distribución de *Aedes albopictus* en el continente americano (tomado de Navarro y col, 2009).----- 8

Figura 5. Red de haplotipos obtenida por Birungi y Munstermann. Se muestran los nueve haplotipos encontrados, los países a los que están asociados y la frecuencia con la que se encuentran, proporcional al tamaño de los círculos. Las barras entre círculos muestran hipotéticamente el número de cambios en sitios variables que definen los haplotipos.----- 10

Figuras 6a y 6b. Árboles (Max Likelihood) que ilustran los resultados de Mousson y col. (2005) en los análisis de genes combinados (ND5, COI y *Cytb*) de las especies *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*, respectivamente (tomado de Mousson y col, 2005).-----12 - 13

Figura 7. Red de haplotipos de ND5 obtenida por Usmani-Brown y col. Se muestran los 13 haplotipos identificados y las frecuencias en las que se encuentran (relativas al tamaño de las figuras). Cada línea corta perpendicularmente a las líneas que conectan las figuras de los haplotipos representa un cambio en un par de bases entre los haplotipos.----- 14

Figura 8. Red de haplotipos obtenida por Maia y col (2009). Se muestran los dos haplotipos encontrados en Brasil (figuras de mayor tamaño-mayor frecuencia) y las

relaciones entre estos y los otros reportados por Birungi y Munstermann (2002). En esta red $H2 = H3$ *sensu* Birungi & Munstermann (2002): ver explicación en texto.----- 15

Figura 9a y 9b. Árboles circulares obtenidos por Kamgang y col. mediante un análisis filogenético utilizando la metodología de análisis Bayesiano de secuencias de COI y ND5 respectivamente.----- 17

Figura 10. Red de haplotipos obtenida por Navarro y col. 2013 (en prensa). Se muestran los 16 haplotipos, las frecuencias con que se encuentran (relativas al tamaño de los círculos), los países en que se encuentran y los cambios de nucleótidos que hay entre haplotipos representados por los puntos sólidos sobre las líneas que unen los círculos.----- 19

Figura 11. Reconstrucción filogenética de *Ae. albopictus* obtenida por Raharimalala y col, 2012 mediante el análisis de secuencias de ND5 y COI concatenadas, usando ML. Se muestran poblaciones de Madagascar y La Réunion más relacionadas con poblaciones de E.E.U.U., Francia y Hawái.----- 21

Figura 12. Red de haplotipos de *Ae. albopictus* del sureste asiático obtenida mediante el análisis de secuencias de ND5 y COI concatenadas. Los tamaños de los círculos se asocian con las frecuencias de los haplotipos en la población y los colores con las localidades estudiadas, representadas en el mapa. Las líneas representan los cambios en sitios variables que definen los haplotipos y los interconectan.----- 22

Figura 13. Mapa de localidades asociadas a las secuencias de ND5 utilizadas en este trabajo. Los colores son los que identifican a las muestras según la localidad a lo largo del texto. El óvalo rojo señala a los países de la distribución nativa de la especie representada por muestras provenientes de Tailandia, Japón, China, Bután y Vietnam.----- 30

Figura 14. Árbol de consenso estricto realizado utilizando las secuencias de ND5 de *Ae. albopictus* y el método de Máxima Parsimonia. Los números representan el valor de soporte Bootstrap para los nodos donde se encuentran. En la identificación de cada rama está el nombre del Haplotipo al que se asocia según la nomenclatura oficial.----- 37

Figura 15. Resultado del análisis de NJ realizado utilizando las secuencias de ND5. Los haplotipos se encuentran en una estructura de ramas poco resuelta y con bajos soportes.----- 38

Figura 16. Red de Haplotipos de ND5 de *Ae. albopictus* extraída directamente de TCS, se muestra la relación entre los 31 haplotipos de ND5 encontrados y los errores generados por la pérdida de información producto de la Edición de los alineamientos.--

----- 39

Figura 17. Red de Haplotipos construida en base a la obtenida del análisis realizado en este estudio en combinación con la obtenida por Navarro y col. (2013, en prensa). Se muestran las relaciones entre los 31 haplotipos de ND5 encontrados. Los colores representan las localidades en las que se encuentra cada haplotipo (ver leyenda) y el tamaño de los círculos es relativo a la frecuencia con que se encuentran. Los puntos sobre las líneas representan el número de cambios existentes entre un haplotipo y otro.-----

42

RESUMEN

Aedes albopictus (Culicidae: Nematocera) (Skuse) es un díptero hematófago capaz de alimentarse de sangre de diferentes hospedadores. La especie está involucrada en la transmisión del virus del Dengue (entre otros patógenos) principalmente en Asia y más recientemente en países como Camerún en los que se han presentado incrementos en los brotes de arbovirosis que son relacionados con la introducción y aumento de las poblaciones de *Ae. albopictus*. En estudios sobre su potencialidad como vector se obtuvieron resultados que lo convierten en una especie de importancia en salud pública.

La especie es originaria del sudeste asiático y su distribución geográfica se encuentra en expansión, encontrándose ampliamente distribuida en los cinco continentes en la actualidad. *Ae. albopictus* ya ha sido reportado en veinte países de América desde la década de 1980, incluyendo Venezuela en el año 2009.

Se ha comprobado que la introducción de esta especie en distintas regiones ha ocurrido por el comercio entre países. La exportación de cauchos usados es una de las principales causas, ya que en ellos los huevos secos y en latencia (resistentes y viables durante meses en este estado) son transportados de un país a otro y al entrar en contacto con agua, eclosionan las fases larvarias. Al alcanzar la fase adulta, pueden establecer poblaciones en los sitios invadidos bajo condiciones de un efecto fundador.

Análisis de secuencias de genes mitocondriales son de utilidad para establecer estructuración poblacional geográfica por métodos filogenéticos y/o redes de haplotipos y así verificar hipótesis de posibles orígenes de introducción de esta especie. Para esto se realizaron análisis haciendo uso del gen mitocondrial NADH deshidrogenasa 5 (ND5), en poblaciones de Venezuela, Colombia y secuencias de

poblaciones de otros países obtenidas de genbank, con el fin de comprobar hipótesis de introducción y estructuración filogenética en relación con el área geográfica y compararla con resultados previos en los que se usa el mismo marcador molecular.

Aunque la variabilidad del gen ND5 es baja en comparación con otras especies de mosquitos, nuevos haplotipos fueron reportados (en la literatura) para el Sureste asiático y Madagascar, así como nuestros resultados incrementaron el número de sitios variables reportados, haciendo más complejas las relaciones entre los haplotipos que se conocían hasta el momento.

Los análisis filogenéticos clásicos continúan siendo poco informativos al presentarse árboles de topologías no resueltas (politomías). La red de haplotipos obtenida mediante parsimonia estadística aporta mayor información en el momento de establecer relaciones entre los haplotipos y de formular hipótesis sobre la introducción de la especie en el área de estudio.

Se incrementa la riqueza y diversidad de haplotipos conocidos, reportando 31 haplotipos y 30 sitios polimórficos en total. Se concluyen introducciones múltiples e independientes a Venezuela (desde Asia o Brasil) y Colombia (desde varios países) bajo condiciones ecológicas típicas de un efecto fundador.

Palabras Clave: *Aedes albopictus*, ADN mitocondrial, ND5, Filogeografía intraespecífica, Redes de Haplotipos.

INTRODUCCIÓN

Los mosquitos como *Aedes aegypti* (L) y *Aedes albopictus* (Skuse), son insectos dípteros hematófagos. Presentan un ciclo de vida holometábolo, pasando por la fase de huevo, diferentes estadíos larvales y una fase de pupa, antes de emerger como un imago o adulto volador capaz de alimentarse de sangre de diferentes hospedadores (Figura 1). Este tipo de comportamiento alimentario esta ligado a la probabilidad de ingestión de patógenos como virus, bacterias, protozoarios y nematodos, los cuales se reproducen en el tracto digestivo y glándulas salivales del imago, y que en un posterior evento hematofágico, logran transmitir a un hospedador sano y susceptible, provocando una patología determinada. *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* están involucrados en la transmisión del virus dengue, con mayor frecuencia en América y Asia respectivamente, lo que las convierte en especies de importancia en el área de salud pública.

Aedes (Stegomyia) albopictus (Skuse) es una especie originaria del sureste asiático cuya distribución geográfica se encuentra recientemente en expansión, encontrándose ya ampliamente distribuido en los cinco continentes. Ha sido reportado en el continente americano desde mediados de la década de 1980; primero en los Estados Unidos (1985) y luego en Brasil (1986). El primer país donde fue reportado infectado naturalmente con el virus del dengue (DENV-1 Y 3) fue México, en 1988 (Ibañez-Bernal y col, 1997; Mousson y col, 2005).

Se ha comprobado que la introducción de esta especie en distintas regiones ha ocurrido por el comercio entre países, siendo la exportación de cauchos usados una de las principales causas señaladas. En los neumáticos o cauchos, los huevos secos y en latencia (resistentes y viables durante meses en este estado) son transportados de un país a otro; al entrar en contacto con agua, de lluvia principalmente, emergen las

larvas que al alcanzar posteriormente la fase de imagos (adultos voladores) pueden establecer poblaciones en los sitios invadidos estableciéndose bajo las condiciones ecológicas características de un efecto fundador.

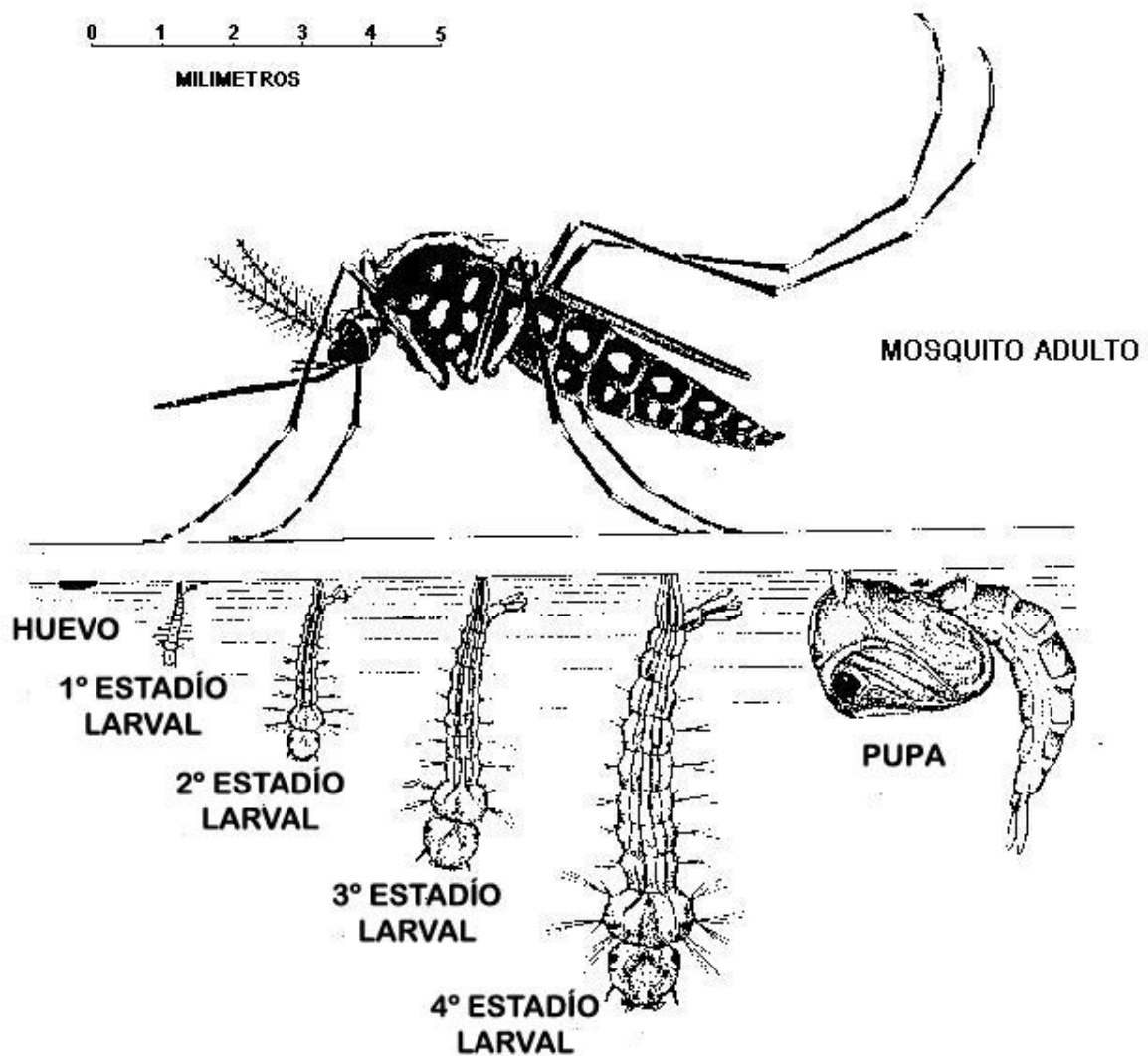


Figura 1. Esquema representativo del ciclo de vida de *Aedes albopictus*. Tomado y modificado de <http://www.taringa.net/posts/salud-bienestar/2405724/DENGUE---Como-prevenirlo-Sintomas-e-Informacion-Detallad.html>.

Esta especie tiene un comportamiento bastante similar a su congénere *Aedes aegypti*, vector principal del Dengue y de la Fiebre Amarilla Urbana en América; sin embargo, estas especies se diferencian entre otras cosas, en la mayor agresividad del comportamiento de picada o alimentación que presenta *Ae. albopictus*, en la mayor

variedad de posibles fuentes de alimento (otros animales además del humano), y en la mayor capacidad que tiene de ocupar hábitats en zonas periurbanas, rurales y selváticas además de las zonas urbanas (Mousson y col, 2005). Adicionalmente a su gran capacidad invasora y de ocupación de diferentes tipos de hábitats, esta especie posee una enorme importancia en salud pública, como vector de los virus del dengue y la fiebre amarilla en otras regiones, así como potencialmente de otras 21 arbovirosis (Gratz, 2004; Navarro y col., 2009a). Recientemente se han asociado incrementos o inicios de brotes de arbovirosis como el Dengue y Chikungunya con aumentos en las poblaciones de *Ae. albopictus* (Kamgang y col, 2011; Raharimalala y col, 2012). Otros estudios han demostrado la alta capacidad que tiene esta especie para infectarse y transmitir arbovirosis (Haddad y col, 2012; Raharimalala y col, 2012).

Ae. albopictus ya ha sido registrado en veinte países del continente, siendo reportado en Venezuela recientemente (Navarro y col, 2009a). Luego de este hecho se iniciaron estudios de índole ecológico (Zorrilla y col 2011), y genético-filogeográfico con fines de conocer las posibles rutas de entrada de esta especie en Venezuela y Colombia (Navarro y col. 2013, en prensa) mediante el uso del gen mitocondrial ND5.

El concepto Filogeografía fue introducido a finales de la década de 1980 como la conjunción de las relaciones filogenéticas del grupo de interés –generalmente a nivel intraespecífico y utilizando el ADN mitocondrial (ADNmt)- y las distribuciones geográficas de esos agrupamientos filogenéticos bajo una única disciplina (Avice y col, 1987). En otras palabras es un campo de estudio, hoy aceptado como una rama de la Biogeografía, que evalúa los principios y procesos que determinan la distribución geográfica de distintos linajes evolutivos, especialmente entre y dentro de especies estrechamente relacionadas (Avice, 1998, 2009).

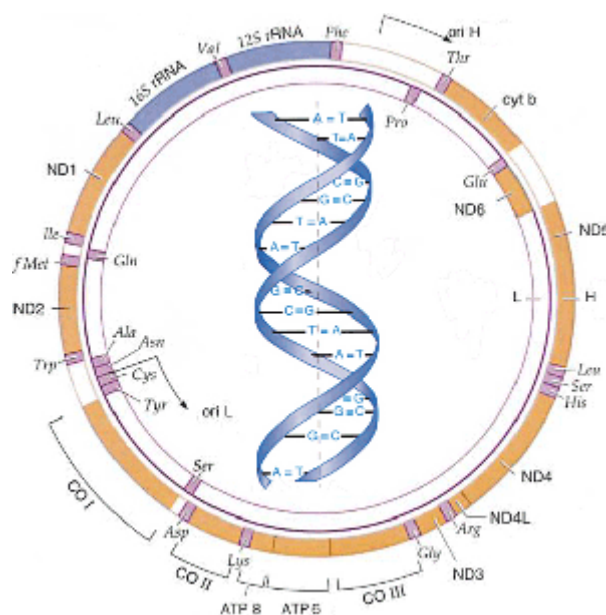


Figura 2. Esquema de la molécula del ADN mitocondrial (ADNmt) en donde se muestra la ubicación de los genes que la conforman. Tomado de <http://miadn-biologia.blogspot.com/2010/11/que-es-el-adn-mitocondrial.html>.

El uso común del ADNmt se debe a que posee una estructura simple, además de ser fácil de aislar y manejar. Cada célula contiene muchas copias de la molécula circular (ver Figura 2) del ADNmt de forma homoplásmica (múltiples copias dentro de una misma célula), lo que facilita la comparación entre individuos ubicando homologías. Se hereda únicamente por vía materna, evitando los inconvenientes que, para los fines prácticos de las inferencias filogenéticas, generan la recombinación y las mutaciones que puedan surgir en la reproducción sexual o cruzada. Su alta tasa de evolución en animales nos permite trabajar a niveles mas bajos en la escala taxonómica (específicos e infra específicos) (Avice y col, 1987; Avice, 1998, 2009).

Por otra parte, cuando se habla de variabilidad genética (a nivel de caracteres moleculares), se hace referencia a los cambios que ocurren en uno o varios de los nucleótidos que componen una secuencia de ADN. Estas variaciones pueden llegar a fijarse en frecuencia dentro de una población así como también pueden ser eliminadas. Puede ser introducida por situaciones que favorezcan el flujo génico entre poblaciones así como por mutaciones. Si existe una tasa mutacional alta -como

generalmente se ha reportado al usar los genes mitocondriales en dípteros- se observará una mayor capacidad de adaptación potencial, que a su vez genera una mayor probabilidad de responder favorablemente ante un cambio ambiental dado (Quintero, 2010).

La variabilidad genética está asociada a distintos factores o procesos que hacen que los cambios se produzcan en escalas espaciales grandes y escalas temporales pequeñas, como producto de factores ecológicos; o bien en escalas espaciales reducidas pero en un amplio período de tiempo, condiciones que dan paso a procesos como el Efecto Fundador, Flujo Genético, la Deriva Genética y la Vicarianza (Quintero, 2010; Futuyma, 1998).

También es muy común en este tipo de insectos que la variabilidad genética se vea afectada por presiones ejercidas por el hombre (presiones antropogénicas), como por ejemplo, el control de plagas mediante la aplicación de insecticidas. Esto puede producir una estructuración filogenética que puede ser explicada dependiendo del grado de divergencia nucleotídica y la tasa mutacional propia de los taxa estudiados

Dentro de la Clase Insecta, en especial aquellos insectos de importancia médica como vectores de arbovirus y parásitos, la filogeografía ha sido utilizada para evaluar la divergencia entre poblaciones en conjunción con las distribuciones geográficas de estos linajes genéticos enmarcados en los distintos periodos de la escala geológica -generalmente desde el Mioceno hasta el Pleistoceno, debido a la carencia de registros más antiguos-. En otros casos, que no necesariamente tengan que ver con este trabajo sino que mas bien tienen otras aplicaciones (por ejemplo la Ecoepidemiología), también se utilizan las herramientas de las disciplinas antes mencionadas para realizar la definición de zonas de transición y áreas de endemismo (Arrivillaga y col, 2002; Morrone, 2006; Conn y Mirabello, 2007; Torres-Pérez y col, 2011; Quintero y Navarro, 2012; Navarro y col. 2013, en prensa).

