



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

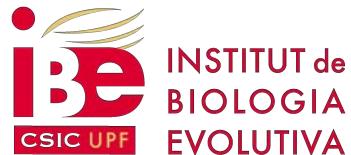
**Eliminación de impedimentos taxonómicos  
y ecológicos en "hot-spots" de biodiversidad mediante  
herramientas moleculares: los Chrysomelidae  
y sus asociaciones tróficas en el bosque seco tropical  
de Nicaragua**

Gissela De la Cadena Mendoza

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([deposit.ub.edu](http://deposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([deposit.ub.edu](http://deposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([deposit.ub.edu](http://deposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



FACULTAD DE BIOLOGÍA  
DEPARTAMENT DE BIOLOGÍA ANIMAL  
Programa de Doctorat en Biodiversitat

**Eliminación de impedimentos taxonómicos y  
ecológicos en “hot-spots” de biodiversidad  
mediante herramientas moleculares: los  
Chrysomelidae y sus asociaciones tróficas en el  
bosque seco tropical de Nicaragua**

Memoria presentada por Gissela De la Cadena Mendoza para  
optar al título de Doctora por la Universidad de Barcelona

Trabajo realizado en el Institut de Biología Evolutiva (CSIC-UPF)

Gissela De la Cadena Mendoza

Septiembre de 2016

Doctoranda

Director

Codirectora

Tutor

Gissela De la Cadena Jesús Gómez-Zurita Anna Papadopoulou Miquel Arnedo



*It is that range of biodiversity that  
we must care of – the whole thing –  
rather than just one or two stars.*

Sir David Attenborough



## *Agradecimientos*

Ahora que termina una etapa muy importante para mí, quiero agradecer a todas las personas que de una forma o de otra, me han apoyado, y han compartido conmigo esta aventura.

Mi agradecimiento más sincero y profundo a mis directores, Jesús y Anna, que han estado allí en todo momento, desde el primer día que me puse en contacto, para recorrer este camino que termina con esta tesis. Muchas gracias por todos los consejos, las sugerencias y el apoyo constante. Muchas gracias Jesús por haber confiado en mí desde el principio, y tu apoyo en todo momento. A ti Anna, te agradezco por todo lo que me has enseñado, por tener paciencia conmigo cuando ni siquiera sabía que era la Terminal :) Todos tus consejos también me los llevo conmigo.

Esta tesis no podría haberse realizado sin la Agencia Española de Cooperación Internacional y Desarrollo (MAEC-AECID) y la colaboración de la Fundación BBVA (proyecto BIOCON08-045), así como la Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT) de Ecuador. Gracias.

Esta tesis no hubiera sido la misma sin la vital colaboración de toda la gente involucrada en el proyecto en Nicaragua. Un agradecimiento muy grande a Jean-Michel, Indiana, Ricardo y Jazmina, quienes nos colaboraron en todo momento, y nos ayudaron con los muestreos en todas las formas posibles, y cuando viajamos al Nicaragua, para que el trabajo de campo se desarrolle de la mejor forma posible. Muchas gracias Indiana por toda tu ayuda con los datos botánicos, realmente no hubiéramos podido obtener mejor apoyo que el tuyo.

Un agradecimiento muy especial a toda la gente de administración de mi instituto, especialmente a Rita y Anna, quienes siempre me ayudaron con todo tipo de gestiones desde antes de empezar oficialmente el doctorado hasta el último momento. Muchas gracias.

Cuando llegué a Barcelona, con dos maletas (una muuy grande) encontré las puertas abiertas para aprender sobre mi doctorado pero también a gente muy buena que hizo que me sienta como en casa, aunque hubiera dejado mi hogar al otro lado del charco. Quiero agradecer a Anabela, que tuvo tanta paciencia conmigo para enseñarme todo lo referente al laboratorio, desde como agarrar una pipeta. Siempre recuerdo tus consejos y te agradezco todo lo que me enseñaste. Muchas gracias por

todo! Muchas gracias a todas y todos con quienes tuve la suerte de encontrarme en el instituto, por todos aquellos momentos compartidos dentro y fuera de los laboratorios. A mi Cris De Miguel, la Vale, Amparito, Rocío, Núria, Diego, Helena, Oliver, Raúl, Diego H, a toda la gente “Iñaki”: Arnau, Alex, Xavi G., David, Meri, Alicia, las María, Mati, Sebas (con Jani y Mirko), Núria, Alberto, Xavi F., Edu, Alexandra y Andrej que me tratan como a otra del grupo (aunque no estude capzasporas). Especialmente quiero agradecer a Helenita Parra, gracias por tu amistad y apoyarme cuando más lo necesitaba. Estaré esperándote en Ibarra, para cumplir todos esos viajes que hemos planeado! Muchas gracias también Vale y Michele, por todo el cariño y acogerme en Roma siempre que he podido visitarles. Muchas gracias por dejarme ser parte de sus familias. Ya saben que tienen un sitio siempre donde llegar, donde quiera que sea :). Y mi Cris, muchas gracias por todo, por siempre estar allí y animarme en todo momento. Estoy segura que en algún momento te voy a visitar a Londres! :)