En lo que respecta a las especies invasoras (como es el caso de *Aedes albopictus* e inclusive *Aedes aegypti*) la filogeografía, además de brindar los resultados antes señalados, ha sido una herramienta para determinar las posibles rutas de introducción, así como también comprobar hipótesis sobre los mecanismos y vías mediante las cuales la introducción de dichas especies pudo ocurrir, permitiendo sugerir medidas de control (Birungi&Munstermann, 2002; Moussson y col 2005; Usmani-Brown y col 2009; Kamgang y col 2011; Navarro y col, 2013, en prensa).

Como ya se hizo mención, el ADNmt es el tipo de marcador utilizado para establecer inferencias filogeográficas. No son pocos los estudios que hasta el momento han hecho análisis filogenéticos, filogeográficos o en genética de poblaciones de *Ae. albopictus* basándose en este marcador (Birungi y Munstermann, 2002; Moussson y col 2005; Usmani-Brown y col 2009; Kamgang y col 2011; Zitco y col, 2011; Haddad y col, 2012; Raharimala y col, 2012; Porreta y col, 2012; Navarro y col, 2013, en prensa). Es por esto que, con la finalidad de ampliar las evidencias filogeográficas y de las rutas de movimiento e introducción de esta especie encontradas en los trabajos previos, se re analizará la variabilidad del gen NADH Deshidrogenasa 5 (ND5) utilizando diferentes poblaciones de Venezuela y Colombia, en conjunto con las secuencias de este gen disponibles en el GenBank para *Ae. albopictus*. Los resultados permitirán realizar un trazado del rastro genético y proponer o reforzar hipótesis de la o las rutas potenciales de introducción de esta especie en nuestro país y otras zonas de América del Sur.

ANTECEDENTES

- Expansión de *Ae. albopictus* e introducción en América

La primera incursión y posterior establecimiento de *Ae. albopictus* en el continente americano fue en 1985, cuando se reportaron criaderos en el condado Harris del estado de Texas. Es la primera vez que se hablaba de la presencia de *Ae. albopictus* en los Estados Unidos continental, sin embargo no fue el primer reporte de la especie en este país, ya que a finales de la Segunda Guerra Mundial fueron hallados en Hawai durante una epidemia de Dengue que hubo en estas islas (Gratz, 2004). Desde entonces la distribución de *Ae. albopictus* en los Estados Unidos se ha extendido hasta ocupar mas de la mitad del territorio de este país, desde el centro hasta la costa atlántica (Navarro y col, 2009). El segundo país del continente en el que fue reportada la especie fue Brasil, cuando en 1986 fueron encontrados en Sao Paulo y en Rio de Janeiro. Para el año 2004 se encuentran en 20 de los 27 estados de Brasil (Gratz, 2004).

En 1988 se encontró un criadero en un caucho en un estado del norte de México fronterizo con Texas. Como se señaló anteriormente, fue en este país donde se reportó la primera infección natural con dengue, y también llamó la atención que fueran machos los mosquitos encontrados infectados en estado salvaje. La expansión continuó en este país hasta que en 1993 se capturaron en Chiapas, al sur de México. Luego la expansión continuó por Centroamérica, ocupando Guatemala (1996), Honduras, El Salvador, Nicaragua, y Panamá (2007); y en el Caribe se ha reportado en las Islas Cayman, República Dominicana, Cuba y Trinidad (Navarro y col., 2009; Zorrilla y col., 2011) (Figura 3).

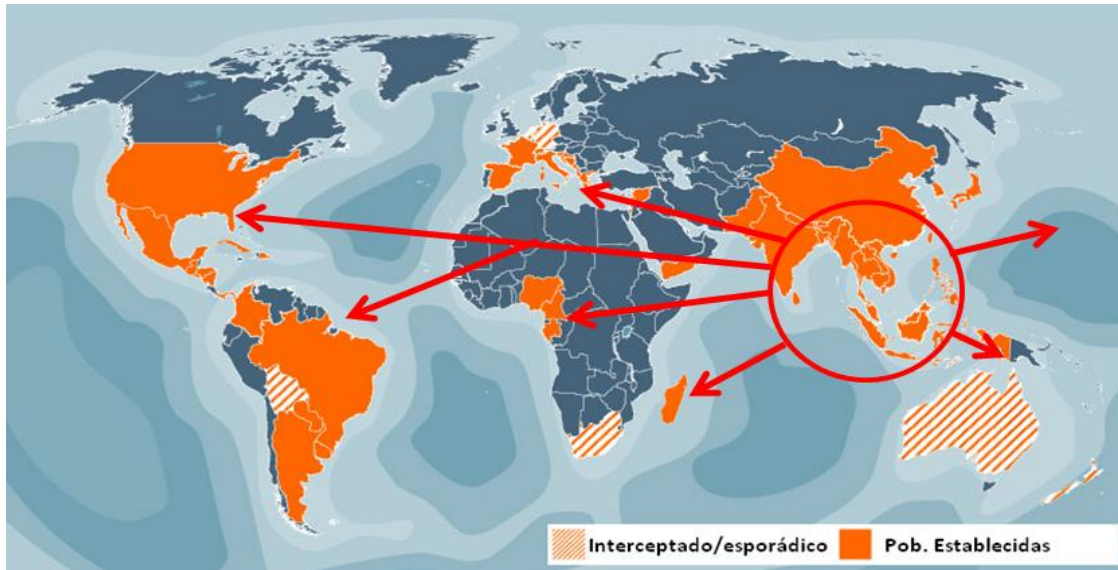


Figura 3. Mapa de distribución a escala mundial de *Aedes albopictus* hasta el año 2008. Se ilustra como se expande la distribución desde la región nativa. Tomado y modificado de <http://tiger-mosquito.info/tiger-mosquito-world-map-united-states-latin-america-europe-africa/>.

En el sur del continente posterior a la introducción en Brasil, *Ae. albopictus* fue reportado en tres sitios en Colombia (Leticia en 1998, Buenaventura en 2001 y Cali en 2007), Paraguay (2007) y mas recientemente en nuestro país (Navarro y col, 2009; Zorrilla y col, 2011) (Figura 4).



Figura 4. Mapa de distribución de *Aedes albopictus* en el continente americano (tomado de Navarro y col, 2009).

- Estudios previos de las trazas moleculares de *Ae. albopictus*

En el año **2002**, **Birungi y Munstermann** estudiaron la estructuración genética de poblaciones de *Ae. albopictus* comparando secuencias del gen ND5 de ejemplares de Brasil y Estados Unidos con poblaciones criadas en laboratorio a partir de muestras provenientes del área de distribución nativa (Madagascar, Malasia, Indonesia y Japón). Estos autores encontraron que las poblaciones estadounidenses poseen estructuración filogenética, mientras que las brasileras no mostraron esta evidencia. Los nueve haplotipos definidos a partir de siete sitios variables fueron codificados (se les asignó un nombre código en que se basa la nomenclatura de los haplotipos en el resto de los trabajos, incluyendo el presente) y determinaron que el más frecuente es el denominado H3, haplotipo que se veía representado en las poblaciones de la distribución nativa de la especie, el sudeste del continente asiático. Este haplotipo estaba presente en todas las localidades estudiadas y por esto, y la razón antes mencionada, se interpreta como un hipotético haplotipo ancestral. Los haplotipos H1 y H2 fueron identificados como haplotipos restringidos a Brasil diferenciados por el cambio existente en el sitio 184 (ver Tabla 4) y el resto de los Haplotipos fueron identificados como únicos para los Estados Unidos (H4, H5, H6 y H7) y Madagascar (H8 y H9). Los autores concluyen que ND5 posee una variabilidad muy baja comparada con otros taxa, además, sugieren introducciones independientes en ambos países y un posible efecto fundador al surgimiento de los haplotipos únicos. Las relaciones entre los haplotipos la muestran en una Red de (Figura 5).

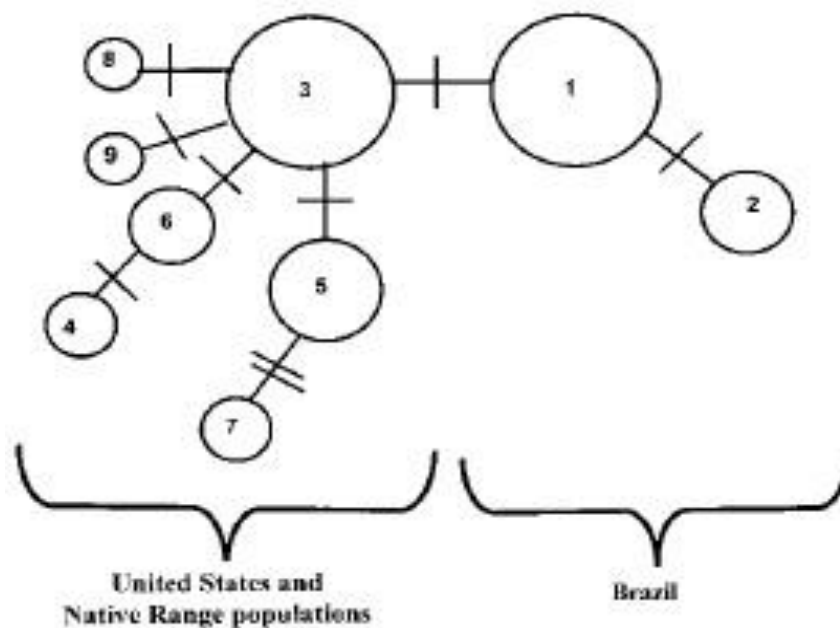
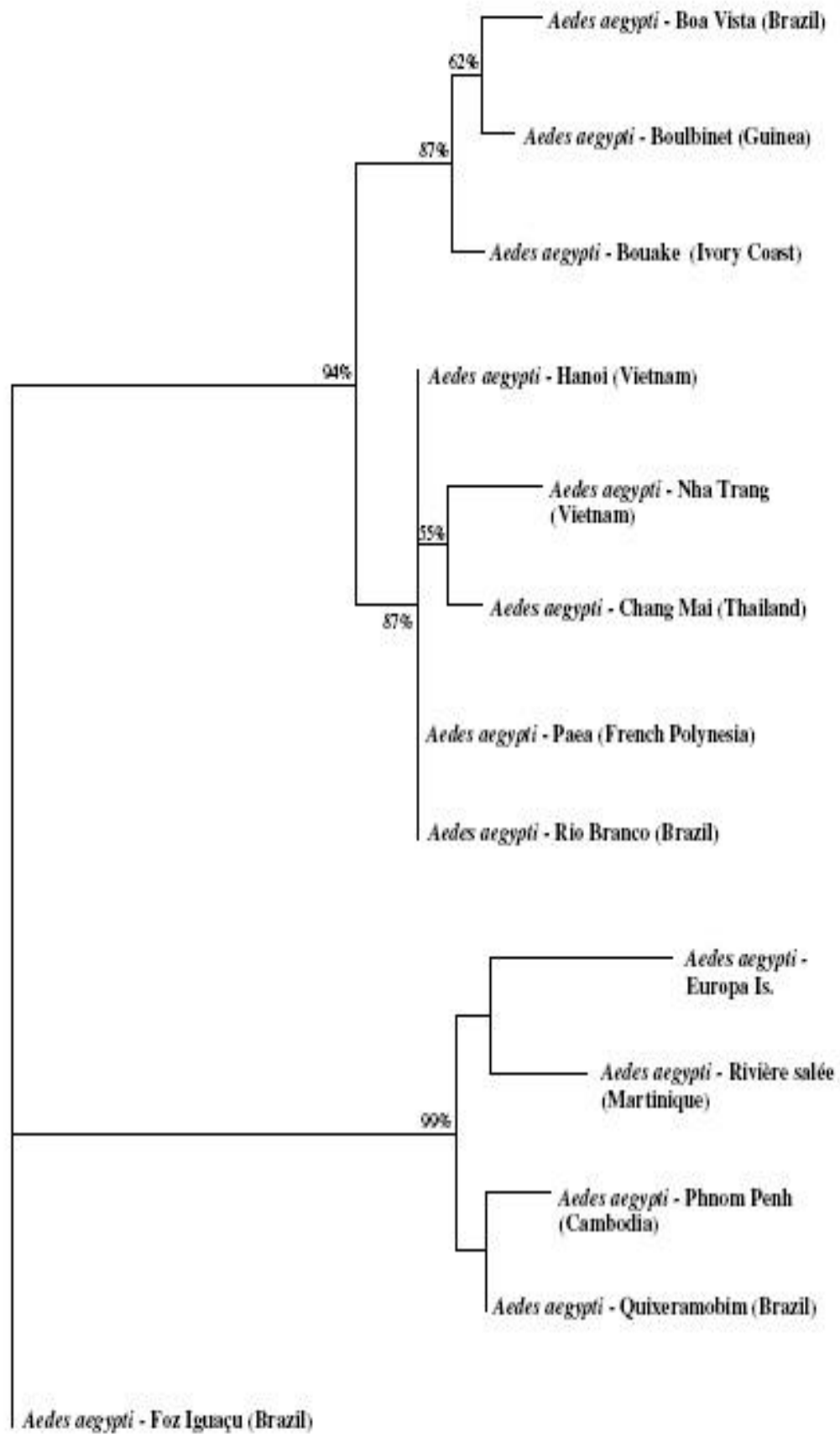


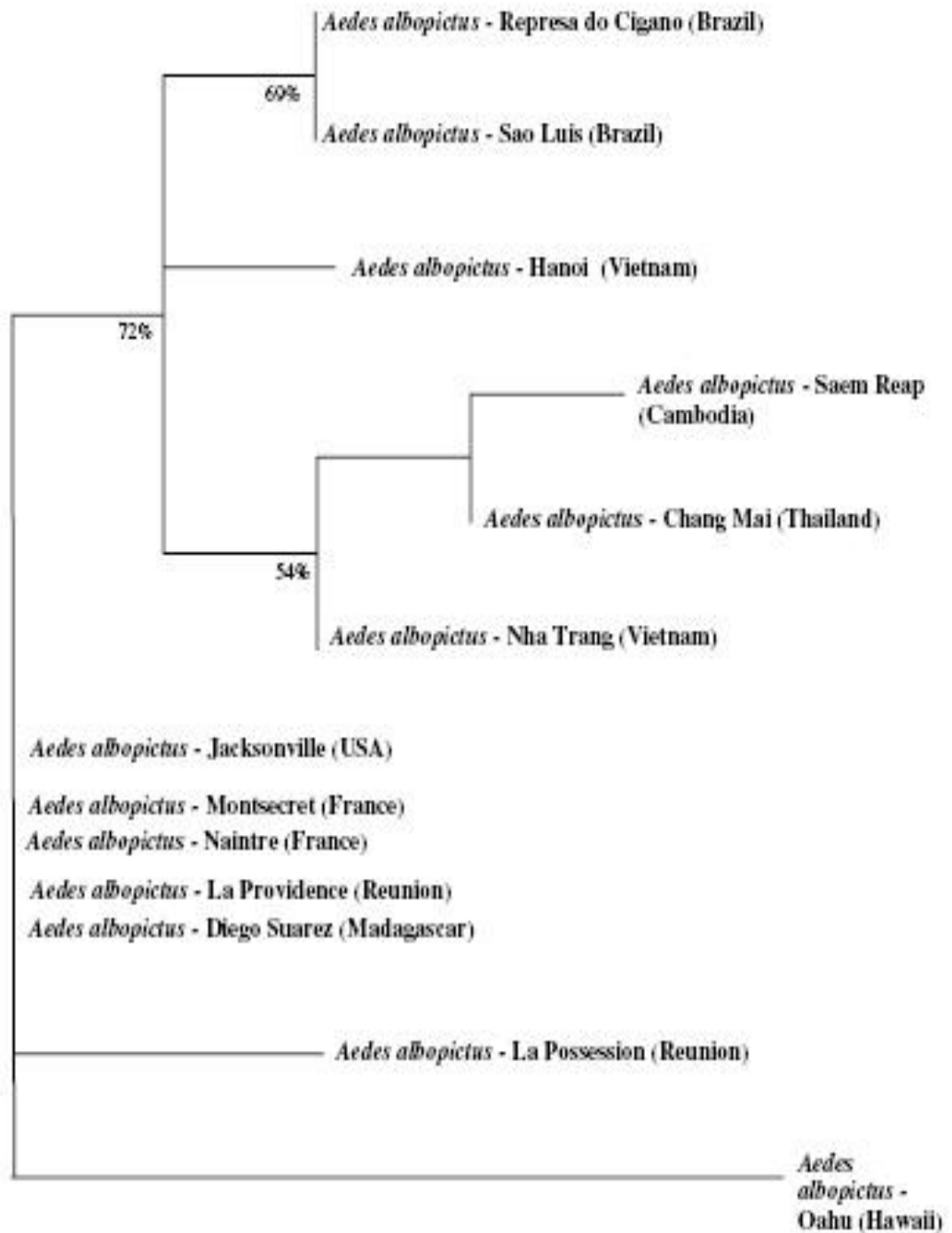
Figura 5. Red de haplotipos obtenida por Birungi y Munstermann. Se muestran los nueve haplotipos encontrados, los países a los que están asociados y la frecuencia con la que se encuentran, proporcional al tamaño de los círculos. Las barras entre círculos muestran hipotéticamente el número de cambios en sitios variables que definen los haplotipos.

Mousson y col. en 2005 estudiaron aspectos filogeográficos de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, utilizando muestras de África, Asia, Europa y América y a partir de secuencias de tres genes mitocondriales (**Citocromo b (Cyt b)**, **COI** y **ND5**). Las secuencias obtenidas para *Ae. albopictus* mostraron 6 sitios polimórficos para Cyt b y COI mientras que solo un sitio variable fue encontrado en ND5; para *Ae. aegypti* se encontraron 34 sitios polimórficos en COI, 16 en Cyt b y 13 para ND5, lo que indica una mayor variabilidad genética es evidente para *Ae. aegypti*. Los resultados obtenidos -ilustrados en las figuras 6a y 6b- indican poca variación entre las poblaciones de *Ae. albopictus*. Para esta especie, la poca resolución que se observa en el árbol (Figura 6b) y los bajos soportes que tienen los clados (uno con poblaciones brasileras, soporte de Bootstrap=69%; y otro con poblaciones del sudeste asiático, Bootstrap=54%) indican que nos encontramos frente a una politomía y no hay estructuración filogenética.

Sugieren que la baja variabilidad viene dada por la reciente expansión geográfica de *Ae. albopictus*. Las secuencias que representan a las poblaciones de *Ae. aegypti* parecen tener una mejor resolución pero se trata de grupos parafiléticos ya que algunas poblaciones de Brasil se relacionan mas con las poblaciones del sudeste asiático en un clado, mientras que la población brasilera de Boa Vista se presenta en otro clado en que su linaje está más estrechamente relacionado con muestras africanas; ambos clados con un soporte de Bootstrap del 87%. En base a ese ultimo clado referido los autores sugieren que en esa localidad brasilera (Boa Vista) las poblaciones de *Ae. aegypti* han permanecido resistiendo las campañas de erradicación, posiblemente desde su introducción en la época colonial, cuando fueron introducidos en los barcos negreros esclavistas.

Resulta interesante que para ambas especies se encuentra mayor número de sitios variables en los genes **COI** y **Cyt b** respecto a los encontrados con **ND5** y es por esto que una de las conclusiones encontradas por estos autores, fue que esos dos marcadores son mas informativos y que **Cyt b** fue el marcador mas informativo y variable de los tres utilizados para *Ae. albopictus*. Los autores también concluyen que la tasa mutacional en estos genes mitocondriales es aproximadamente seis veces mayor en *Ae. aegypti* que en *Ae. albopictus*.





Figuras 6a y 6b. Árboles (Max Likelihood) que ilustran los resultados de Mousson y col. (2005) en los análisis de genes combinados (ND5, COI y *Cytb*) de las especies *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*, respectivamente (tomado de Mousson y col, 2005).

Usmani-Brown y col. en el año 2009, como continuación al trabajo de Birungi y Munsterman de 2002, publicaron una investigación sobre genética de las

poblaciones invasoras de *Ae. albopictus* usando como marcador el gen **ND5**. Las poblaciones estudiadas procedían de Camerún, Hawaii, Italia, Estados Unidos, Brasil y del sudeste asiático. Estos autores realizaron una red de haplotipos (Figura 7) donde fueron hallados cuatro nuevos haplotipos -llegando a 13 conocidos en total para el momento- y reportando 13 sitios variables. No obstante este incremento en el número de haplotipos y sitios variables sigue reportándose baja variabilidad y baja divergencia en las secuencias de Camerún y Hawaii respecto a las que corresponden al área de origen en concordancia con los resultados obtenidos anteriormente para las poblaciones de Estados Unidos y Brasil. Uno de los nuevos haplotipos (H11) es compartido por Hawaii y Camerún y está restringido a esos países. Por otra parte, ninguna de las nuevas poblaciones estudiadas comparte haplotipos con Brasil, lo que apoya la hipótesis de introducciones independientes en el país suramericano.

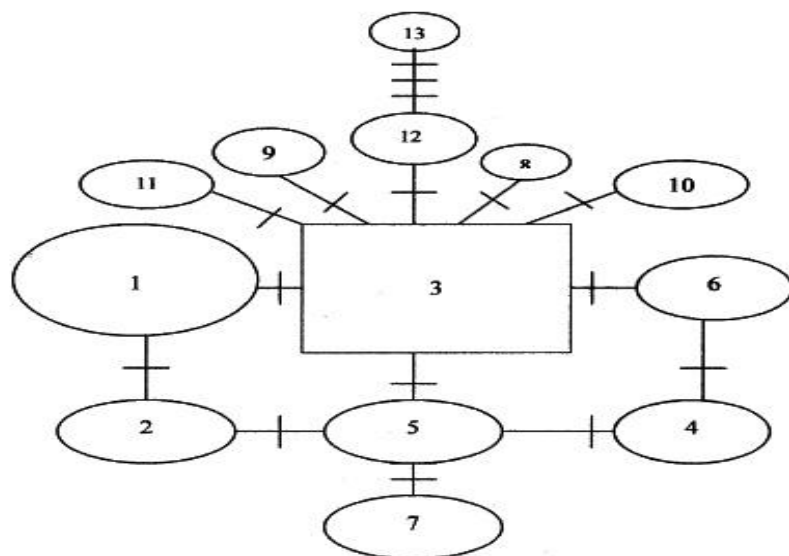


Figura 7. Red de haplotipos de ND5 obtenida por Usmani-Brown y col. Se muestran los 13 haplotipos identificados y las frecuencias en las que se encuentran (relativas al tamaño de las figuras). Cada línea corta perpendicularmente a las líneas que conectan las figuras de los haplotipos representa un cambio en un par de bases entre los haplotipos.

Maia y col. en 2009, reportan poca variación genética existente en las poblaciones de *Ae. albopictus* de Manaus, Brasil; utilizando también el gen mitocondrial ND5 como base de los análisis. Estos autores señalan dos haplotipos en las poblaciones muestreadas en la ciudad, H1 (propio de Brasil y más frecuente dentro de las poblaciones) y H3 (compartido con Estados Unidos y Asia). Por alguna razón, los autores cambiaron el nombre del haplotipo nativo H3 y le colocaron H2, lo cual puede generar confusiones en cuanto a la nomenclatura de los haplotipos originalmente establecida por Birungi y Munstermann (2002,) ya que en esa nomenclatura H2 es un haplotipo restringido para poblaciones brasileñas.

De acuerdo a los resultados obtenidos, los autores atribuyen la baja variabilidad a una reciente introducción de la especie en la ciudad de Manaus bajo condiciones de introducción y establecimiento típicas de un efecto fundador y que por ende no ha transcurrido tiempo suficiente para que se fijen cambios genéticos entre las poblaciones y no a un flujo genético ininterrumpido entre ellas.

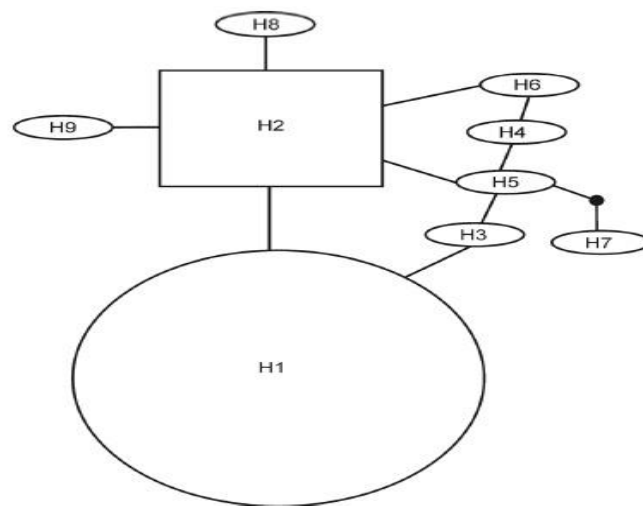
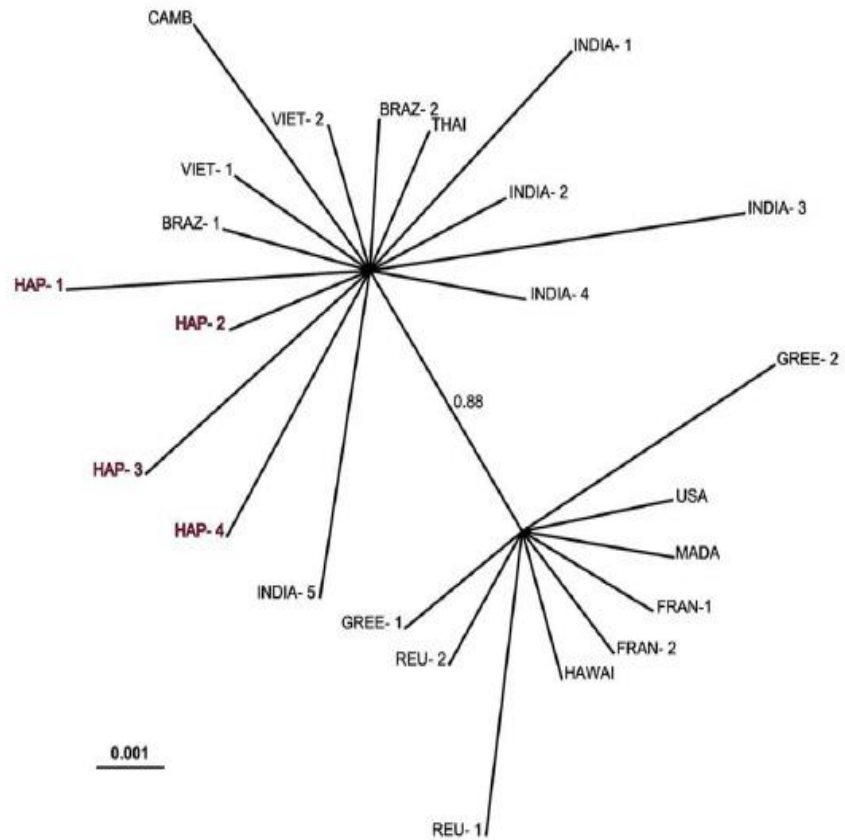


Figura 8. Red de haplotipos obtenida por Maia y col (2009). Se muestran los dos haplotipos encontrados en Brasil (figuras de mayor tamaño-mayor frecuencia) y las relaciones entre estos y los otros reportados por Birungi y Munstermann (2002). En esta red H2 = H3 *sensu* Birungi & Munstermann (2002): ver explicación en texto.

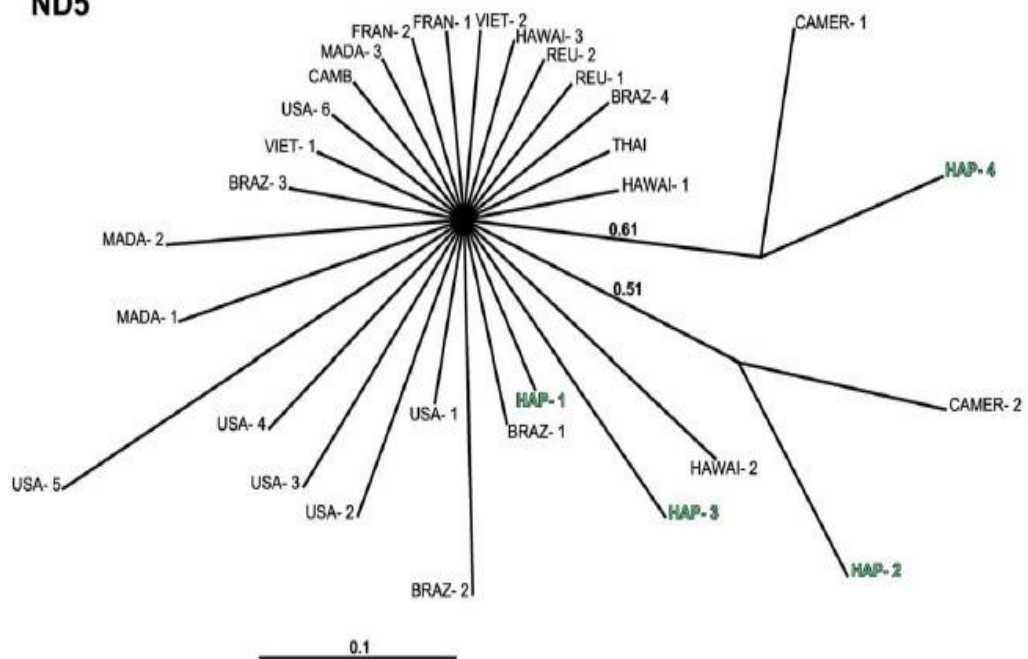
En 2011, Kamgang y col. reportaron un nuevo haplotipo y la estructuración genética de las poblaciones de *Ae. albopictus* en Camerún, haciendo uso de microsatélites -que mostraron polimorfismo y estructuración moderada entre las poblaciones- y de secuencias de los genes mitocondriales COI y ND5 en las que se encontraron cuatro haplotipos para cada gen mitocondrial (bajo nivel de polimorfismo según el número de muestras analizado, consistente con estudios previos). De los haplotipos de ND5 que ellos reportan con una nomenclatura propia (H1-H4), tres coinciden con haplotipos reportados anteriormente: lo que estos autores identifican como “H1”, “H2” y “H4” serían **H3**, **H11** y **H10** según la nomenclatura establecida por Birungi y Munstermann en 2002; el otro haplotipo, “H3” es un nuevo reporte. El análisis filogenético basado en la secuencias de COI dio como resultado que las poblaciones de Camerún están más emparentadas con poblaciones de otros países tropicales (posible origen de introducción) (Figura 9a). Con ND5 no hay resolución (estructuración filogenética) aparente.

Kamgang y col. señalan varias introducciones independientes de la especie en Camerún y sugieren un muestro mas extensivo en la región, sobre todo en la localidad Buea, donde se encuentran dos de los cuatro haplotipos (incluyendo el nuevo) y que es una zona con mucha interacción económica con Nigeria, que es donde se reportó por primera vez *Ae. albopictus* en el continente africano en la década de 1990.

COI



ND5



Figuras 9a y 9b. Árboles circulares obtenidos por Kamgang y col. mediante un análisis filogenético utilizando la metodología de análisis Bayesiano de secuencias de COI y ND5 respectivamente.

Navarro y col. en 2009 reportaron la especie por primera vez en Venezuela cuando lo colectaron en floreros en el Cementerio General del Sur en Caracas y en 2013 (en prensa) realizan una aproximación al rastro genético de *Ae.albopictus* usando secuencias del gen ND5 en busca de los posibles orígenes geográficos de la introducción de la especie en Venezuela y Colombia. Se reportaron dos nuevos haplotipos H14 para Venezuela y H15 para Colombia y sin haplotipos en común para estos dos países, aunque sí comparten un cambio posicional común los haplotipos H14 y H15 en el sitio variable 92 (Tabla 4). Los análisis filogenéticos -realizados bajo las metodologías de Maxima Parsimonia (MP), Maxima verosimilitud (ML) y Neighbor Joining (NJ)- no son informativos debido a la falta de resolución en los resultados (politomías); mientras que mediante una red de haplotipos basada en Parsimonia Estadística (Figura 10) se sugiere la hipótesis de introducción independiente en ambos países, con al menos dos eventos de introducción igualmente independientes en Colombia, uno vía río Amazonas (H1) y otra vía el Puerto de Buenaventura en el Pacífico (H11). En Colombia no se reporta el haplotipo considerado nativo (H3). En Venezuela la introducción de H3 es probable viniendo directamente de la región nativa (Asia) o de poblaciones fundadoras de EUA o Brasil. Esto requeriría de estudios posteriores donde se incremente tanto el número de localidades como el de muestras o se haga uso de otro marcador (COI, Cyt b, Microsatelites, loci nucleares; por ejemplo) para tener una hipótesis mas sustentada.

Navarro y col. aclaran y ajustan a la nomenclatura inicial (*sensu* Birungi&Musntermann 2002 y Usmani-Brown y col 2009) los haplotipos señalados en Maia y col 2009 y Kamgang 2011. Se agregan tres nuevos haplotipos a la lista (dos de este estudio, **H14** y **H15**, mas el **H16** de Kamgang y col, 2011) y los resultados son congruentes con los estudios anteriores, reportando una baja variabilidad poblacional para el gen ND5 que probablemente se deba a la rápida y reciente expansión de la distribución de la especie, o a la presencia de homogenización mitocondrial por efecto

de *Wolbachia* (Armbruster y col 2003) como una hipótesis alterna, lo cual ha sido detectado en *Ae. albopictus* y otras especies (Dobson y col, 2001; Armbruster y col, 2003; Islam y Dobson, 2006; Tortosa y col, 2008)

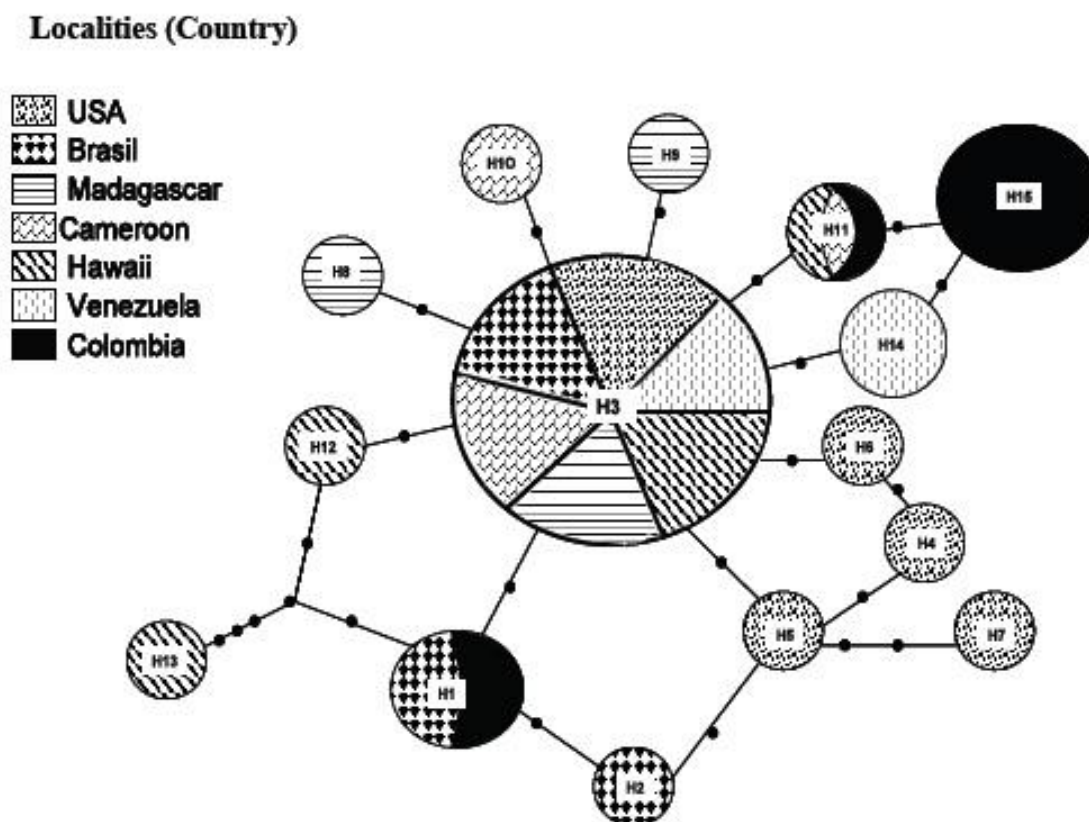


Figura 10. Red de haplotipos obtenida por Navarro y col. 2013 (en prensa). Se muestran los 16 haplotipos, las frecuencias con que se encuentran (relativas al tamaño de los círculos), los países en que se encuentran y los cambios de nucleótidos que hay entre haplotipos representados por los puntos sólidos sobre las líneas que unen los círculos.

En 2011, Zitco y col. realizan un estudio sobre la variación genética de *Ae. albopictus* en el este del mar Adriático, mas específicamente en Croacia y Montenegro reportando al haplotipo H3 en el area de estudio mencionada. Lo propio hacen Haddad y col., (2012) realizan una evaluación de Poblaciones de *Ae. albopictus* en el Líbano con base al potencial riesgo de brotes de arbovirosis, reportando de igual forma a H3 en este país.

Recientemente, Raharimalala y col. (2012) realizan un estudio biogeográfico sobre los dos mayores vectores de arbovirus en Madagascar: *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*. Realizaron muestreos durante dos años en 15 localidades. *Ae. aegypti* fue

encontrado solo en 6 de esas 15 localidades, mientras que *Ae. albopictus* fue colectado en 13. El análisis filogenético realizado bajo la metodología de ML y utilizando secuencias de ND5 y COI concatenadas. El resultado muestra a las poblaciones Madagascar y el Océano Indico (La R union), junto con las de Estados Unidos, Francia y Hawaii que se encuentran en un clado poco resuelto, pero separadas de las de Brasil y el Sudeste asiático (Figura 11), separación en dos grupos está bien apoyada (Bootstrap=84%). Las secuencias de ND5 y COI, ni por separado ni concatenadas, fueron lo suficientemente informativas como para establecer relaciones o una estructura filogenética definida en las poblaciones de Madagascar.

Ae. albopictus se encontró con mas frecuencia y en mayor abundancia que *Ae. aegypti* y además, se encontró mas asociado a zonas urbanas y peri urbanas, mientras que *Ae. aegypti* se encontraba en las zonas selváticas de la isla o bien en las zonas áridas y semiáridas.