Un agradecimiento muy grande a mis amigos al otro lado del Atlántico, que a pesar de la distancia me apoyan constantemente, especialmente a Meire. Mi niña, no sabes cuan agradecida estoy de que siempre puedo contar contigo. Mil gracias por todo tu cariño, tus consejos, y simplemente por escucharme cuando lo necesitaba. Espero que llegue muy pronto el día en que nos veamos, sea en Brasil o donde haga falta! :)

Y finalmente, mi más profundo agradecimiento a mi familia. Han estado conmigo en todo momento, aunque no haya sido físicamente. Les agradezco por todo su cariño, los consejos, la comprensión, los ánimos en todo momento, por hacerme sentir a través del skype, de que no estábamos tan lejos después de todo :) Les quiero!





# *Índice general de contenidos*

	<b>Pág.</b>
<b>1 Introducción</b>	1
<b>Prólogo</b>	3
<b>1.1 Sobre la diversidad biológica</b>	5
1.1.1 Antecedentes	5
1.1.2 La especie como unidad fundamental de la biodiversidad	7
1.1.3 Estado actual de la biodiversidad	8
1.1.4 Métodos moleculares al rescate: delimitación e identificación de especies en la época molecular	10
1.1.4.1 El aporte de los métodos moleculares a la delimitación de especies	12
1.1.4.2 Identificación de especies por métodos moleculares	13
<b>1.2 Grupo de estudio: la contribución de Chrysomelidae a la biodiversidad tropical</b>	15
1.2.1 La familia Chrysomelidae	16
1.2.1.1 Subfamilia Cassidinae	19
1.2.1.2 Subfamilia Galerucinae <i>sensu lato</i>	19
1.2.2 La relación de Chrysomelidae y sus plantas hospederas	20
<b>1.3 La biodiversidad en el bosque seco tropical</b>	23
1.3.1 Caracterización florística del bosque seco tropical	24
1.3.2 Estado actual de conservación del bosque seco tropical estacional	25
1.3.3 El bosque seco tropical estacional en Nicaragua	26
1.3.4 Biodiversidad de Chrysomelidae en el bosque seco tropical estacional	28
<b>1.4 Consideración final</b>	29
<b>2 Objetivos</b>	31
2.1 Objetivo general	33
2.2 Objetivos específicos	33
<b>3 Materiales y Métodos</b>	35
<b>3.1 Ubicación y colecta de especímenes</b>	37
3.1.1 Localidades de muestreo	37
3.1.2 Forma de colecta y procesamiento de muestras en el campo	43
3.1.3 Procesamiento de muestras en el laboratorio	45
3.1.3.1 Caracterización molecular de los animales	45
3.1.3.2 Caracterización molecular de dietas potenciales de coleópteros	47
<b>3.2 Delimitación molecular de especies de coleópteros</b>	49
3.2.1 Obtención de árboles de genes con secuencias mitocondriales	49
3.2.1.1 Inferencia filogenética mediante Máxima Verosimilitud	50
3.2.1.2 Inferencia filogenética mediante Inferencia Bayesiana	50
3.2.2 Métodos de delimitación de especies basados en secuencias	52