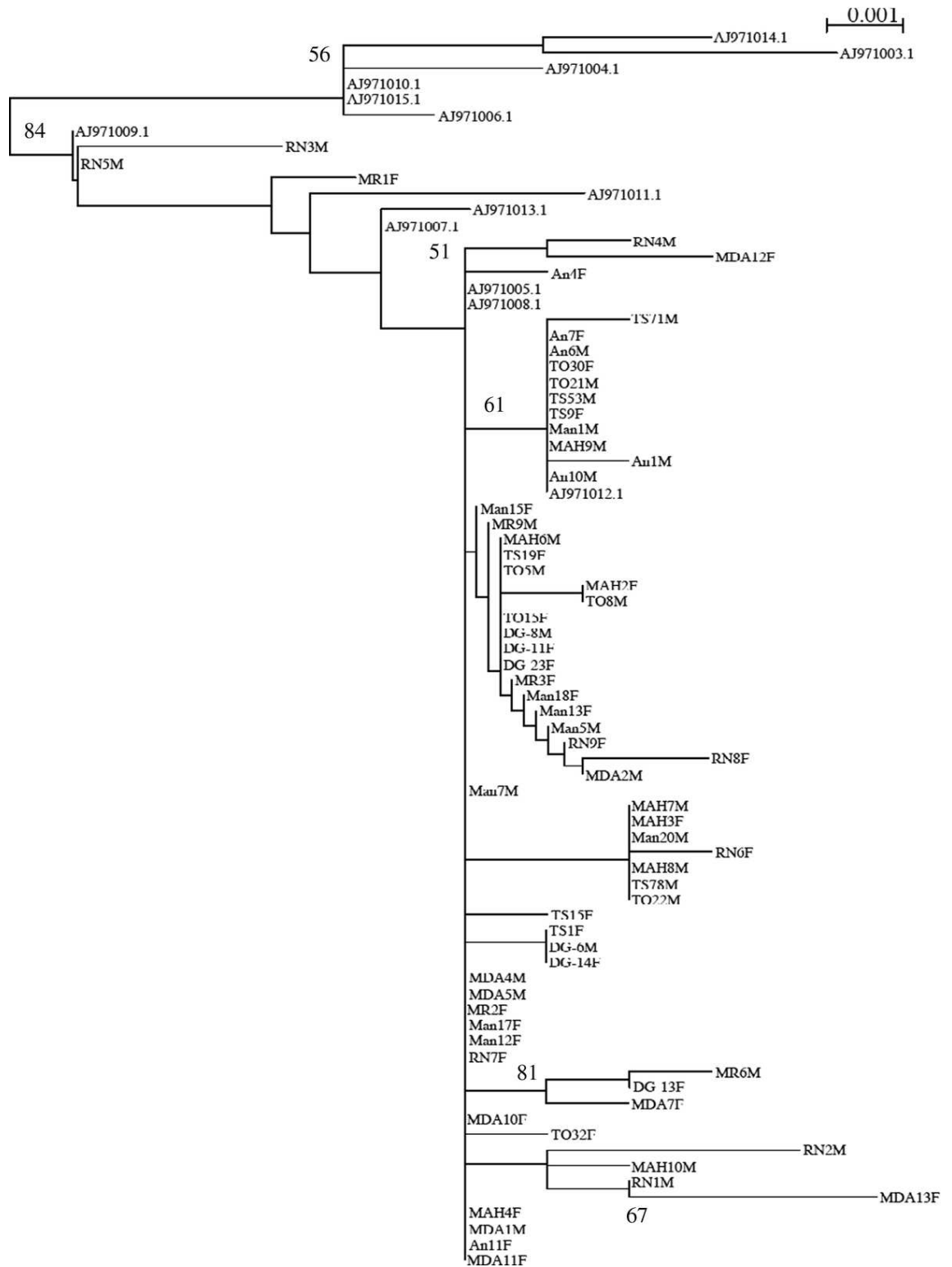


Figura 11. Reconstrucción filogenética de *Ae. albopictus* obtenida por Raharimalala y col, 2012 mediante el análisis de secuencias de ND5 y COI comcatenadas, usando ML. Se muestran poblaciones de Madaascar y La Réunion mas relacionadas con poblaciones de E.E.U.U., Francia y Hawai.

Finalmente, **Porreta y col. en 2012** presentan un estudio, que puede ser tomado como uno de los estudios con mayor relevancia en lo que concierne a la Filogeografía de *Aedes albopictus*. Mediante el uso del Modelamiento de Distribución de Especies y herramientas filogeográficas reconstruyen la historia glacial de la especie en el sudeste asiático. A diferencia de Birungi y Munstermann, Porreta y col. utilizan para los análisis poblaciones colectadas directamente en campo y no colonias de laboratorio. Los estudios posteriores al de Birungi y Munstermann (2002) señalaban como único haplotipo para la región nativa de la especie (Sudeste asiático) a H3. Porreta y col. usaron secuencias de ND5 y COI combinadas para los análisis y encuentran 62 haplotipos presentes únicamente en la región, además señalan que todos son únicos (Figura12).

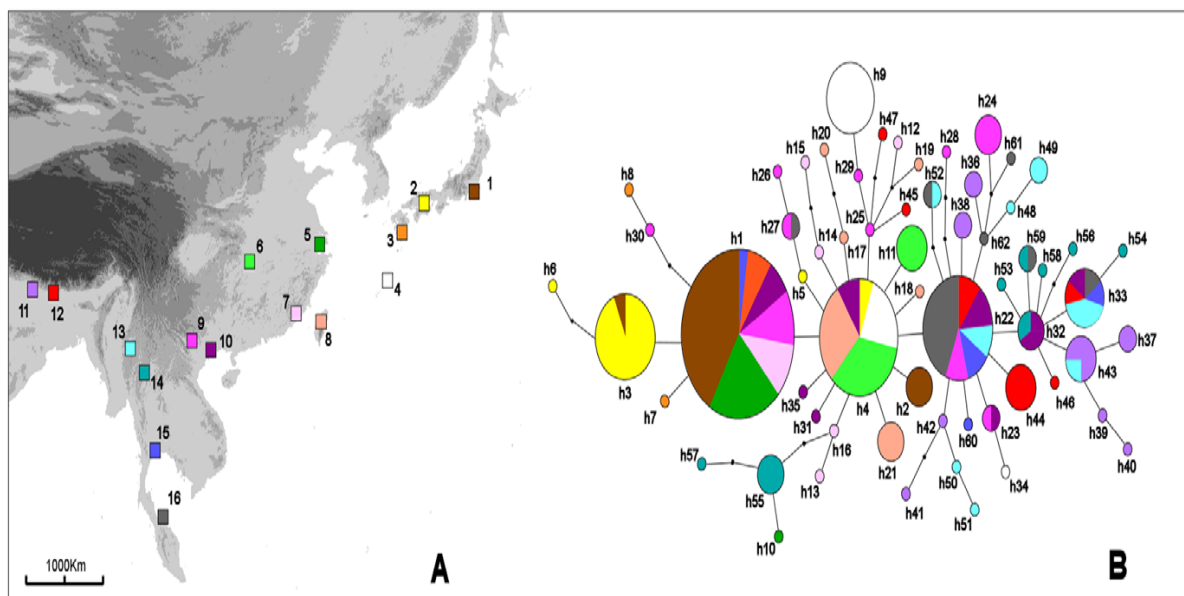


Figura 12. Red de haplotipos de *Ae. albopictus* del sureste asiático obtenida mediante el análisis de secuencias de ND5 y COI concatenadas. Los tamaños de los círculos se asocian con las frecuencias de los haplotipos en la población y los colores con las localidades estudiadas, representadas en el mapa. Las líneas representan los cambios ensitos variables que definen los haplotipos y los interconectan.

Birungi y Munstermann señalan que el único haplotipo presente en el sudeste asiático es H3 y Armbruster y col. sugieren que la baja variabilidad general de *Ae.*

albopictus es causada por una doble infección por la bacteria endosimbionte *Wolbachia* que produce incompatibilidad citoplasmática, afectando directamente el fitness de la especie. A partir de este trabajo Porreta y col. infieren que esas conclusiones anteriores pueden estar producidas por un sesgo metodológico ya que las colonias de laboratorio no representaban la diversidad genética natural del mosquito en el sudeste asiático. Al observar esta nueva cantidad de haplotipos reportados a partir de las secuencias concatenadas, vemos que la variabilidad de haplotipos en el área es mucho mayor de lo que se conocía.

No se encontró estructuración en las poblaciones estudiadas ni alguna asociación entre haplotipos y la distribución geográfica. Aparentemente las poblaciones muestreadas son bastante continuas. En concordancia, todos los autores coinciden en que existe una muy baja variabilidad genética en las poblaciones de *Aedes albopictus* estudiadas, basándose la mayoría en secuencias de ND5. Este marcador, hasta el momento, brinda información sobre solo 16 haplotipos (según nomenclatura de Birungi y Munstermann, 2002; Usmani-Brown y col, 2009; Navarro y col, 2013, en prensa) en todas las poblaciones estudiadas a nivel mundial. Esta información puede cambiar con los datos aportados por Porreta y col. y Raharimala y col.

Con el objetivo de verificar esta hipótesis, en el presente trabajo realizan análisis usando las secuencias de ND5 de Navarro y col (2013, en prensa), junto con las secuencias disponibles en GenBank de los autores reseñados anteriormente, a fin de complementar la información que se tiene sobre la cantidad de haplotipos existentes para el gen ND5, las relaciones que existen entre ellos y si con esta nueva información podemos reforzar o generar nuevas hipótesis sobre las vías de introducción de *Ae. albopictus* en Venezuela y Colombia.

HIPÓTESIS

Conociendo la baja variabilidad que presenta ND5 para la especie *Ae. albopictus* y manejando la información sobre los nuevos registros y y secuencias disponibles, se intenta inferir las posibles hipótesis de origen poblacional en la introducción de esta especie al norte de América del Sur (Colombia y Venezuela).

De acuerdo con los mecanismos y ecología de introducción e invasión de *Aedes albopictus* conocidos en el continente y el mundo, nuestra hipótesis se basa en que Colombia y Venezuela, con diferentes puertos importantes y sus conexiones comerciales con USA, Asia y Brasil deben tener múltiples introducciones las cuales deberían ser inferidas o verificables mediante las conexiones de cambios mutacionales y/o haplotipos compartidos

OBJETIVOS

General.

- Evaluar la variabilidad genética de *Ae albopictus*, usando fragmentos de ND5 y determinar si la información filogenética y filogeográfica permite inferir sobre la ruta de su introducción en Venezuela y Colombia haciendo uso de las nuevas secuencias disponibles para este marcador.

Específicos.

- Determinar la variabilidad y grado de polimorfismo del fragmento del gen ND5 en las poblaciones de Venezuela y Colombia, y estimar su información filogeográfica al incluir las poblaciones analizadas de otras regiones.
- Examinar las secuencias de ND5 de Venezuela y Colombia en conjunto con las nuevas secuencias disponibles producto de estudios recientes y estructurar las relaciones entre los haplotipos conocidos en base a los nuevos registros.
- Inferir las hipótesis de rutas de entrada de la especie en el norte de América del Sur mediante las poblaciones de Venezuela y Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras y poblaciones.

Las muestras de Venezuela fueron colectadas en distintas localidades de Caracas que se muestran en la Tabla 1. El resto de las muestras procesadas fueron colectadas y enviadas directamente de Colombia por convenio de investigación entre las partes. Se tiene un total de 170 muestras, de las cuales 62 son de Venezuela (2 del Cementerio General del Sur, 30 del Jardín Botánico, 30 del Parque del Este (Parque Generalísimo Francisco de Miranda) y 108 de Colombia (36 de Buenaventura, 36 de la Vereda la Buitrera, 36 de Santiago de Cali (Universidad del Valle). Las fechas de reporte de *Ae. albopictus* en los países señalados son 1998, 2001 (Leticia y Buenaventura, Colombia respectivamente) y 2009 (Venezuela.)

Tabla 1. Localidades donde se realizaron las colectas de las poblaciones de *Ae albopictus* estudiadas y su información geoespacial.

Localidades	País/Estado	Coordenadas	Año de colecta	Estadío colectado
Jardín Botánico	Venezuela/Caracas	10°29'41.72" N 66° 53' 17.67" W	2010	Larvas y adultos
Cementerio General del Sur	Venezuela/Caracas	10°28'46.4" N 66°55'09.2" W	2009	Larvas
Parque del Este	Venezuela/Caracas	10°29'25.1" N 66°50'18.5" W	2010	Larvas y adultos
Buenaventura	Colombia	03°53' 07.7" N 77° 01' 32.7" W	2010	Adultos
Vereda la Buitrera	Colombia	03° 22' 19.9" N 76° 34' 11.8" W	2010	Adultos
Santiago de Cali	Colombia	03° 22' 24.22"N 76° 31' 49.51"W	2010	Adultos

Muestreo.

La colecta de muestras fue realizada en parques y zonas de Caracas donde la vegetación se ajusta a lo reportado para esta especie en el país y se identificaron sitios de cría y actividad de adulto para esta especie, además del cementerio General del Sur, donde fue colectado por primera vez en el país (Zorrilla y col. 2011). Los adultos fueron capturados directamente con aspiradores mecánicos al posarse sobre un atractante humano y las larvas fueron tomadas de los criaderos “naturales” (p.e. huecos en troncos, bromelias, tallos de bambú rotos) y artificiales (p.e. recipientes descartados, floreros y macetas de plantas). Las larvas se criaron en el insectario, alimentándolas con comida de peces y una vez que alcanzaron el estado adulto, se confirmó su identificación y posteriormente fueron preparados para la extracción del ADN (Navarro, 2009b; Zorrilla y col 2011; Quintero, 2010).

Procedimientos de Laboratorio.

A los individuos adultos se le disecaron las tres patas del lado derecho y se almacenaron en un tubo con 25 µL de buffer TE en refrigeración (-20°C). El cuerpo del mosquito se montó como voucher y se almacenó en la colección del Laboratorio de Biología de Vectores y Parásitos del Instituto de Zoología y Ecología Tropical (LBV-MBUCV), Facultad de Ciencias-UCV.

La extracción de ADN fue realizada de las tres patas según el protocolo descrito por Quintero (2010). Las amplificaciones por PCR se realizaron bajo las condiciones que indican las Tabla 2, tomadas directamente de Quintero, 2010.

Tabla 2. Protocolo y condiciones (programa del termociclador) para la amplificación por PCR del gen mitocondrial ND5 (Tomado de Quintero, 2010).

Cocktail	Volumen ul	Condiciones de PCR
H ₂ O molecular	10.5	Un ciclo 95°C por 5 minutos
Buffer de reacción	5	35 ciclos a 94° C por 30 segundos
MgCl ₂ (25mM)	4	50°C por un minuto
Primer (+)	0.75	72°C por 30 segundos
Primer (-)	0.75	Extensión final a 72°C por 10 minutos.
DNTP's (10mM)	0.5	
Taq ADN polimerasa	0.5	
ADN templado	3	
Volumen final:	25	

Para amplificar el gen **ND5** los primers que utilizados fueron los siguientes (tomado de Quintero, 2010):

•**ND5 (+) 6500 (Lectura directa- Forward):**

5'-TCCTTAGAATAAAATCCCGC-3'.

•**ND5 (-)7328 (Lectura reversa- Reverse):**

5'-GTTTCTGCTTTAGTTCATTCTCT-3'.

Luego de las amplificaciones, los productos de PCR fueron corridos en un gel de agarosa en solución al 1 - 1,2% con Buffer TBE (Sigma, Tris Borato 0.445 M; EDTA 0.01 M, pH 8.3; 5X concentrado) (Quintero, 2010), usando el revelador SyBr Green para confirmar la amplificación. Se usaron entre 70 y 90 voltios para la corrida electroforética.

Finalmente se procedió a la purificación y secuenciación de los productos de PCR. Esto se realizó en el Centro de Biodefensa y Enfermedades Emergentes, University of Texas Medical Branch (UTMB), mediante convenio de investigación entre el LBV y la UTMB; y en el Centro de Secuenciación y Análisis de Ácidos Nucleicos (CeSAAN) del IVIC.

Análisis de secuencias de ND5.

Las secuencias resultantes fueron revisadas y asociadas en Contig usando el software Sequencher 4.2 (Gene Codes, Ann Arbor, MI) y editadas en MacClade (Maddison y Maddison, 2002). Posteriormente, fueron alineadas entre ellas y también con secuencias disponibles en el GenBank NCBI utilizando ClustalW (Thompson y col., 1994) para así producir las matrices en los formatos .FASTA y .NEXUS que fueron sometidas a los análisis posteriores. Finalmente fueron editadas con BioEdit (Hall, 1999), de manera tal que las secuencias quedaran perfectamente alineadas y con una longitud tan similar como fuese posible,

Las secuencias de ND5 que se descargaron de GenBank fueron las siguientes (especificando autor y códigos de acceso respectivos) incluyendo muestras de los siguientes países: Estados Unidos, Brasil, Hawái, Francia, Italia, Croacia, Líbano, Camerún, Madagascar, La Reunión y, por el área de distribución nativa de la especie, Tailandia, Japón, China, Bután y Vietnam (Figura 16).

- **Birungi y Munstermann, 2002:** AY049968 – AY049976
- **Mousson y col, 2005:** AJ971016 – AJ971028
- **Usmani-Brown y col, 2009:** EU118294 – EU118297
- **Kamgang y col, 2011:** JF309321 – JF309324
- **Zitko y col, 2012:** HQ906852
- **Haddad y col, 2012:** JX912502
- **Raharimalala y col, 2012:** JN406733 – JN406793; JN406827 – JN4068232 y JN406839 – JN406842
- **Porreta y col, 2012:** JQ436947 – JQ436959

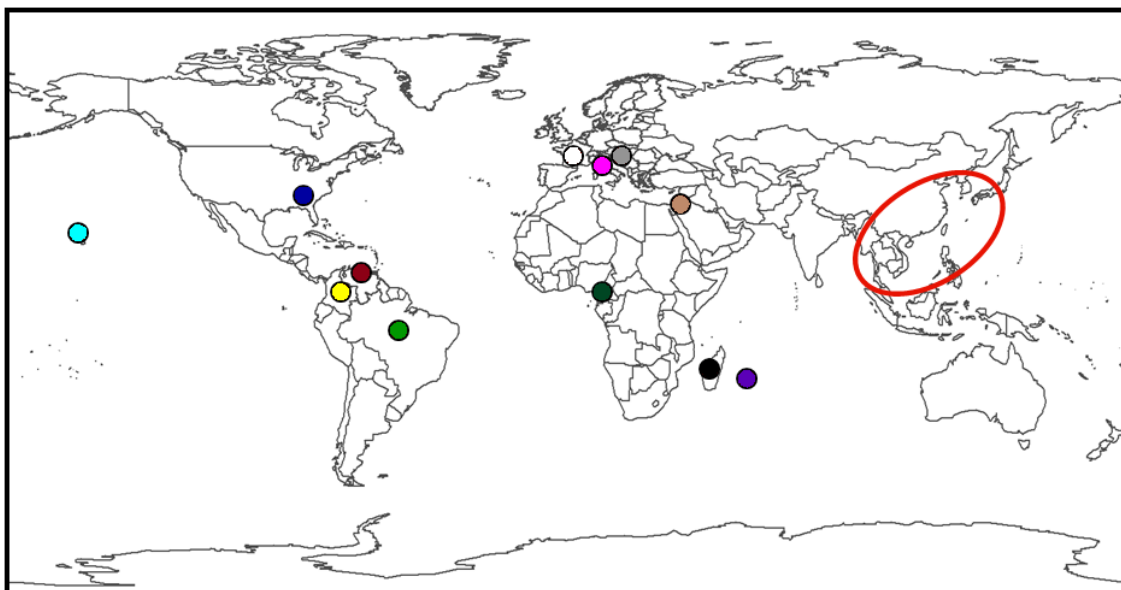


Figura 13. Mapa de localidades asociadas a las secuencias de ND5 utilizadas en este trabajo. Los colores son los que identifican a las muestras según la localidad a lo largo del texto. El óvalo rojo señala a los países de la distribución nativa de la especie representada por muestras provenientes de Tailandia, Japón, China, Bután y Vietnam.

Mediante el software DNAsp (Rozas y Rozas, 1999) se evaluaron los parámetros poblacionales que describen las secuencias obtenidas en términos de variabilidad: Diversidad de nucleótidos (π), diversidad de haplotipos (h), pruebas de neutralidad genética (prueba D de Tajima, prueba F de Fu).

Los análisis filogenéticos fueron realizados en PAUP 4.0b10 (Swofford, 2002), con el método de Máxima Parsimonia (MP), utilizando la construcción de árboles de Wagner, con 1000 replicas usando corte y reconexión de ramas (TBR) en la búsqueda heurística de islas de árboles. Se realizó un remuestreo de la matriz mediante un análisis de Bootstrap (Felsenstein, 1985) con 500 réplicas a fin de dar soporte a los resultados obtenidos. Finalmente se obtuvo un consenso estricto de la isla de árboles obtenidos. También se realizó un análisis de distancia por Neighbor Join (NJ).

Posteriormente, usando el software TCS (Clement y col, 2000), se realizó la construcción de una Red de Haplotipos con las secuencias de ND5, basada en

Parsimonia estadística. Este análisis fue usado debido a que los análisis filogenéticos mencionados antes han presentado poca resolución en sus resultados y por esto, en busca de patrones de distribución geográfica que se relacionen con los haplotipos se construye la red de haplotipos.

RESULTADOS

Análisis de secuencias de ND5.

Se alinearon un total de 289 secuencias de ND5 (62 de Venezuela, 108 de Colombia y el resto (119) de GenBank) con una longitud de 364 pares de bases (bp). Esta longitud, menor que la usada por autores como Birungi y Munstermann (405bp), Navarro y Col. (402bp) o Raharimalala y col (449 bp), se debe a que algunas secuencias fueron reportadas por sus autores con una longitud mas corta, por ejemplo las de Zitco (371bp), Kamgang y col. (375bp) y Porreta y col. (364bp).

Para las secuencias de Venezuela y Colombia poseen un Contenido de C+G del 23%, para el alineamiento general fue de 22% (Secuencias ricas en A+T). Al revisar los alineamientos se encuentran 30 sitios polimórficos (trece de estos sitios variables son transversiones) y 31 haplotipos (15 nuevos) en total (Tabla 4)

La Tabla 3 nos indica las localidades donde fueron colectadas los 31 haplotipos ya organizadas según la nomenclatura Comenzada por Birungi y Munstermann, 2002. La totalidad de los haplotipos nuevos son reportes únicos para las localidades donde se identifican. Las transversiones mencionadas arriba se encuentran en H13 (4 transversiones), H16, H17, H26 (1 transversión cada uno), H27, H28, H29 (2 transversiones cada uno), H30 (1 transversión) y H31 (3 transversiones). Algunos de estos cambios son compartidos por estos Haplotipos (Tabla 4)

Tabla 3. Haplotipos de ND5 en *Ae.albopictus*, localidades y códigos de identificación (Continúa en la siguiente página).

Haplotipos	Localidad (País)	Código
H1	<u>Birungi y Munstermann (2002):</u> Anita Garibaldi, Praia de Fora, Jacarepagua, Manaus, Represa do Cigano, São Luís (Brasil). <u>Navarro y col. (2013):</u> La Buitrera, Buenaventura, Cali (Colombia). <u>Porreta y col. (2012):</u> Phuntsholing (Bután)	B&M_JCP1
H2	<u>Birungi y Munsterman (2002):</u> Anita Garibaldi y Praia de Fora, (Brasil).	B&M_AG1
H3	<u>Birungi y Munstermann (2002):</u> Jacksonville, 3D Salvage, AAA Salvage, Oslo Mall y Atlanta (USA). Malaysia Hanoi (Vietnam). Anita Garibaldi, Praia de Fora, Jacarepagua, Manaus, Represa do Cigano, São Luís (Brasil). <u>Mousson et al. (2005):</u> Jacksonville (USA), Chiang Mai (Tailandia), Seam Reap (Camboya), Diego Suarez (Madagascar), MontSecretyNaintré (Francia), NhaTrang (Vietnam), Oahu (Hawaii) y La Possession y La Providence (Réunion). <u>Usmani-Brown y col. (2009):</u> Rome (Italy) <u>Navarro y col. (2013):</u> Caracas (Venezuela) <u>Zitco y col. (2011):</u> Croacia <u>Kamgang y col. (2011):</u> Buea, Camerún, Central Africa <u>Haddad y col. (2012):</u> Líbano <u>Raharimala y col. (2012):</u> Madagascar	B&M_NO1
H4	<u>Birungi & Munstermann (2002):</u> Florida 3D Salvage y Jacksonville(USA)	B&M_3DS6
H5	<u>Birungi & Munstermann (2002):</u> Florida 3D Salvage(USA)	B&M_3DS11
H6	<u>Birungi & Munstermann (2002):</u> Oslo Mall (USA)	B&M_OM7
H7	<u>Birungi & Munstermann (2002):</u> Florida AAA Salvage (USA) <u>Porreta y col. (2012):</u> Shantou (China)	B&M_AAS13
H8	<u>Birungi & Munstermann (2002):</u> Madagascar	B&M_MD1
H9	<u>Birungi & Munstermann (2002):</u> Madagascar	B&M_MD34

H10	<u>Usmani-Brown y col. (2009):</u> Santchou, Mbalmaya y Douala(Camerún). <u>Kamgang y col. (2011):</u> Bertoua, Camerún, África Central	UsmBrown_MB17
Haplotipos	Localidad (País)	Código
H11	<u>Usmani-Brown y col. (2009):</u> Santchou, Mbalmaya y Douala(Camerún) Malama Ki y Nanawale(Hawaii, USA) <u>Navarro y col. (2013):</u> Buenaventura (Colombia). <u>Kamgang y col. (2011):</u> Pouma, Camerún, Central Africa <u>Raharimala y col. (2012):</u> Madagascar <u>Porreta y col. (2012):</u> Chiang Mai (Tailandia)	UsmBrown_DL5
H12	<u>Usmani-Brown y col. (2009):</u> MalamaKiyNanawale, (Hawaii, USA)	UsmBrown_HN15
H13	<u>Usmani-Brown y col. (2009):</u> MalamaKi yNanawale, (Hawaii, USA)	UsmBrown_HN3
H14	<u>Navarro y col. (2013):</u> Caracas (Venezuela)	Caracas_H14_01
H15	<u>Navarro y col. (2013):</u> La Buitrera, Buenaventura, Cali (Colombia)	Colombia_H15_01
H16	<u>Kamgang y col. (2011):</u> Buea,Camerún, África Central	Kamg_BUEA16
H17	<u>Porreta y col. (2012):</u> Lampag (Tailandia)	Porreta_THLam5
H18	<u>Porreta y col. (2012):</u> Lampag (Tailandia)	Porreta_THLam1
H19	<u>Porreta y col. (2012):</u> Nagasaki (Japón)	Porreta_JNag3
H20	<u>Porreta y col. (2012):</u> Shantou (China)	Porreta_Shan4
H21	<u>Porreta y col. (2012):</u> Chiang Mai (Tailandia)	Porreta_THCh12
H22	<u>Porreta y col. (2012):</u> TanegaShima (Japón)	Porreta_JTan15
H23	<u>Porreta y col. (2012):</u> Phuntsholing (Bután)	Porreta_Phu6
H24	<u>Porreta y col. (2012):</u> Gelephu (Bután)	Porreta_BGe1
H25	<u>Porreta y col. (2012):</u> Gelephu (Bután)	Porreta_BGe5
H26	<u>Raharimala y col. (2012):</u> Tsimbazaza, Antananarivo, Madagascar	Rah_TS1F
H27	<u>Raharimala y col. (2012):</u> La R�union	Rah_RN1M
H28	<u>Raharimala y col. (2012):</u> La R�union	Rah_RN2M
H29	<u>Raharimala y col. (2012):</u> Mahajanga, Madagascar	Rah_MAH10M
H30	<u>Raharimala y col. (2012):</u> La R�union	Rah_RN4M
H31	<u>Raharimala y col. (2012):</u> Montagne d'Ambre, Madagascar	Rah_MDA12F

Las secuencias de Porreta y col. (2012) fueron las mas cortas de todas y al editar el resto de las secuencias con base en estas, se perdió información al principio y al final de la matriz de alineamiento específicamente la que aportan los sitios 12, 390 y 395, reportados en estudios anteriores (Birungi y Munsterman, 2002; Usmani-Brown y col, 2009; Navarro y col, 2013, en prensa).

Finalmente se construyó la Tabla 4, en la que se observan los haplotipos y sitios variables reportados con anterioridad y se complementa la información agregando los haplotipos y sitios variables nuevos. Los códigos que acompañan a los números de los haplotipos desde H17 en adelante son los códigos asignados a las secuencias que se asocian a ellos (ver Tabla 3).

Diferencias Poblacionales.

Los nuevos haplotipos reportados producen una diversidad de haplotipos global H_d : 0,666 así como para las muestras de Venezuela fue 0.123 y para Colombia, 0.617. Comparaciones pareadas indicaron que no hay estructura significativa entre las poblaciones venezolanas y colombianas (H_{st} : 0.593 $p= 0.4412$). La diversidad de nucleótidos dentro de las poblaciones de Venezuela fue 0.00030 y a su vez 0.00346 para las poblaciones colombianas. La diversidad nucleotídica global fue P_i : 0,00324, La prueba D de Tajima (Tajima, 1989) aplicada en toda la muestra arrojó un valor de -1,85558 (significante, $P < 0.05$) para poblaciones de Venezuela fue -0.53969 (no significativo, $P > 0.10$) y 2.57600 (significante, $P < 0.050$) para las de Colombia. El estadístico F de Fu también arrojó un valor negativo (-20,715) siendo consistente con los resultados de la D de Tajima a nivel global.

Tabla 4. Haplotipos y sitios variables reportados. [+] representa que son sitios variables nuevos. [*] indica que el es el cambio compartido entre H14 (Venezuela) y H15 (Colombia). El sitio marcado con [**] es considerado un sitio hipervariable.

Variable sites																																
Haplotypes	+		+		+		+		+						**		+		+		+		+		+		+		+		+	
	1	1	6	6	8	9	9	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
	2	9	4	9	2	2	7	3	8	9	0	1	3	6	7	9	1	2	5	5	5	5	5	7	7	7	7	8	8	9	9	
								3	4	2	8	5	6	8	4	8	9	6	5	6	7	8	0	3	6	9	0	1	0	5		
1	T	A	T	A	A	G	G	T	C	A	A	T	A	T	T	G	A	G	A	A	T	T	C	T	A	T	A	C	A	T		
2	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
3	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
4	C	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
5	C	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
6	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
7	C	.	.	.	G	.	.	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
8	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
9	.	.	.	.	.	.	.	.	T	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
10	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
11	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
12	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	
13	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	A	G	.	T	
14	.	.	.	.	.	A*	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
15	.	.	.	.	.	A*	.	.	T	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
16 BUEA16	.	.	A	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
17 THLam5	.	.	.	T	.	.	.	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
18 THLam1	.	.	.	.	G	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
19 JNag3	.	.	.	.	.	.	A	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
20 Shan4	.	.	.	.	.	.	.	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
21 THCh12	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
22 JTan15	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	C	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
23 Phu6	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
24 BGe1	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	
25 BGe5	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	
26 TS1F	C	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
27 RNIM	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
28 RN2M	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
29 MAH10M	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
30 RN4M	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	
31 MDA12F	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	T	A	.	.	

Relaciones Filogenéticas y Red de Haplotipos.

Los análisis filogenéticos realizados con las secuencias de ND5 de las distintas poblaciones de *Ae. albopictus* mostraron resultados similares a los reportados anteriormente. En las búsquedas Heurísticas con algoritmo TBR y construcción de árbol de Wagner se obtuvieron islas de mas de 2000 arboles donde estos presentaban una longitud o un Score=66; para la matriz en general CI=0,916; RI=0,901; RCI=0,826 aproximadamente; para los sitios informativos iCI=0,895 iRI=0,901; iRCI=0,808. Los arboles obtenidos mostraban una politomía en la que no se puede separar

geográficamente ninguna población ni inferir ningún patrón geográfico estando o no enraizadas con secuencias de *Ae aegypti*. Al realizar el remuestreo de la matriz y el consenso estricto se obtiene una politomía con un soporte Bootstrap del 100% (Figura 14).

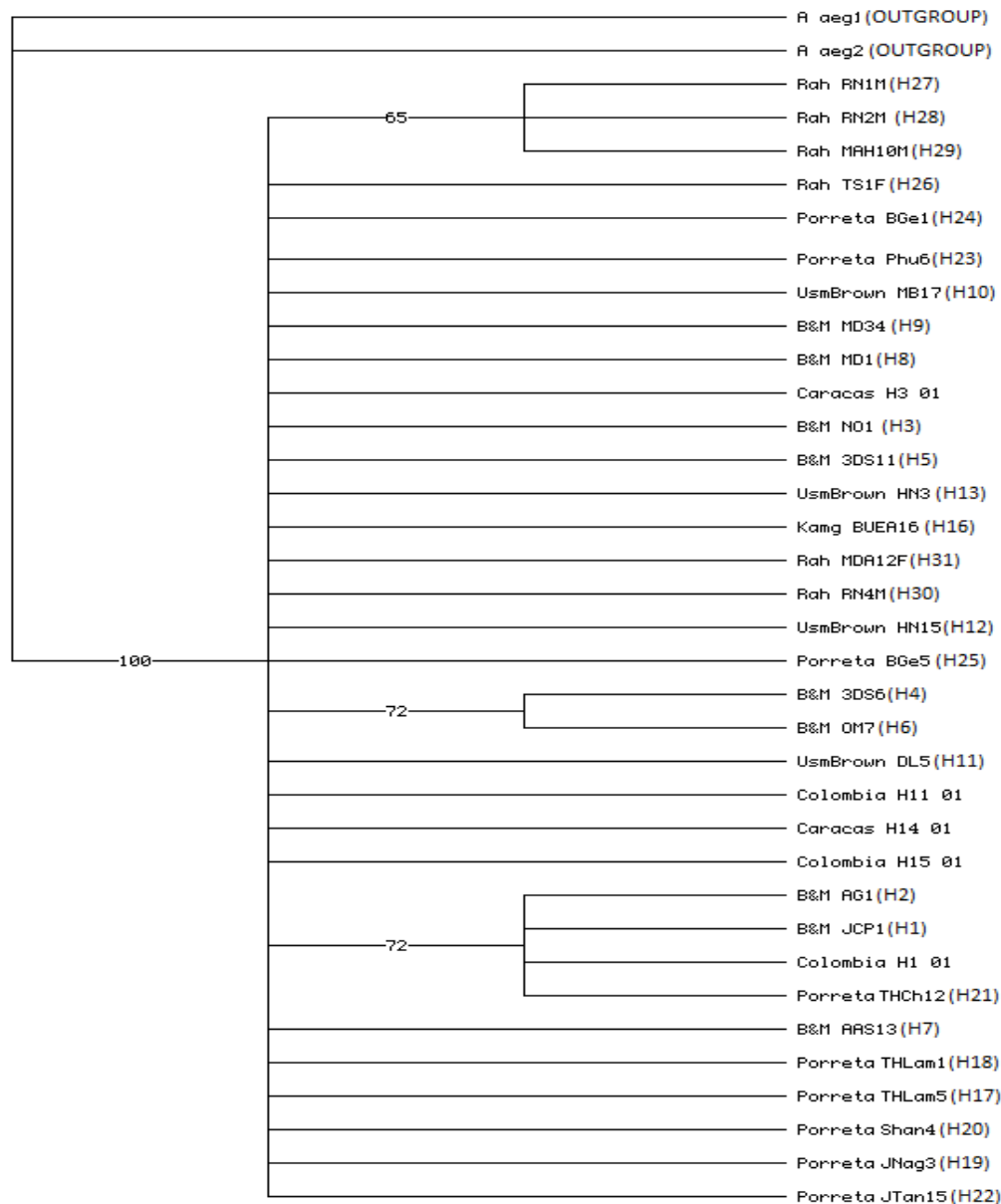


Figura 14. Árbol de consenso estricto realizado utilizando las secuencias de ND5 de *Ae. albopictus* y el método de Maxima Parsimonia. Los números representan el valor de soporte Bootstrap para los nodos donde se encuentran. En la identificación de cada rama está el nombre del Haplotipo al que se asocia según la nomenclatura oficial.

El árbol está enraizado en secuencias de ND5 de la especie *Ae aegypti* como outgroup. Los valores de soporte para los clados internos no fueron altos y el único nodo bien soportado es el que separa a las muestras de *Ae aegypti* de las de *Ae. albopictus* (monofilia de *Ae albopictus*). Esto es congruente con análisis previos, ya citados y descritos. De igual forma el análisis de Neighbor Joining, fue poco informativo (Figura 15)

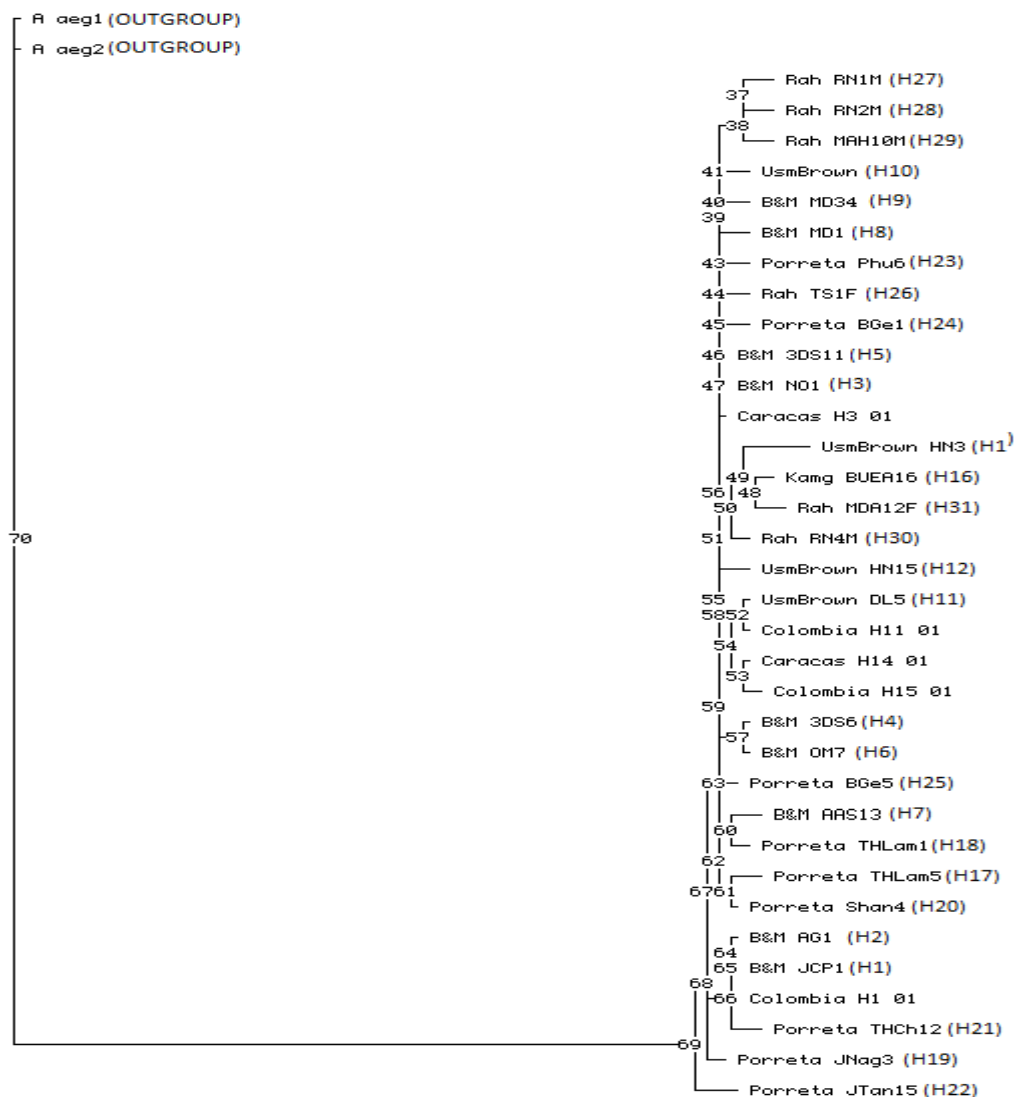


Figura 15. Resultado del análisis de NJ realizado utilizando las secuencias de ND5. Los haplotipos se encuentran en una estructura de ramas poco resuelta y con bajos soportes.