3.2.2.1 Delimitación de especies con el modelo GYMC	52
3.2.2.2 Delimitación de especies con el modelo PTP	57
<b>3.3 Estimación de la riqueza de especies de coleópteros</b>	59
3.3.1 Diversidad Alfa	59
3.3.2 Diversidad Beta	59
<b>3.4 Inferencia molecular del alimento de los coleópteros</b>	61
3.4.1 Inferencia taxonómica de secuencias cloroplásticas utilizando BAGpipe	61
3.4.1.1 Construcción de la base de datos de referencia de BAGpipe	61
3.4.1.2 Asignación taxonómica mediante criterios fenéticos y filogenéticos	62
3.4.2 Evaluación de la fiabilidad de las inferencias de dieta	64
3.4.2.1 Propósito del ensayo experimental	64
3.4.2.2 Diseño de los experimentos	64
3.4.2.3 Asignación taxonómica de los fragmentos cloroplásticos	65
3.4.2.4 Comparación de tratamientos	66
3.4.3 Caracterización de las interacciones insecto-planta: los coleópteros de Nicaragua y sus plantas hospederas	67
3.4.3.1 Índices basados en redes tróficas cualitativas	67
3.4.3.2 Índices basados en redes tróficas cuantitativas	68
<b>3.5 Correlaciones ecológicas</b>	69
3.5.1 Recopilación de variables explicativas	69
3.5.1.1 Distancias geográficas	69
3.5.1.2 Distancias florísticas: diversidad beta de la flora del bosque seco	70
3.5.1.3 Distancias ambientales: análisis de varianza de variables ambientales	70
3.5.2 Análisis multivariante de factores modeladores de biodiversidad	73
<b>4 Resultados</b>	77
<b>4.1. Morfoespecies de coleópteros</b>	79
<b>4.2. Delimitación de especies de coleópteros utilizando herramientas moleculares</b>	79
4.2.1 Matriz de secuencias mitocondriales y diversidad haplotípica	79
4.2.2 Delimitación de especies basada en árboles	81
4.2.2.1 Cassidinos e hispinos	82
4.2.2.2 Alticinos y galerucinos	87
<b>4.3 Riqueza de especies de Chrysomelidae en el bosque seco</b>	95
<b>4.4 Diferencias entre localidades: patrones de diversidad beta</b>	99
4.4.1 Estimas de diversidad beta	99
4.4.2 Reemplazamiento de especies a nivel general y por localidades	101
4.4.3 Anidamiento de especies a nivel general y por localidades	101
<b>4.5 Ecología molecular: detección de patrones de interacción entre crisomélidos y plantas en el bosque seco</b>	103
4.5.1 Asignación taxonómica de secuencias <i>psbA-trnH</i>	103

4.5.2 Evaluación crítica sobre el origen de las secuencias <i>pshA-trnH</i>	105
4.5.2.1 Asociaciones insecto-planta	106
4.5.2.2 Evaluación estadística de los tratamientos aplicados	109
4.5.3 Descripción de las interacciones insecto–planta	111
4.5.3.1 Reserva Miraflores-Moropotente	113
4.5.3.2 Reserva Natura	113
4.5.3.3 Reserva Domitila	114
4.5.3.4 Finca Sierra Serena	121
4.5.3.5 Localidades adicionales	121
4.5.3.6 Estructura general de las interacciones detectadas entre escarabajos y plantas del bosque seco de Nicaragua	125
4.5.4 Estructura de la comunidad de escarabajos herbívoros	128
4.5.4.1 Número de conexiones por especie	128
4.5.4.2 Conectancia	129
4.5.4.3 Módulos	129
4.5.4.4 Hospederos compartidos	129
4.5.4.5 Robustez de la red	129
4.5.4.6 Generalidad compensada	130
4.5.4.7 Solapamiento de Nicho	131
4.5.4.8 Especialización	131
<b>4.6 Correlaciones ecológicas de la diversidad de crisomélidos</b>	132
4.6.1 Matrices de disimilitud de variables ecológicas	132
4.6.1.1 Distancias geográficas	132
4.6.1.2 Distancias florísticas	132
4.6.1.3 Distancias basadas en características ambientales	133
4.6.1.3.1 Ordenación de las variables ambientales y el efecto puro sobre la composición de comunidades de crisomélidos	133
4.6.1.3.2 Cálculo de distancia ambiental de localidades de bosque seco	137
4.6.2 Efecto de los procesos ecológicos sobre la estructura de la comunidad	138
<b>5 Discusión</b>	141
<b>5.1 Eliminación del impedimento taxonómico en estudios de biodiversidad a gran escala</b>	143
5.1.1 Aportación de los métodos moleculares a la estima de especies en un grupo megadiverso en los trópicos	144
5.1.1.1 Consistencia entre hipótesis independientes de especies	145
5.1.1.2 Errores metodológicos en la delimitación de especies	148
5.1.2 Contribución de las herramientas moleculares para desvelar interacciones insecto–planta en los trópicos	149
5.1.2.1 La importancia de las bases de datos de referencia	150
5.1.2.2 Superación de limitaciones asociadas al marcador cloroplástico	152
5.1.2.3 Fiabilidad de las inferencias de dieta por métodos moleculares	153