La red de haplotipos obtenida mediante el uso del software TCS resulta mucho mas informativa, debido a la discriminación de los cambios mutacionales. En la Figura 16 se ilustra la red extraída directamente del formato de salida (output) software.

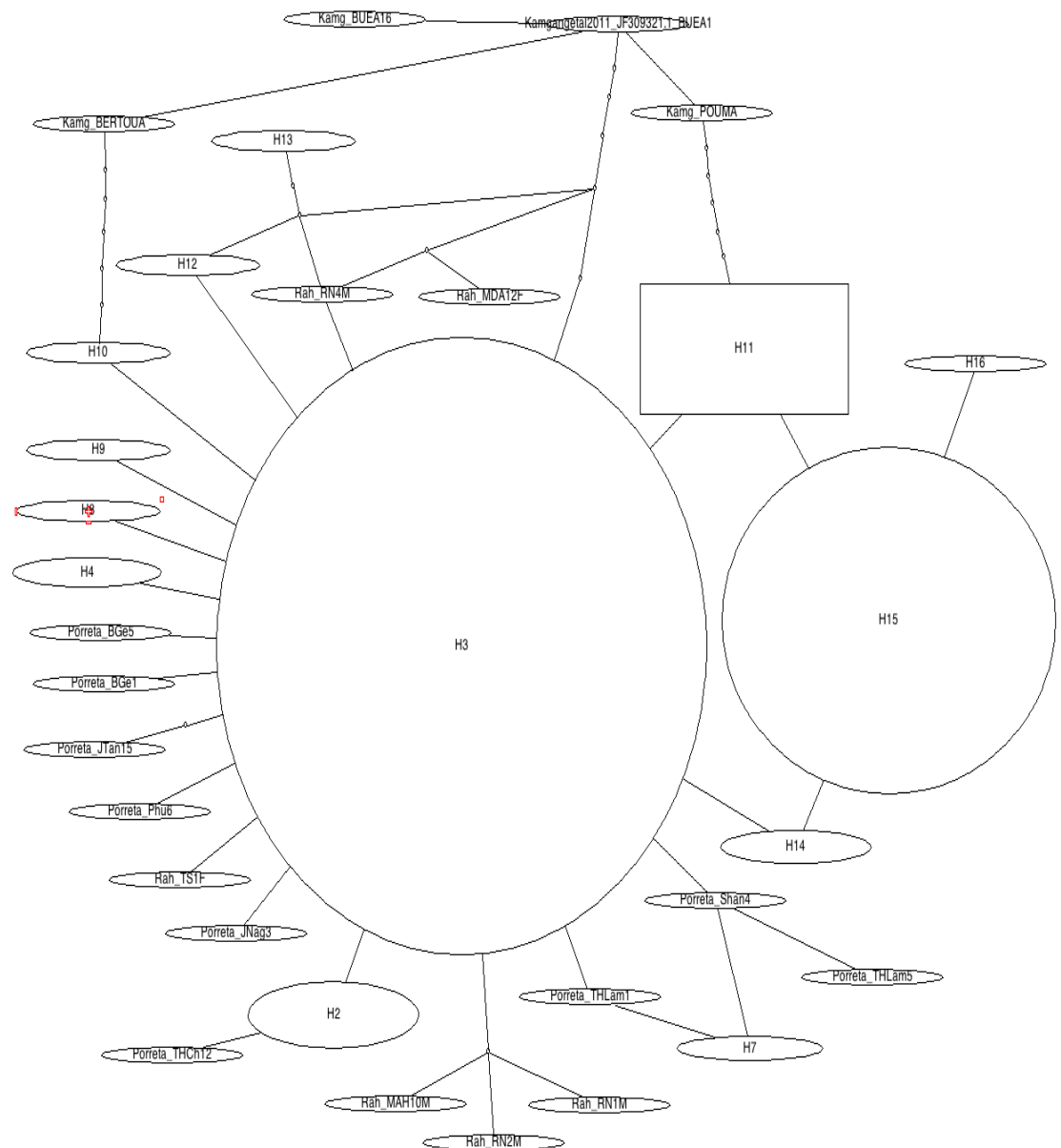


Figura 16. Red de Haplotipos de ND5 de *Ae. albopictus*. extraída directamente de TCS, se muestra la relación entre los 31 haplotipos de ND5 encontrados y los errores generados por la pérdida de información producto de la Edición de los alineamientos.

La pérdida de información que ocurrió al editar la matriz para ajustar los tamaños de las secuencias con las secuencias de Porreta y col (2012), en especial la pérdida del sitio variable 12 (Tabla 4), hizo imposible diferenciar las secuencias correspondientes a H1 y H2, H3 y H5y por último H4 y H6; haciendo que se colapsaran esas secuencias en la misma figura. Es decir, la circunferencia de mayor tamaño identificada como H3, en realidad contiene secuencias de H3 y H5, el óvalo con el nombre H4 también contiene a la secuencia correspondiente a H6 y las secuencias de H1 están en el mismo óvalo identificado como H2.

Además la falta de información en los últimos 5 sitios variables de las muestras de Kamgang y col. (2011) a las que se hizo referencia anteriormente también introdujo cierto ruido en el análisis, haciendo que se separaran de los haplotipos a los cuales corresponden por unos 5 cambios aparentes. De esa manera el ovalo identificado como “Kamg_POUMA” corresponde a una secuencia mas de H11, “Kamg_BUEA1” es el mismo H3 y por último “Kamng_BERTOUA” sería una secuencia que se identifica con H10.

Esto último se dedujo después de revisar los alineamientos de las secuencias en cuestión uno a uno y con la ayuda de las tablas de localidades y la de sitios variables (Tabla3 y Tabla 4, respectivamente). Con este resultado y conociendo la red que forma parte de los resultados de Navarro y col. (2013, en prensa), se logró construir una nueva red de haplotipos que se ilustra en la Figura 17 y que de forma grafica aporta información sobre las relaciones de los haplotipos y su distribución geográfica.

H3 sigue siendo el haplotipo más abundante en toda la muestra. También puede observarse que se encuentra en todas las localidades/países, excepto Colombia. El segundo haplotipo con mayor frecuencia en la muestra es H15, seguidos de H11, H1 y H14 (haplotipos de Colombia y Venezuela). Se pueden identificar cuatro

grupos de haplotipos que se originan a partir de H3 formando conexiones entre ellos y 10 haplotipos no interconectados (H8, H9, H10, H16, H19, H22, H23, H24, H25 Y H26) que también se originan desde H3.

Uno de los grupos está formado por haplotipos de La R union y Madagascar (H27, H28 y H29 respectivamente). Otro grupo formado por los haplotipos únicos de Hawaii (H12 y H13, el haplotipo más divergente o con mayor cantidad de cambios), y un haplotipo La R union (H30) y otro de Madagascar (H31). El tercer grupo es bastante interesante, ya que cambia hipótesis mostradas por autores anteriores al estar conformado por los haplotipos únicos de Estados Unidos (H4, H5 y H6), H7 que anteriormente era considerado otro haplotipo único para los Estados Unidos, ahora compartido con el Sudeste asiático; el H2 brasileiro, el haplotipo H1 previamente reportado para Brasil y Colombia también se complejiza al ser compartido con el Sudeste asiático y, finalmente, cuatro haplotipos que son nuevos reportes para el área de distribución nativa (H17, H18, H20 y H21). El último grupo es ya conocido, conformado por H14 (local de Venezuela), H15 (local de Colombia) y H11, el que ya era considerado "extraordinario" (Navarro y col, 2011, sin publicar) por estar compartido entre Camerún, Hawaii y Colombia, ahora también es reportado en Madagascar y el área de distribución nativa.

H3, que era conocido como el único haplotipo del área de distribución nativa de *Ae. albopictus*, y que se encontraba de forma abundante en Hawaii, Camerún, Italia y Venezuela (Navarro y col, 2013, en prensa), lo encontramos compartido en Líbano y Croacia en alta frecuencia. De hecho, es el único haplotipo presente en esos países, así como es el caso de Italia y Francia.

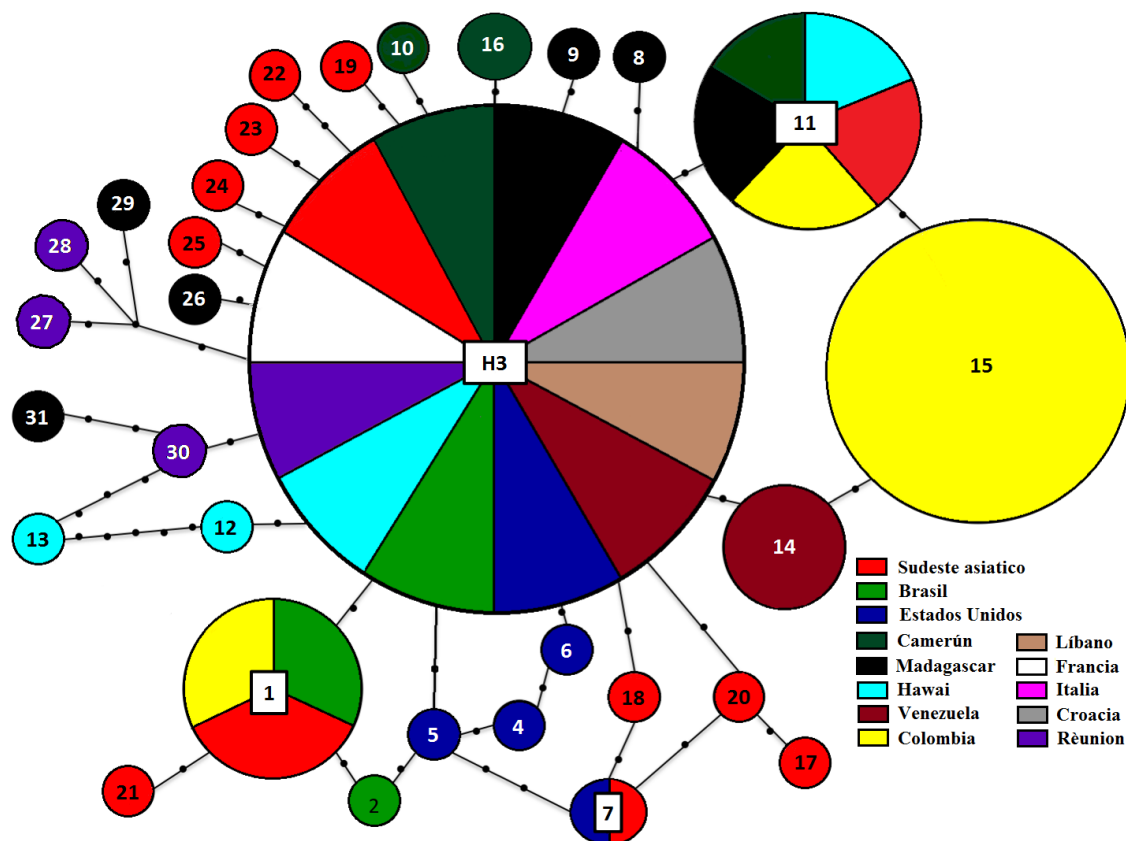


Figura 17. Red de Haplotipos construida en base a la obtenida del análisis realizado en este estudio en combinación con la obtenida por Navarro y col. (2013, en prensa). Se muestran las relaciones entre los 31 haplotipos de ND5 encontrados. Los colores representan las localidades en las que se encuentra cada haplotipo (ver leyenda) y el tamaño de los círculos es relativo a la frecuencia con que se encuentran. Los puntos sobre las líneas representan el número de cambios existentes entre un haplotipo y otro.

DISCUSIÓN

La baja variabilidad genética encontrada para el gen mitocondrial ND5 en el presente trabajo es consistente con los resultados obtenidos en estudios anteriores (Birungi y Munstermann 2002; Mousson y col. 2005; Kambhapati and Rai 1991; Usmani-Brown y col. 2009; Maia y col. 2009; Kamgang y col. 2011; Navarro y col, 2013 en prensa; Zitco y col, 2012; Haddad y col, 2012).

El presente trabajo, luego de 10 autores que han estudiado a *Ae albopictus* usando marcadores mitocondriales, incrementa a 31 la cantidad de haplotipos conocidos para ND5, desde aquellos nueve iniciales de Birungi y Munstermann, gracias a la información obtenida de poblaciones naturales colectadas por Porreta y col. (2012) en el sudeste asiático. Esta información proporciona una mejor aproximación a lo que es la variabilidad natural de la especie en su distribución nativa.

Era ingenuo pensar que existe solo un haplotipo en la región de donde es originaria una especie, por más baja que sea la variabilidad, mas, pero basándonos en que todos los demás, o divergen directamente de este o están estrechamente relacionados (ver Figura 20), podemos decir que es un haplotipo ancestral.

En la presente investigación se reportan, continuando con la nomenclatura *sensu* Birungi y Munstermann en 2002 y continuada hasta Navarro y col en 2013 (en prensa), los nuevos haplotipos hallados por Porreta y col. en el Sudeste asiático, y por Raharimalala y col en Madagascar y La Rèunion; así como la información sobre la presencia de Haplotipos que se creían únicos para algunas localidades/países (como H7), o que se creían compartidos de forma aislada por dos o más localidades (H1 y H11), y que ahora también se reportan para el área de distribución nativa. Esto puede hacer mas compleja la formulación de hipótesis de introducción o establecer un rastro

genético de la especie en algunos países, así como puede hacerlo mas sencillo en otros casos.

Las poblaciones hawaianas que presentan el haplotipo H13, siguen siendo las más divergentes, teniendo hasta 6 cambios respecto a H3. Las poblaciones de Estados Unidos eran consideradas como las poblaciones con mayor cantidad de haplotipos únicos reportados (Navarro y col, 2013, en prensa); esto cambió con la nueva información, siendo solo tres haplotipos únicos y dos compartidos con el Sudeste asiático. La red muestra que los haplotipos que permanecen como únicos para este país no son muy divergentes de H3, se refuerza la hipótesis de Birungi y Munstermann que sugiere multiples introducciones independientes en este país, provenientes directamente del área de distribución nativa. La localidad/país que posee ahora la mayor cantidad de haplotipos únicos reportados (además del área de distribución nativa que posee 8 haplotipos únicos, divididos en los países que conforman dicha área) es Madagascar, con cinco haplotipos únicos y 7 en total. Aquí también se sugieren multiples introducciones del mosquito y divergencia desde H3. Las poblaciones de La Réunion deben tener una historia similar a la de Madagascar, y dada la cercanía geográfica, podría sugerirse intercambio entre sus poblaciones. Eso podría explicar la conexión entre H27, H28 y H29.

Al igual que La Réunion, Hawai y Colombia tienen tres haplotipos entre sus poblaciones. Hawai tiene dos haplotipos únicos y uno compartido casualmente con Colombia, que además de ese tiene uno único y otro compartido. El haplotipo compartido entre Colombia y Hawai es H11, que creó generó dudas, ya que también es compartido con Camerún y se manejaban hipótesis de introducción de este haplotipo en Colombia por cualquiera de las dos vías mediante el intercambio comercial. Con nuestro análisis, H11 también es compartido con Madagascar y el sudeste asiático, siendo este es uno de los casos donde el rastro molecular podría ser más sencillo de hipotetizar. Navarro y col, (2013) sugieren dos hipótesis para la

introducción de este haplotipo en Colombia: 1) por H11 directamente desde Hawai por el puerto de Buenaventura y 2) que el sitio hipervariable 268 (ver tabla 4) tenga alta probabilidad de cambio de forma independiente. Al estar el haplotipo H11 compartido en el área de distribución nativa (nuevo reporte), junto con H3, podría generarse otra hipótesis alternativa 3) H11 se origina por divergencia directa de H3 en el Sudeste asiático y que de allí fue introducido directamente en Madagascar, Camerún, Hawai y Colombia en eventos de introducción o invasión independientes. Esta hipótesis se ajusta muy bien al caso de Colombia, ya que en este país, no existe evidencia actual de la presencia de H3.

El otro haplotipo presente en Colombia además de H15 (haplotipo local colombiano) es H1. Este haplotipo fue inicialmente reportado como haplotipo único de Brasil (Birungi y Munstermann, 2002) y luego, Navarro y col. (2013) lo reportan como haplotipo para Colombia y compartido entre esos dos países y sugieren la hipótesis de introducción a Colombia directamente desde Manaos, donde fue reportado como haplotipo mas abundante (Maia y col, 2009), por medio de comercio fluvial a través del Río Amazonas posiblemente hacia Leticia (Amazonía colombiana) localidad del primer reporte en Colombia. Esta hipótesis ahora se enfrenta a una hipótesis alternativa al estar el haplotipo presente en el sudeste asiático, siendo también probable que haya ocurrido al menos una introducción independiente bajo condiciones de efecto fundador en Colombia directamente desde el área de distribución nativa de *Ae. albopictus*, ya que H1 se encontró en las tres localidades analizadas de Colombia. La hipótesis de introducción desde Brasil sigue siendo más fuerte

El haplotipo H15 local de Colombia, tiene una relación mutacional cercana con H11 y con H14, haplotipo único de poblaciones venezolanas, de acuerdo a la red parsimoniosa. Es igualmente parsimonioso que H15 se haya originado por cualquiera de las dos vías. Geográficamente, sigue siendo más probable que el H15 se haya originado por un cambio desde el H11, que ya se encuentra en Colombia, y tiene

varias hipótesis de introducción en el país; ya que la otra vía implicaría que el haplotipo haya surgido mediante un cambio en H14 o mediante dos cambios desde H3 y ninguno de esos dos haplotipos se encuentra reportado en territorio Colombiano (Navarro y col, 2013).

El valor positivo -y significativo- de la D de Tajima para las poblaciones colombianas sugiere que se está dando un efecto de selección equilibrante, producto de múltiples introducciones, (Tajima, 1989; Navarro y col, 2013). El haplotipo H1 produce este sesgo, ya que si se excluyen del análisis, la prueba resulta con un valor negativo, que concuerda con que la selección purificante está haciendo efecto mediante cuellos de botella o efecto fundador.

Por su parte las poblaciones venezolanas están representadas en mayor frecuencia por H3 (93,4%), mientras que el porcentaje restante corresponde al haplotipo local venezolano, H14. Este resultado sugiere dos hipótesis para explicar su introducción en el país: 1) Introducción bajo condiciones de efecto fundador, directamente desde Brasil o los Estados Unidos, o 2) directamente desde una población asiática. Cualquiera de las dos vías es probable ya que la actividad comercial entre el continente asiático y Venezuela han incrementado en los últimos años, así como los convenios comerciales con Brasil. La presencia de constructoras brasileñas como Odebrecht, encargadas de muchas obras de infraestructura del transporte público caraqueño (Metro, Metrocable, etc.), en zonas aledañas a donde se colectaron los mosquitos invasores -Jardín Botánico de Caracas / Metrocable San Agustín; Parque del este / Construcción de la línea 5 del Metro de Caracas- resulta ser una posibilidad interesante como mecanismos de introducción que requiere de una revisión e inspección de sus containers.

Mientras no se encuentren haplotipos compartidos entre Venezuela y Colombia no podremos inferir acerca de ninguna ruta de introducción entre estos dos países. En

Venezuela deberán hacerse más muestreos en zonas fronterizas, y analizar poblaciones recién reportadas en Aragua, Guárico, Carabobo y Monagas (REFS.....Bol Malariol 2013 (A;G Y M, Liria com, personal, Carabobo).

Aunque se incrementó el número de haplotipos conocidos para ND5 en *Aedes albopictus*, la variabilidad genética de la especie sigue siendo baja en comparación con otros taxa. Como se señaló anteriormente, esta baja variabilidad es atribuida (Birungi y Munstermann, 2002; Mousson y col, 2005) a tres principales factores:

- Tamaños poblacionales fundadores muy pequeños.
- Medidas de control de plagas excesivas y extensivas que reducen el tamaño poblacional acelerando el efecto de la Deriva genética.
- Rápida expansión de la distribución geográfica de la especie, por la actividad de transporte humana.

Armbruster y col (2003) lo atribuyeron a la doble infección con *Wolbachia*. Todas las muestras de Porreta y col. (2012) estaban contaminadas con *Wolbachia* y aún así la información incremento en 15 nuevos haplotipos. Esto sugiere que la variación de las poblaciones naturales de *Ae. albopictus* es mayor de lo que conocemos hasta la actualidad, así como lo han demostrado otros marcadores mitocondriales que resultaron mas variables.

Así como lo demostraron los estudios de Porreta y col. y Raharimalala y col., el incrementar la toma de muestras en campo ayudó a obtener mas información sobre la variabilidad y la diversidad de haplotipos y nucleótidos en ND5. Si se hace esto en todas las localidades donde se ha reportado la especie en todos los continentes, y además se hace uso de otros marcadores mitocondriales como COI y cyt b que ya han demostrado ser mas informativos, o quizá loci nucleares o Microsatélites como recomiendan algunos autores, se podría obtener información que nos ayude a

entender mejor las rutas ecológicas y antropogénicas de invasión de esta especie tan importante para la salud pública, y probablemente esos conocimientos se puedan extrapolar al estudio de otras especies invasoras que sean de importancia no solo para lo que involucra la salud pública sino también a la conservación e la biodiversidad.

CONCLUSIONES

- Al reexaminar las secuencias de ND5 de Colombia y Venezuela, en comparación con los registros existentes y los nuevos registros se incrementó el número de haplotipos a 31, aumentó el número de sitios polimórficos conocidos a 30, pero la variabilidad sigue siendo baja para la especie en este marcador, si se compara con otros taxa.
- Las rutas de introducción en Venezuela siguen siendo igual de probables viniendo del Sudeste Asiático o de Brasil, ya que H3 es el haplotipo mas frecuente en las poblaciones estudiadas de Venezuela y se presumen introducciones independientes desde Brasil o desde Asia, bajo condiciones de un efecto fundador.
- En Colombia, cada haplotipo posee una ruta de introducción posible, basándose en haplotipos compartidos con otros países. Lo que quiere decir que hay multiples introducciones independientes, bajo condiciones ecológicas típicas de cuello de botella o efecto fundador.

BIBIOGRAFÍA

- **Armbruster, P., Damsky Jr., W. E., Giordano, R., Birungi, J., Munstermann, L. E., Conn, J. 2003.** Infection of New- and Old-World *Aedes albopictus*(Diptera: Culicidae) by the Intracellular Parasite *Wolbachia*: Implications for Host Mitochondrial DNA Evolution. *J. Med. Entomol.* 40(3): 356-360
- **Arrivillaga, J.C, D.E. Norris, M. D. Feliciangeli, and G. C. Lanzaro.2002.** Phylogeography of the Neotropical sand fly *Lutzomyia longipalpis* inferred from mitochondrial DNA sequences. *Infection, Genetics and Evolution* 2: 83-95.
- **Avise, J. C., R. M. Arnold, R. M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J. E. Neigel, C. A. Reeb, and N. C. Sanders. 1987.** Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18: 489-522.
- **Avise, J. C. 1998.** The History and purview of phylogeography: a personal reflection. *Mol. Ecol.* 7: 371-379.
- **Avise, J. C. 2009.** Phylogeography: retrospect and prospect. *J. Biogeogr.* 36: 3-15.
- **Birungi, J., and L. E. Munstermann. 2002.** Genetic structure of *Aedes albopictus*(Diptera: Culicidae) populations based on mitochondrial ND5 sequences: evidence for an independent invasion into Brazil and the United States. *Entomol. Soc. Am.* 95: 126-132.
- **Brown, S. U., L. Cohnstedt, and L. E. Munstermann. 2009.** Population Genetics of *Aedes albopictus*(Diptera: Culicidae) Invading Populations, Using

Mitochondrial nicotinamide Adenine Dinucleotide Dehydrogenase Subunit 5 Sequences. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 102(1): 144-150.

- **Chenna R, Sugawara H, Koike T, Lopez R, Gibson TJ, Higgins DG, Thompson JD . 2003.** Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. *Nucleic Acids Res*, 31:3497-3500.
- **Clement, M., D. Posada, and K. Crandall. 2000.** TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol. Ecol.* 9:1657- 1660.
- **Conn, J. E., Mirabello, L. 2007.** The biogeography and population genetics of neotropical vector species. *Heredity*. 99: 245-256.
- **Cuéllar-Jiménez, M. E., Velásquez-Escobar, O. L., González-Obando, R., Morales-Reichmann, C. A. 2007.** Detección de *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) en la ciudad de Cali, Valle del Cauca, Colombia. *Biomedica*. 27: 273-279
- **Davies, R.G. 1975.** Introducción a la Entomología. Séptima edición. Mundi-Prensa. Biología de poblaciones de insectos.
- **Dobson, Stephen L., Marsland, Eric J., and Rattanadechakul, Wanchai. 2001.** Wolbachia-Induced Cytoplasmic Incompatibility in Single- and Superinfected *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 38(3):382-387.
- **Futuyma, D.J. 1998.** Evolutionary Biology. Tercera Edición. USA.
- **Gratz, N. G. 2004.** Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. *Med. Vet. Entomol.* 18: 215-227.
- **Goloboff, P., Farris, J., Nixon, K., 2008.** TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics*. 24 (5): 774-786.

- **Hall, Thomas A. 1999.** BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acid Symposium Series*. 41:95-98.
- **Ibáñez-Bernal, S., B. Briseño, J.P. Mutebi, E. Argot, A. Rodríguez, C. Martínez-Campos, R. Paz, de la Fuente-San Román, R. Tapia-Conyer and A. Flisser. 1997.** First record in America of *Aedes albopictus* naturally infected with dengue virus during an outbreak of Reynosa, Mexico in 1995. *Med Vet Entomol*, 11: 305-309.
- **Islamab, M. Saiful and Dobson, Stephen L. 2006.** Wolbachia Effects on *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Immature Survivorship and Development. *J. Med. Entomol.* 43(4):689-695.
- **Kambhampati, S., and K. S. Rai. 1991.** Mitochondrial DNA variation within and among populations of the mosquito *Aedes albopictus*. *Genome* 34: 288-292.
- **Kambhampati S, Smith PT. 1995.** PCR primers for the amplification of four insect mitochondrial gene fragments. *Insect Mol Biol.* Nov;4(4):233-6.
- **Kamgang, B., Brengues, C., Fontenille, D., Njiokou, F., Simard, F., Paupy, C. 2011.** Genetic Structure of the Tiger Mosquito, *Aedes albopictus*, in Cameroon (Central Africa). *Plos one*. 6. Issue 5.
- **Kocher, T. D., Thomas, W. K., Meyer, A., Edwards, S. V., PaÅNaÅNbo, S., Villablanca, F. X. & Wilson, A. C. (1989).** Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 86, 6196–6200.
- **Kumar, S., Nei, M., Dudley, J., Tamura, K. 2008.** MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Brief Bioinform* (2008) 9 (4): 299-306.

- **Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG. 2007.** Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*. Bd. 23, S. 2947-2948.
- **Maia, R. T., Scarpassa, V. M., Maciel-Litaiff, L. H., Tader, W. P. 2009.** Reduced levels of genetic variation in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) from Manaus, Amazonas State, Brazil, based on analysis of the mitochondrial DNA *ND5* gene. *Genet. Mol. Res.* 8 (3): 998-1007.
- **Morrone, J. J. 2006.** Biogeographic areas and transition zones of Latin America and the Caribbean islands based on panbiogeographic and cladistic analyses of the entomofauna. *Annu. Rev. Entomol.* 51:467–94.
- **Mousson, L., C. Dauga, T. Garerigues, F. Schaffner, M. Vazeille, and A. Failloux. 2005.** Phylogeography of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) and *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) based on mitochondrial DNA variations. *Genet. Res.* 85: 1-11.
- **Navarro, J.C., S.C. Weaver. 2004.** Molecular phylogeny of the Vomerifer and Pedroi Groups in the Spissipes Section of the subgenus *Culex (Melanoconion)*. *J. Med. Entomol.* 41:575-581.
- **Navarro, J. C., Zorrilla, A., Moncada, N. 2009a.** Primer registro de *Aedes albopictus* (Skuse) en Venezuela. Importancia como vector de Dengue y acciones a desarrollar. *Bol. Malaria. Salud Ambiental.* XLIX:161-166
- **Navarro, JC, C Hernandez, G Rangel-Diaz, E Guerrero, Y Rangel & J Arrivillaga 2009b.** Invalidación de autapomorfias putativas mediante análisis

de filogenia molecular en *Anopheles* subgénero *Nyssorhynchus*. *Bol. MalariaSaludAmbiental*, 49, No. 2: 35-53.

- **Navarro, J. C., Quintero, L., Zorrilla, A., González, R. 2012.** Molecular tracing of the invasive mosquito *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) in Northern South America. *J. Med. Entomol.* En Prensa.
- **Quintero, L. 2010.** Filogenia Intraespecífica y Variabilidad Genética en *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) utilizando secuencias de ADN mitocondrial. Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- **Quintero, L., Navarro, J. C. 2012.** Filogenia intraespecífica y variabilidad genética de *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) con los genes mitocondriales ND5 y COI. (Sin Publicar)
- **Rozas, J., and R. Rozas. 1999.** DnaSP version 3 an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. *Bioinformatics* 15: 174-175.
- **Swofford, D.L. 2002.** PAUP 4.0b10. Phylogenetic analysis using parsimony. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA.
- **Tajima, F. 1989.** Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123 (3): 585-95
- **Tajima, F. 1989.** The effect of change in population size on DNA polymorphism. *Genetics*. 123: 597-601.
- **Thompson, J., Higgins, D., Gibson, T. 1994.** CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence

weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl. Acids Res.* 22 (22):4673-4680.

- **Torres-Pérez, F., Acuña-Retamar, M., Cook, J. A., Bacigalupo, A., García, A., Cattán, P. E. 2011.** Statistical phylogeography of Chagas Disease vector *Triatominae*: Testing biogeographic hypotheses of dispersal. *Infet. Genet. Evol.* 11: 167-174.
- **Tortosa, P., Courtiol, A., Moutallier, S., Failloux, A.-B., Weill, M. 2008.** Chikungunya-Wolbachia interplay in *Aedes albopictus*. *Insect Mol. Biol.* 17. Issue 6: 677-684.
- **Zorrilla, A., Quintero, L., Del Ventura, F., Muñoz, M., Moncada, N., Navarro, J.C.** aspectos ecológicos de *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) en Caracas, Venezuela. *Bol. Malaria Salud Ambiental.* LI: 121-127

BIBLIOGRAFÍA EN INTERNET

http://es.wikipedia.org/wiki/Aedes_albopictus [Consulta: 03 de diciembre de 2011]

[http://www.taringa.net/posts/salud-bienestar/2405724/DENGUE---Como-prevenirlo - Sintomas-e-Informacion-Detallad.html](http://www.taringa.net/posts/salud-bienestar/2405724/DENGUE---Como-prevenirlo-Sintomas-e-Informacion-Detallad.html) [Consulta: 03 de Diciembre de 2011]

ANEXOS

SECUENCIAS OBTENIDAS DE GenBank

Secuencias Birungi y Munsterman (2002)

>B&M2002_AY049968.1_JCP1

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAA
TTTCCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCA
CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCCATTGATAAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATA
AAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAA
GC

>B&M2002_AY049969.1_AG1

TAAAGCTAAATCTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAA
ATTTCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGC
ACATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAA
CTTATAAAATCCCATTGATAAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGAT
AAAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATA
TAGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAT
ATTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAA
AGC

>B&M2002_AY049970.1_NO1

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAA
TTTCCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCA
CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATA
AAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAA
GC

>B&M2002_AY049971.1_3DS6

TAAAGCTAAATCTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAA
ATTTCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGC
ACATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAA
CTTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGAT
AAAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATA
TAGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGACCTAATATAGAATTTTCTAATAAAT

ATTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAA
AGC

>B&M2002_AY049972.1_3DS11

TAAAGCTAAATCTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAA
ATTCCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGC
ACATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAA
CTTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGAT
AAAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATA
TAGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAAT
ATTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAA
AGC

>B&M2002_AY049973.1_OM7

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAA
TTTCCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCA
CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATA
AAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAAATTGACCTAATATAGAATTTTCTAATAAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAA
GC

>B&M2002_AY049974.1_AAS13

TAAAGCTAAATCTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAA
ATTCCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGC
ACATATAAATAATAATGCCTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAA
CTTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGAT
AAAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATA
TAGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAAT
ATTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAA
AGC

>B&M2002_AY049975.1_MD1

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAA
TTTCCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCA
CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATA
AAGCAGTAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAA
GC

>B&M2002_AY049976.1_MD34

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAA
TTTCCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCA

CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCTATTGATAGAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATA
AAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACAAA
GC

Secuencias Mousson y col. (2005)

>Moussonetal2005_AJ971016.1

AATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTA
CAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTT
TTGTATTGTGAATAATTACCCACAGCACATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCAT
GTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCCATTGATAAAATTCTTATTAT
TAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAA
TTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGA
CCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCA
GTTAC

>Moussonetal2005_AJ971017.1

AAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCT
ACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTT
TTTGTATTGTGAATAATTACCCACAGCACATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCA
TGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTA
TTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAA
ATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGA
CCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCA
GTTAC

>Moussonetal2005_AJ971018.1

TCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTACA
AGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTT
GTATTGTGAATAATTACCCACAGCACATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGT
GTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTA
AACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAAATT
AGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGACC
TAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTT
AC

>Moussonetal2005_AJ971019.1

ATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTAC
AAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTT
TGTATTGTGAATAATTACCCACAGCACATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATG
TGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATT
AAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAAAT

TAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGAC
CTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAATAAACCCCTGCAGT
TAC

>Moussonetal2005_AJ971020.1

AATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTA
CAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTT
TTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCAT
GTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTAT
TAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAAA
TTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGA
CCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAATAAACCCCTGCA
GTTAC

>Moussonetal2005_AJ971021.1

AATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTA
CAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTT
TTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCAT
GTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTAT
TAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAAA
TTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGA
CCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAATAAACCCCTGCA
GTTAC

>Moussonetal2005_AJ971022.1

AAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAG
GTATTCTTATTCTTAAATTTCTTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTG
AATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAA
ATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAAACCTAAT
TGAATTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCTCCTA
ATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGACCTAATGTAG
AATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAATAAACCCCTGCAGTTAC

>Moussonetal2005_AJ971023.1

AAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCT
ACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTTATAAAACGAATATCTTGAGCATTT
TTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCA
TGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTA
TTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAA
ATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGA
CCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAATAAACCCCTGCA
GTTAC

>Moussonetal2005_AJ971024.1

AATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTA
CAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTT

TTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCAT
GTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTAT
TAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAAA
TTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAAATTGA
CCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCA
GTTAC

>Moussonetal2005_AJ971025.1

ATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACATTAAACATCTAC
AAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTT
TGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATG
TGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATT
AAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAAAT
TAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAAATTGAC
CTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGT
TAC

>Moussonetal2005_AJ971026.1

TAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACATTAAACAT
CTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATATCTTGAGCAT
TTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGC
ATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATT
ATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAA
AATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAAATTG
ACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCA
GTTAC

>Moussonetal2005_AJ971027.1

TCCTTAGAAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAAC
ATTAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATA
TCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCT
TTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCCATTGAT
AAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTA
AATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTA
ATAATAAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAA
ATAAACCCCTGCAGTTAC

>Moussonetal2005_AJ971028.1

TCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACATTAAACATCTACA
AGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTT
GTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGT
GTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTA
AACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATT
AGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAAATTGACC
TAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTT
AC

Secuencias Usmani-Brwon y col. (2009)

>UsmaniBrownetal2009_EU118294.1_MB17

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAA
TTTCCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCA
CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAAGCCTAATTGACTTAATGTAGATA
AAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAA

>UsmaniBrownetal2009_EU118295.1_DL5

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAA
TTTCCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCA
CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATA
AAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAAATTAGCCCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAA

>UsmaniBrownetal2009_EU118296.1_HN15

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAA
TTTCCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCA
CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATA
AAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCGGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAA

>UsmaniBrownetal2009_EU118297.1_HN3

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAA
TTTCCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCA
CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATA
AAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAAATTAGCGCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCGGTAGCTAAAGTAGTAGAAGGAACTAA

Secuencias Kamgang y col. (2011)

>Kamganetal2011_JF309321.1_BUEA1

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAA
TTTCCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCA
CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATA

AAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGC

>Kamganetal2011_JF309322.1_POUMA

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAA
TTTCCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCA
CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATA
AAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCCCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGC

>Kamganetal2011_JF309323.1_BUEA16

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAA
TTTCCAATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCA
CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATA
AAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGC

>Kamganetal2011_JF309324.1_BERTOUA

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAA
TTTCCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCA
CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAAGCCTAATTGACTTAATGTAGATA
AAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGC

Secuencias Zitco y col. (2011)

Zitkoetal_Cro1(ND5)

TTTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAA
AACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATA
ATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATC
CTATTGATAAAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAAT
CTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCG
GATATTAATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAA
TTAATAAATAAACCCCTGCAGTTAC

Secuencias Haddad y col. (2012)