5.1.2.4 Consideraciones finales	155
<b>5.2 La comunidad de Chrysomelidae y los condicionantes de su diversidad en el bosque seco tropical estacional de Nicaragua</b>	157
5.2.1 Diversidad local y regional de los crisomélidos del bosque seco tropical estacional de Nicaragua	157
5.2.1.1 Composición de la comunidad de crisomélidos	157
5.2.1.2 Variación regional de las comunidades de crisomélidos	159
5.2.2 Contribución al conocimiento general de interacciones insecto-planta del bosque seco tropical estacional de Nicaragua	160
5.2.2.1 Alimentación de Chrysomelidae en el BSTE de Nicaragua	160
5.2.2.2 Características de las redes tróficas entre coleópteros y plantas del BSTE de Nicaragua	163
5.2.3 ¿Qué condiciona la estructura de las comunidades de crisomélidos?	165
5.2.3.1 El rol de la distancia geográfica	166
5.2.3.2 La influencia de la composición florística y las condiciones ambientales	167
<b>5.3 Conservación de la biodiversidad en el bosque seco tropical estacional de Nicaragua</b>	171
6 Conclusiones	175
<b>7 Bibliografía</b>	183
<b>8 Apéndices</b>	215

# Índice de Figuras

## 1 Introducción

Figura 1.1 Número total de especies conocidas y descritas para la Ciencia, agrupadas en los grandes grupos principales. Fuente: Catálogo de la Vida, lista del año 2015 (Roskov *et al.* 2015)

Pág.

6

Figura 1.2 Esquema conceptual muy simplificado del proceso de especiación, adaptado de De Queiroz (2007) y Leliaert *et al.* (2014). La zona gris representa etapas del proceso de especiación en el transcurso del tiempo, y las líneas punteadas representan las diferentes propiedades (evidencias biológicas) que adquieren con el transcurso del tiempo.

8

Figura 1.3 Análisis del estado de la biodiversidad de invertebrados de Dirzo *et al.* (2014), a partir de la lista de insectos que constan en alguna categoría de amenaza de la UICN, esto es menos del 2,7 % de las especies identificadas taxonómicamente. (Licencia de autorización: 3906611180873)

10

Figura 1.4 Aparición de los principales clados de insectos y eventos biológicos trascendentales, en las distintas eras geológicas. Adaptado de Misof *et al.* (2014). Ordo: Ordovícico; Neó: Neógeno; C: Cuaternario. (Licencia de autorización: 3957680329033)

15

Figura 1.5 Árbol filogenético de Máxima Parsimonia de la familia Chrysomelidae basado en el análisis de tres marcadores moleculares. Los cuatro grupos de crisomélidos estudiados se destacan en diferentes colores, diferenciando en la subfamilia Cassidinae los cassidinos (gris) e hispinos (verde), y en la subfamilia Galerucinae *sensu lato* los alticinos (rosa) y galerucinos (celeste). Modificado de Gómez-Zurita *et al.* (2007).

18

Figura 1.6 Algunos miembros de la subfamilia Cassidinae: cassidinos (A-E) e hispinos (F-J) del bosque seco tropical de Nicaragua. A: *Charidotella emarginata* (Bohemian 1855); B: *Charidotella tuberculata* (Fabricius 1775); C: *Charidotis auroguttata* (Bohemian 1855); D: *Ischnocodia annulus* (Fabricius 1781); E: *Microctenochira hectica* (Bohemian 1855); F: *Heterispa vinula* (Erichson 1847); G: *Cephaloleia puncticollis* (Baly 1885); H: *Chelobasis bicolor* (Gray 1832); I; J fueron identificados como morfotipos. Las fotos fueron tomadas en el Institut de Biología Evolutiva CSIC-UPF, Barcelona, utilizando una lupa Leica Microsystems (Alemania) y posteriormente apiladas y resumidas con el programa CombineZ.

19

Figura 1.7 Algunos miembros de la subfamilia Galerucinae *sensu lato*, alticinos (A-E) y galerucinos (F-J) del bosque seco tropical de Nicaragua. A: *Alagoasa decemguttata* (Fabricius 1801); B: *Omophoita octomaculata* (Crotch 1873); C: *Walterianella signata* (Jacoby 1886); D; E; F; G; H; I; K; J fueron identificados como morfotipos . Las fotos fueron tomadas en el Institut de Biología Evolutiva CSIC-UPF, Barcelona, utilizando una lupa Leica Microsystems (Alemania) y posteriormente apiladas y resumidas con el programa CombineZ.

20

Figura 1.8 Mapa de la distribución del bosque seco tropical en Mesoamérica, publicado por Griscom & Ashton (2011). Se observa la distribución original (en negro) y la distribución actual del bosque (en verde). Este mapa combina las ecoregiones de bosque seco tropical y subtropical, sabanas y matorrales. (Licencia de autorización: 3910390043943) 23

Figura 1.9 Muestra de algunos remanentes de bosque seco tropical estacional en Nicaragua. 28

### 3 Materiales y Métodos

Figura 3.1. Mapa de localidades de muestreo de coleópteros en zonas de bosque seco tropical en Nicaragua. En negro se muestran las zonas de amortiguamiento de las cuatro localidades principales y en gris se indican los sitios de muestreo complementarios. 38

Figura 3.2. Captura de coleópteros utilizando mangas de barrido 43

Figura 3.3. Captura de coleópteros por colecta manual 43

Figura 3.4. Captura de coleópteros con paraguas invertido 44

Figura 3.5. Coleóptero capturado con trampa de luz 44

Figura 3.6. Electroforesis de productos de PCR del fragmento cloroplástico *pshA-trnH* con múltiples bandas en gel de agarosa al 1,5 %, previo a la remoción de cada banda. 48

Figura 3.7 Diagrama de los condicionantes potenciales que servirían para explicar la composición de crisomélidos en cuatro localidades de bosque seco de Nicaragua. Se muestran cuatro hipótesis a testar: un modelo general, donde se incluyen todas las variables explicativas (elipse gris) y tres modelos anidados (líneas discontinuas). 75

### 4 Resultados

Figura 4.1 Frecuencias nucleotídicas observadas para cada grupo, así como de forma general para los 744 haplotipos de los cuatro grupos estudiados. 80

Figura 4.2 Divergencia intraespecífica promedio (puntos) de las especies de alticinos, cassidinos, hispinos y galerucinos. El error estándar (líneas discontinuas) está calculado a partir de 100 pseudo-réplicas. Los valores están calculados según la distancia genética por pares no corregida. 81

Figura 4.3 Delimitación de especies en la muestra de Cassidinae del bosque seco de Nicaragua, e inferidas a partir del gen mitocondrial *cox1*. En el árbol de Máxima 84

Verosimilitud, se indican los valores de *bootstrap* mayores al 70 % obtenidos con RAxML. Las ramas pertenecientes a cassidinos se muestran en negro y las de hispinos en naranja. Los terminales corresponden a haplotipos, y entre paréntesis se indica el número de individuos que comparten ese haplotipo. Las columnas representan los resultados de delimitación de especies según cada método y tipo de datos, y la de la derecha la agrupación de los individuos por morfoespecie, mostrándose en negro aquellos casos en que hay diferencias entre hipótesis morfológica e inferencia molecular. En el caso de discrepancias, siempre por subdivisiones de una única morfoespecie, las entidades moleculares se muestran en diferentes colores cuando hay diferencias entre métodos.

Figura 4.4 Delimitación de especies en la muestra de Galerucinae s. l. del bosque seco de Nicaragua, e inferidas a partir del gen mitocondrial *cox1*. En el árbol de Máxima Verosimilitud, se indican los valores de *bootstrap* mayores al 70 % obtenidos con RAxML. Las ramas pertenecientes a alticinos se muestran en negro y las de galerucinos en naranja. Los terminales corresponden a haplotipos, y entre paréntesis se indica el número de individuos que comparten ese haplotipo. Las columnas representan los resultados de delimitación de especies según cada método y tipo de datos, y la de la derecha, la agrupación de los individuos por morfoespecie, mostrándose en negro aquellos casos en los que hay diferencias entre hipótesis morfológica e inferencia molecular. En el caso de discrepancias, siempre por subdivisiones de una única morfoespecie, las entidades moleculares se muestran en diferentes colores cuando hay diferencias entre métodos. La doble barra en la raíz del árbol indica que se redujo la longitud de su rama y no es proporcional a la escala.

89

Figura 4.5 Análisis de rarefacción (factor 3x) del conjunto de especies de Cassidinae y Galerucinae s. l. en las cuatro localidades principales del estudio, en su conjunto y para el total del muestreo realizado en localidades de bosque seco tropical en Nicaragua. Los resultados mostrados son los correspondientes a todas las especies resultantes de la integración de datos moleculares y morfológicos (ver Tabla 4.7). La zona gris corresponde a las unidades de muestreo y los números dentro de esta zona indican el número de especies observadas. El número de unidades de muestreo para Cassidinae fue menor que para Galerucinae s. l. (excepto en Finca Sierra Serena y Reserva Natura) y se indica con una línea vertical discontinua. La estima final de riqueza se muestra como los valores promedio y su correspondiente intervalo de confianza.