>Haddadetal2012_JX912502.1

GTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACATTAACATCTACAAGTTAAAGGTATTC
TTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTGTATTGTGAATAAT
TACCCAGCACATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAA
AAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTT
AATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTG
CTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAATAATAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTC
TAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTTAC

Secuencias Raharimalala y col. (2012)

>Raharimala2012_isolate_D5M(ND5)

GTTTCTGCTTTAGTTCATTCTTCTACTTTAGTAACTGCAGGGGTTTATTTATTAATTC
GATTTAATATTTTATTAGAAAATTCTACATTAGGTCAATTTTTATTATTAATATCCGG
AATAACTATATTTATAGCAGGATTAGGAGCTAATTTTGAATTTGATTTAAAAAGATT
ATTGCTTTATCTACATTAAGTCAATTAGGTTTAATAATAAGAATTTTATCAATAGGAT
TTTATAAGTTAGCTTTTTTTTCATTTATTAACACATGCTTTATTTAAAGCATTATTATTT
ATATGTGCTGGGGTAATTATTCACAATACAAAAAATGCTCAAGATATTCGTTTTATA
GGAAATTTAAGAATAAGAATACCTTTAACTTGTAGATGTTTTAATGTTGCAAATTTA
GCTTTATGTGGTATACCTTTTTTTAGCGGGATTTTATTCTAAGGA

>Raharimala2012_isolate_D12M(ND5)

GTTTCTGCTTTAGTTCATTCTTCTACTTTAGTAACTGCAGGGGTTTATTTATTAATTC
GATTTAATATTTTATTAGAAAATTCTACATTAGGTCAATTTTTATTATTAATATCCGG
AATAACTATATTTATAGCAGGATTAGGAGCTAATTTTGAATTTGATTTAAAAAGATT
ATTGCTTTATCTACATTAAGTCAATTAGGTTTAATAATAAGAATTTTATCAATAGGAT
TTTATAAGTTAGCTTTTTTTTCATTTATTAACACATGCTTTATTTAAAGCATTATTATTT
ATATGTGCTGGGGTAATTATTCACAATACAAAAAATGCTCAAGATATTCGTTTTATA
GGAAATTTAAGAATAAGAATACCTTTAACTTGTAGATGTTTTAATGTTGCAAATTTA
GCTTTATGTGGTATACCTTTTTTTAGCGGGATTTTATTCTAAGGA

>Raharimala2012_isolate_D19M(ND5)

GTTTCTGCTTTAGTTCATTCTTCTACTTTAGTAACTGCAGGGGTTTATTTATTAATTC
GATTTAATATTTTATTAGAAAATTCTACATTAGGTCAATTTTTATTATTAATATCCGG
AATAACTATATTTATAGCAGGATTAGGAGCTAATTTTGAATTTGATTTAAAAAGATT
ATTGCTTTATCTACATTAAGTCAATTAGGTTTAATAATAAGAATTTTATCAATAGGAT
TTTATAAGTTAGCTTTTTTTTCATTTATTAACACATGCTTTATTTAAAGCATTATTATTT
ATATGTGCTGGGGTAATTATTCACAATACAAAAAATGCTCAAGATATTCGTTTTATA
GGAAATTTAAGAATAAGAATACCTTTAACTTGTAGATGTTTTAATGTTGCAAATTTA
GCTTTATGTGGTATACCTTTTTTTAGCGGGATTTTATTCTAAGGA

>Raharimala2012_isolate_D2F(ND5)

GTTTCTGCTTTAGTTCATTCTTCTACTTTAGTAACTGCAGGGGTTTATTTATTAATTC
GATTTAATATTTTATTAGAAAATTCTACATTAGGTCAATTTTATTATTAATATCCGG
AATAACTATATTTATAGCAGGATTAGGAGCTAATTTTGAATTTGATTTAAAAAGATT
ATTGCTTTATCTACATTAAGTCAATTAGGTTTAATAATAAGAATTTTATCAATAGGAT
TTTATAAGTTAGCTTTTTTTTCATTTATTAACACATGCTTTATTTAAAGCATTATTATTT
ATATGTGCTGGGGTAATTATTCACAATACAAAAAATGCTCAAGATATTCGTTTTATA
GGAAATTTAAGAATAAGAATACCTTTAACTTGTAGATGTTTTAATGTTGCAAATTTA
GCTTTATGTGGTATACCTTTTTTAGCGGGATTTTATTCTAAGGA

>Raharimala2012_isolate_D12F(ND5)

GTTTCTGCTTTAGTTCATTCTTCTACTTTAGTAACTGCAGGGGTTTATTTATTAATTC
GATTTAATATTTTATTAGAAAATTCTACATTAGGTCAATTTTATTATTAATATCCGG
AATAACTATATTTATAGCAGGATTAGGAGCTAATTTTGAATTTGATTTAAAAAGATT
ATTGCTTTATCTACATTAAGTCAATTAGGTTTAATAATAAGAATTTTATCAATAGGAT
TTTATAAGTTAGCTTTTTTTTCATTTATTAACACATGCTTTATTTAAAGCATTATTATTT
ATATGTGCTGGGGTAATTATTCACAATACAAAAAATGCTCAAGATATTCGTTTTATA
GGAAATTTAAGAATAAGAATACCTTTAACTTGTAGATGTTTTAATGTTGCAAATTTA
GCTTTATGTGGTATACCTTTTTTAGCGGGATTTTATTCTAAGGA

>Raharimala2012_isolate_D36F(ND5)

GTTTCTGCTTTAGTTCATTCTTCTACTTTAGTAACTGCAGGGGTTTATTTATTAATTC
GATTTAATATTTTATTAGAAAATTCTACATTAGGTCAATTTTATTATTAATATCCGG
AATAACTATATTTATAGCAGGATTAGGAGCTAATTTTGAATTTGATTTAAAAAGATT
ATTGCTTTATCTACATTAAGTCAATTAGGTTTAATAATAAGAATTTTATCAATAGGAT
TTTATAAGTTAGCTTTTTTTTCATTTATTAACACATGCTTTATTTAAAGCATTATTATTT
ATATGTGCTGGGGTAATTATTCACAATACAAAAAATGCTCAAGATATTCGTTTTATA
GGAAATTTAAGAATAAGAATACCTTTAACTTGTAGATGTTTTAATGTTGCAAATTTA
GCTTTATGTGGTATACCTTTTTTAGCGGGATTTTATTCTAAGGA

>Raharimala2012_isolate_CNRE3M(ND5)

GTTTCTGCTTTAGTTCATTCTTCTACTTTAGTAACTGCAGGGGTTTATTTATTAATTC
GATTTAATATTTTATTAGAAAATTCTACATTAGGTCAATTTTATTATTAATATCCGG
AATAACTATATTTATAGCAGGATTAGGAGCTAATTTTGAATTTGATTTAAAAAGATT
ATTGCTTTATCTACATTAAGTCAATTAGGTTTAATAATAAGAATTTTATCAATAGGAT
TTTATAAGTTAGCTTTTTTTTCATTTATTAACACATGCTTTATTTAAAGCATTATTATTT
ATATGTGCTGGGGTAATTATTCACAATACAAAAAATGCTCAAGATATTCGTTTTATA
GGAAATTTAAGAATAAGAATACCTTTAACTTGTAGATGTTTTAATGTTGCAAATTTA
GCTTTATGTGGTATACCTTTTTTAGCGGGATTTTATTCTAAGGA

>Raharimala2012_isolate_CNRE7M(ND5)

GTTTCTGCTTTAGTTCATTCTTCTACTTTAGTAACTGCAGGGGTTTATTTATTAATTC
GATTTAATATTTTATTAGAAAATTCTACATTAGGTCAATTTTATTATTAATATCCGG
AATAACTATATTTATAGCAGGATTAGGAGCTAATTTTGAATTTGATTTAAAAAGATT
ATTGCTTTATCTACATTAAGTCAATTAGGTTTAATAATAAGAATTTTATCAATAGGAT
TTTATAAGTTAGCTTTTTTTTCATTTATTAACACATGCTTTATTTAAAGCATTATTATTT

ATATGTGCTGGGGTAATTATTCACAATACAAAAAATGCTCAAGATATTCGTTTTATA
GGAAATTTAAGAATAAGAATACCTTTAACTTGTAGATGTTTTAATGTTGCAAATTTA
GCTTTATGTGGTATACCTTTTTTAGCGGGATTTTATTCTAAGGA

>Raharimala2012_isolate_CNRE33M(ND5)

GTTTCTGCTTTAGTTCATTCTTCTACTTTAGTAACTGCAGGGGTTTATTTATTAATTC
GATTTAATATTTTATTAGAAAATTCTACATTAGGTCAATTTTTATTATTAATATCCGG
ATAACTATATTTATAGCAGGATTAGGAGCTAATTTTGAATTTGATTTAAAAAAGATT
ATTGCTTTATCTACATTAAGTCAATTAGGTTTAATAATAAGAATTTTATCAATAGGAT
TTTATAAGTTAGCTTTTTTTTCATTTATTAACACATGCTTTATTTAAAGCATTATTATTT
ATATGTGCTGGGGTAATTATTCACAATACAAAAAATGCTCAAGATATTCGTTTTATA
GGAAATTTAAGAATAAGAATACCTTTAACTTGTAGATGTTTTAATGTTGCAAATTTA
GCTTTATGTGGTATACCTTTTTTAGCGGGATTTTATTCTAAGGA

>Raharimala2012_isolate_CNRE12F(ND5)

TTTCTGCTTTAGTTCATTCTTCTACTTTAGTAACTGCAGGGGTTTATTTATTAATTCG
ATTTAATATTTTATTAGAAAATTCTACATTAGGTCAATTTTTATTATTAATATCCGGA
ATAACTATATTTATAGCAGGATTAGGAGCTAATTTTGAATTTGATTTAAAAAAGATTA
TTGCTTTATCTACATTAAGTCAATTAGGTTTAATAATAAGAATTTTATCAATAGGATT
TTATAAGTTAGCTTTTTTTTCATTTATTAACACATGCTTTATTTAAAGCATTATTATTTA
TATGTGCTGGGGTAATTATTCACAATACAAAAAATGCTCAAGATATTCGTTTTATAG
GAAATTTAAGAATAAGAATACCTTTAACTTGTAGATGTTTTAATGTTGCAAATTTAG
CTTTATGTGGTATACCTTTTTTAGCGGGATTTTATTCTAAGGA

>Raharimala2012_isolate_CNRE31F(ND5)

GTTTCTGCTTTAGTTCATTCTTCTACTTTAGTAACTGCAGGGGTTTATTTATTAATTC
GATTTAATATTTTATTAGAAAATTCTACATTAGGTCAATTTTTATTATTAATATCCGG
ATAACTATATTTATAGCAGGATTAGGAGCTAATTTTGAATTTGATTTAAAAAAGATT
ATTGCTTTATCTACATTAAGTCAATTAGGTTTAATAATAAGAATTTTATCAATAGGAT
TTTATAAGTTAGCTTTTTTTTCATTTATTAACACATGCTTTATTTAAAGCATTATTATTT
ATATGTGCTGGGGTAATTATTCACAATACAAAAAATGCTCAAGATATTCGTTTTATA
GGAAATTTAAGAATAAGAATACCTTTAACTTGTAGATGTTTTAATGTTGCAAATTTA
GCTTTATGTGGTATACCTTTTTTAGCGGGATTTTATTCTAAGGA

>Raharimala2012_isolate_CNRE34F(ND5)

GTTTCTGCTTTAGTTCATTCTTCTACTTTAGTAACTGCAGGGGTTTATTTATTAATTC
GATTTAATATTTTATTAGAAAATTCTACATTAGGTCAATTTTTATTATTAATATCCGG
ATAACTATATTTATAGCAGGATTAGGAGCTAATTTTGAATTTGATTTAAAAAAGATT
ATTGCTTTATCTACATTAAGTCAATTAGGTTTAATAATAAGAATTTTATCAATAGGAT
TTTATAAGTTAGCTTTTTTTTCATTTATTAACACATGCTTTATTTAAAGCATTATTATTT
ATATGTGCTGGGGTAATTATTCACAATACAAAAAATGCTCAAGATATTCGTTTTATA
GGAAATTTAAGAATAAGAATACCTTTAACTTGTAGATGTTTTAATGTTGCAAATTTA
GCTTTATGTGGTATACCTTTTTTAGCGGGATTTTATTCTAAGG

>Raharimala2012_isolate_RN1M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGTTTTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_RN2M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGTATAAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_RN4M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTAACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_RN6F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCCCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAA
TAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAA
TAAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_RN9F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA

ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MAN1M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MAN5M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MAN7M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MAN8M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MAN12F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MAN13F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MAN15F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MAN17F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MAN18F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA

ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MAN20M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MR1F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MR2F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MR3F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MR4M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MR7M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MR8F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MR9M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MR10F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT

AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MAH3F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MAH4F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MAH6M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAACAAAC

>Raharimala2012_isolate_MAH7M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MAH10M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT

CTTGAGCATT TTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGTAATAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TS1F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAAC
CTTAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTTATAAAACGAATA
TCTTGAGCATT TTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCT
TTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TS9F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATT TTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TS13F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATT TTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TS15F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATT TTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TS19F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TS42M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TS53M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TS58M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TS71M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTGGCAAC
ATTA AAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATA
TCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCT
TTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA

ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TO5M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TO15F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TO21M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TO22M(ND5)

CCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACAT
TAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATATC
TTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTTTA
AATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATAAA
ATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAAAT
CAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAATA
ATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAATA
AACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TO23M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TO27F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TO28F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TO30F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_TO32F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAATTTGCAAC
ATTA AAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATA
TCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCT
TTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT

AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_DG8M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_DG10M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_DG11F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_DG16M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_DG20M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT

CTTGAGCATT TTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_DG23F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATT TTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MDA1M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATT TTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCYGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MDA10F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATT TTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MDA11F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATT TTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_MDA12F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTATATGAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_AN10M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_AN11F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_AN1M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_AN4F(ND5)

CCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACAT
TAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATATC
TTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCTTTA
AATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATAAA
ATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAAAT

CAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAATA
ATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAATCGAATTAATAAATA
AACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_AN6M(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
ATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

>Raharimala2012_isolate_AN7F(ND5)

TCCTTAGAATAAAATCCCGCTAAAAAAGGTATACCACATAAAGCTAAATTTGCAACA
TTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAATAT
CTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCAGCACATATAAATAATAATGCTT
TAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
ATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAAAGCAGAAAC

Secuencias Porreta y col. (2012)

>Porretaetal2012_JQ436947.1_JCh1

CATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAAT
ATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCAGCACATATAAATAATAATGC
TTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGAT
AAAATTCTTATTATTAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTA
AATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTA
ATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAATCGAATTAATAA
ATAAACCCCTGCAGTTAC

>Porretaetal2012_JQ436948.1_JTan15

CATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAAAACGAAT
ATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCAGCACATATAAATAATAATGC
TTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGAT
AAAATTCTTATTATTAACCTAATCGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTA
AATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCAGATATTAA
TAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAATCGAATTAATAAA
TAAACCCCTGCAGTTAC

>Porretaetal2012_JQ436949.1_JNag3

CATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTTATAAAAACGAAT
ATCTTGAGCATTTTTTTGTATTATGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGCT
TTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGATA
AAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTAA
ATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTAAT
AATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAAAT
AAACCCCTGCAGTTAC

>Porretaetal2012_JQ436950.1_Shan4

CATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTTATAAAAACGAAT
ATCTTGAGCATTTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGC
CTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGA
TAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTT
AAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATT
AATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATA
AATAAACCCCTGCAGTTAC

>Porretaetal2012_JQ436951.1_Shan5

CATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTTATAAAAACGAAT
ATCTTGAGCATTTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGC
CTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGA
TAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTT
AAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATT
AATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATA
AATAAACCCCTGCAGTTAC

>Porretaetal2012_JQ436952.1_Phu6

CATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTTATAAAAACGAAT
ATCTTGAGCATTTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGC
TTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGAT
AAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTA
AATCAAATTCAAATTAGCTCCTAACCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTA
ATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAA
ATAAACCCCTGCAGTTAC

>Porretaetal2012_JQ436953.1_Phu7

CATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTTATAAAAACGAAT
ATCTTGAGCATTTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCACATATAAATAATAATGC
TTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCCATTGA
TAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTT
AAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATT
AATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATA
AATAAACCCCTGCAGTTAC

>Porretaetal2012_JQ436954.1_BGe1

CATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATATAAACGAAT
ATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCAGCACATATAAATAATAATGC
TTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGAT
AAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTA
AATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTA
ATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAA
ATAAACTCCTGCAGTTAC

>Porretaetal2012_JQ436955.1_BGe5

CATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATATAAACGAAT
ATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCAGCACATATAAATAATAATGC
TTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGAT
AAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTA
AATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTA
ATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAA
ATAAACCCCGCAGTTAC

>Porretaetal2012_JQ436956.1_THCh12

CATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATATAAACGAAT
ATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCAGCACATATAAATAATAATGC
TTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCCATTGA
TAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTT
AAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATT
AATAATAAAAATTGGCCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATA
AATAAACCCCTGCAGTTAC

>Porretaetal2012_JQ436957.1_THCh13

CATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATATAAACGAAT
ATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCAGCACATATAAATAATAATGC
TTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGAT
AAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTA
AATCAAATTCAAATTAGCCCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTA
ATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAA
ATAAACCCCTGCAGTTAC

>Porretaetal2012_JQ436958.1_THLam1

CATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATATAAACGAAT
ATCTTGGGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCAGCACATATAAATAATAATGC
TTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGAT
AAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTTTA
AATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATTA
ATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAAATCGAATTAATAA
ATAAACCCCTGCAGTTAC

>Porretaetal2012_JQ436959.1_THLam5

CATTAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAATTTCTATAATACGAAT
ATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCAGCACATATAAATAATAATGC
CTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAACTTATAAAATCCTATTGA
TAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATAAAGCAATAATCTTTTT
AAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATATAGTTATTCCGGATATT
AATAATAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATATTAATCGAATTAATA
AATAAACCCCTGCAGTTAC

SECUENCIAS OBTENIDAS EN LABORATORIO

Secuencias Venezuela

>Caracas_H3_01

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAA
TTTCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCAGCA
CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATA
AAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAA

>Caracas_H14_01

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAA
TTTCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTATATTGTGAATAATTACCCAGCA
CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATA
AAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAA

Secuencias Colombia

>Colombia_H1_01

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAA
TTTCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCAGCA
CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCCATGATAAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATA
AAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCTCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAA

>Colombia_H11_01

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAA
TTTCCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTGTATTGTGAATAATTACCCCAGCA
CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATA
AAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCCCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAA

>Colombia_H15_01

TAAAGCTAAATTTGCAACATTAAAACATCTACAAGTTAAAGGTATTCTTATTCTTAAA
TTTCCTATAAAACGAATATCTTGAGCATTTTTTATATTGTGAATAATTACCCCAGCA
CATATAAATAATAATGCTTTAAATAAAGCATGTGTTAATAAATGAAAAAAGCTAAC
TTATAAAATCCTATTGATAAAATTCTTATTATTAAACCTAATTGACTTAATGTAGATA
AAGCAATAATCTTTTTTAAATCAAATTCAAATTAGCCCCTAATCCTGCTATAAATAT
AGTTATTCCGGATATTAATAATAAAAATTGACCTAATGTAGAATTTTCTAATAAAATA
TTAAATCGAATTAATAAATAAACCCCTGCAGTTACTAAAGTAGAAGAATGAACTAA