96

Figura 4.6 Diagrama de Venn que sintetiza las distribución de las especies de crisomélidos del bosque seco de Nicaragua en las cuatro localidades del estudio. En cada componente se muestra la diversidad alfa estimada, y en cada intersección el número de especies compartidas entre localidades. En negrita se destaca el número total de especies compartidas entre las cuatro localidades.

100

Figura 4.7 Patrones de diversidad beta y sus componentes de reemplazamiento y anidamiento de especies, para el conjunto de crisomélidos, y las comunidades de Cassidinae y Galerucinae s. l. en el bosque seco de Nicaragua. Se detallan los resultados de (1) disimilitud total para el conjunto de localidades, así como los patrones de (2) reemplazamiento ( $\beta_{sim}$ ) y de (3) anidamiento ( $\beta_{snc}$ ) de especies entre localidades.

102

110

Figura 4.8 Identificación taxonómica y diversidad de secuencias cloroplásticas *psbA-trnH* amplificadas a partir del ADN total de seis especies de Chrysomelidae. Los diagramas superiores (en el caso de Alticinae) o el de la izquierda (en el caso de *P. alutacea*) muestran los datos obtenidos a partir de la re-amplificación de bandas cortadas. Los diagramas inferiores (Alticinae) o el de la derecha (*P. alutacea*) muestran aquellos resultados de secuenciación directa. Las inferencias obtenidas tras la descontaminación de los especímenes se muestran en sombreado. Se reporta el número de secuencias obtenidas para cada asignación taxonómica, sea al aplicar el protocolo de esterilización (resultado en negrita) o sin tratamiento previo. Con un asterisco se señalan las familias de plantas reconocidas en la bibliografía como hospederas de las respectivas especies de crisomélido. Las inferencias etiquetadas como “Lamiaceae\*” corresponden al grupo *Vitex spp.*, pero la inferencia según el criterio estricto de BAGpipe falló en la asignación taxonómica. Se utilizaron diferentes colores para identificar las familias botánicas, y aquéllas que no están mencionadas en alguno de los diagramas se muestran en la leyenda.

111

Figura 4.9 Gráficas bi-dimensionales del análisis de correspondencia canónico de acuerdo a los tres primeros ejes de ordenación de los datos de inferencia de dietas de ocho especies de crisomélido. Se proyectan las variables explicativas consideradas en el estudio: (a) especie, (b) tratamiento aplicado en laboratorio (muestras nativas o descontaminadas), y (c) tipo de amplificación de los fragmentos cloroplásticos (directa o con re-amplificación). Las cruces rojas muestran las coordenadas de la variable de respuesta (*species scores* en CCA) y los círculos representan los promedios ponderados de los individuos (*site scores* en CCA). Resultados basados en 999 permutaciones y escalamiento 1.

115

Figura 4.10 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Cassidinae (derecha) y su inferencia de plantas hospederas (izquierda), agrupadas por familia botánica, en la Reserva Miraflores-Moropotente. Los hispinos se representan en cajas negras y los cassidinos en gris y el número de especie es el mismo usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice V.

116

Figura 4.11 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Galerucinae s. l: galerucinos (izquierda), alticinos (derecha) y su inferencia de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica en la Reserva Miraflores-Moropotente. Los galerucinos se representan en cajas negras y los alticinos en gris y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice V.

Figura 4.12 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Cassidinae (izquierda) y Galerucinae s. l. (derecha) y sus inferencias de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica en la Reserva Natura. Los hispinos y galerucinos se representan en cajas negras y los alticinos y cassidinos en gris, y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice V.

117

Figura 4.13 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Cassidinae (izquierda) y Galerucinae s. l. (derecha) y sus inferencias de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica en la Reserva Domitila. Los hispinos y galerucinos se representan en cajas negras y los alticinos y cassidinos en gris y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice V.

118

Figura 4.14 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Cassidinae (derecha) y su inferencia de plantas hospederas (izquierda) agrupadas por familia botánica en la Finca Sierra Serena. Los hispinos se representan en cajas negras y los cassidinos en gris y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice V.

119

Figura 4.15 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Galerucinae s. l. y su inferencia de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica en la Finca Sierra Serena. Los galerucinos (izquierda) se representan en cajas negras y los alticinos (derecha) en gris, y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice V.

120

Figura 4.16 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros pertenecientes a cuatro localidades de la subfamilia Cassidinae (izquierda) y Galerucinae s. l. (derecha) y sus inferencias de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica. Se muestran las asociaciones insecto-planta para las localidades: (A) Reserva Natural San Cristóbal-Casita, (B) Reserva Natural Isla de Juan Venado, (C) Cruz Negra, y (D) Las Flores. Los hispinos y galerucinos se representan en cajas negras y los alticinos en gris, y el

122

número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice V.

Figura 4.17 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre cassidinos (izquierda) y Galerucinae s. l. (derecha) y sus inferencias de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica en el Jardín Botánico de León. Los galerucinos se representan en cajas negras y los alticinos y cassidinos en gris, y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice V.

123

Figura 4.18 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Cassidinae (izquierda) y Galerucinae s. l. (derecha) y sus inferencias de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica en la localidad de Cerro Negro. Los galerucinos e hispinos se representan en cajas negras y los cassidinos en gris, y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice V.

124

Figura 4.19 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Cassidinae (izquierda) y Galerucinae s. l. (derecha) y sus inferencias de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica en la localidad de La Paz. Los galerucinos e hispinos se representan en cajas negras y los cassidinos en gris, y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice V.

124

Figura 4.20 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Cassidinae (izquierda) y Galerucinae s. l. (derecha) y sus inferencias de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica en la localidad de Finca Escamequita. Los galerucinos e hispinos se representan en cajas negras y los cassidinos en gris, y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice V.

125

Figura 4.21 Inferencias de dieta (número de especies distintas según el criterio estricto de BAGpipe) observadas de 257 especies de coleópteros del bosque seco de Nicaragua. Se muestra la información de acuerdo a los grupos estudiados: alticinos, cassidinos, galerucinos e hispinos. Se indica el número total de especies de crisomélidos asociados al número de plantas que se han inferido como dieta para cada especie.

127

Figura 4.22 Inferencia de dietas (número de especies distintas según el criterio estricto de BAGpipe) observadas, tras eliminar las observaciones únicas, considerando únicamente las inferencias de dieta provenientes de especies con dos o más ejemplares estudiados.

128

Figura 4.23 Análisis de componentes principales (PCA) sobre la matriz de correlación de 24 variables ambientales.

134

Figura 4.24 Proyección en tres dimensiones de los eigenvalores de los tres primeros componentes, calculados a partir de PCA de variables ambientales de las localidades de bosque seco de Nicaragua del estudio.

137



# Índice de Tablas

	Pág.
<b>3 Materiales y Métodos</b>	
Tabla 3.1. Localidades de muestreo y forma de protección actual. Para cada localidad, se muestra el número total de individuos estudiados en esta tesis (n).	42
Tabla 3.2. Listado de cebadores utilizados para la amplificación y secuenciación de las regiones mitocondriales y cloroplásticas.	46
Tabla 3.3. Condiciones específicas de la PCR para cada pareja de cebadores utilizados en esta investigación.	47
Tabla 3.4. Parámetros especificados en la inferencia filogenética de Cassidinae y Galerucinae s. l. según el criterio bayesiano en el programa BEAST 1.8, considerando datos particionados y sin particionar. M = millones de generaciones.	52
Tabla 3.5. Descripción y origen de las variables ecológicas incluidas en la caracterización ambiental de las cuatro localidades de bosque seco tropical.	72
<b>4 Resultados</b>	
Tabla 4.1 Número de individuos, morfoespecies, y secuencias mitocondriales obtenidas, según la subfamilia y grupo de especies.	80
Tabla 4.2 Distancias genéticas interespecíficas no corregidas por pares, calculadas a partir de un total de 744 haplotipos de <i>cox1</i> . Los valores de error estándar (en la parte superior de la matriz) están calculados a partir de 100 pseudo-rélicas.	81
Tabla 4.3 Comparación de resultados de los análisis GMYC y bPTP/PTP con los diferentes métodos de delimitación de especies basados en árboles de genes para la subfamilia Cassidinae. Para cada método se detalla número de linajes evolutivos independientes ( $N_{lej}$ ), el número de linajes con más de un haplotipo ( $N_g$ ), incluyendo sus respectivos intervalos de confianza (IC), y el porcentaje de <i>singletons</i> (única especie de único haplotipo) inferidos. Además se detalla los valores de verosimilitud del modelo nulo ( $V_0$ ) (único evento de coalescencia en todo el árbol), y verosimilitud del modelo GMYC con umbral simple ( $V_{GMYC}$ ). La significación de la razón de verosimilitud (RV) fue evaluada usando un test chi-cuadrado con tres grados de libertad que comparó el modelo nulo y el modelo GMYC tal como está implementado en el programa SPLITS (*, $P < 0,001$ ).	83
Tabla 4.4 Incongruencia entre morfoespecies de cassidinos e hispinos y entidades moleculares delimitadas a partir de haplotipos de <i>cox1</i> con los métodos GMYC y PTP/bPTP.	87
Tabla 4.5 Comparación de resultados de los análisis GMYC y bPTP/PTP con los diferentes métodos de delimitación de especies basados en árboles de genes para la	88

subfamilia Galerucinae s. l.. Para cada método se detalla el número de linajes evolutivos independientes ( $N_{\text{lei}}$ ), el número de linajes con más de un haplotipo ( $N_g$ ), incluyendo sus respectivos intervalos de confianza (IC), y el porcentaje de *singletons* (única especie de único haplotipo) inferidos. Además se detallan los valores de verosimilitud del modelo nulo ( $V_0$ ) (único evento de coalescencia en todo el árbol), y verosimilitud del modelo GMYC con umbral simple ( $V_{\text{GMYC}}$ ). La significación de la razón de verosimilitud (RV) fue evaluada usando un test chi-cuadrado con tres grados de libertad, que comparó el modelo nulo y el modelo GMYC tal como está implementado en el programa SPLits (\*,  $P < 0,001$ ).

Tabla 4.6 Incongruencia entre morfoespecies de alticinos y galerucinos y entidades moleculares delimitadas a partir de haplotipos de *cax1* con los métodos GMYC y PTP/bPTP. 93

Tabla 4.7 Estimas de la riqueza de crisomélidos por localidad, en su conjunto y para el total del muestreo realizado en localidades al considerar morfoespecies (Mspp), especies con datos moleculares ( $E_{\text{mol}}$ ) y especies resultantes de la integración de datos moleculares y morfológicos ( $E_{\text{m&m}}$ ). Se detalla el número de unidades de muestreo (um), los individuos capturados (n) y las especies observadas ( $E_{\text{obs}}$ ), así como especies que se encontraron una única vez (U) o que se encontraron sólo dos veces (D). Para cada estimador se dan las especies esperadas ( $E_{\text{est}}$ ) y su desviación estándar (DE) o intervalos de confianza (IC). 97

Tabla 4.8 Diversidad beta de las comunidades de Cassidinae y Galerucinae s. l., así como para el total de los crisomélidos en las cuatro localidades estudiadas. La parte inferior de la diagonal muestra el número de especies compartidas ( $\text{Esp}_{\text{com}}$ ) entre cada par de localidades, y en la parte superior se muestran los valores obtenidos de disimilitud total en composición de especies ( $\beta_{\text{sor}}$ ). En negrita se muestra la mayor similitud entre localidades, y en cursivas las mayores diferencias entre comunidades, según el coeficiente de Sørensen. 100

Tabla 4.9 Número de secuencias cloroplásticas obtenidas, diferenciando aquellas que fueron recuperadas por amplificación directa (incluidas las que requirieron cebadores internos) y a través de bandas múltiples cortadas en gel de agarosa.  $n$  representa al número de individuos para los cuales se pudo recuperar secuencias *psbA-trnH*, supuestamente de su contenido estomacal. 103

Tabla 4.10 Grado de resolución taxonómica en la identificación de fragmentos cloroplásticos *psbA-trnH* obtenidos a partir de extracciones de ADN total de Chrysomelidae y aplicando el método de BAGpipe. 105

Tabla 4.11 Secuencias *psbA-trnH* recuperadas para diferentes grupos experimentales, y de acuerdo con la forma de obtención de las mismas, detallándose el número de individuos analizados (n). 106

Tabla 4.12 Precisión taxonómica de identificaciones de plantas basadas en secuencias *psbA-trnH* de ocho especies de escarabajos según el método de BAGpipe. Se detalla el número de especímenes (n) por especie, y el número de asignaciones taxonómicas por criterio de identificación, según se hayan asignado a especie (E), género (G), tribu u 107

otro nivel supragenérico (T) o familia (F).

Tabla 4.13 Inferencias taxonómicas basadas en datos de *psbA-trnH* para muestras de especímenes (*N*) de *Ischnocodia annulus* (*n*) colectados sobre diferentes especies vegetales. 108

Tabla 4.14 Diversidad de especies inferidas según el procedimiento de amplificación del fragmento cloroplástico *psbA-trnH* y el tipo de tratamiento aplicado. Se muestran los resultados del número de asignaciones taxonómicas y entre paréntesis se indica el número de familias botánicas a la que pertenecen dichas asignaciones. 108

Tabla 4.15 Resumen de la identificación taxonómica de 861 secuencias cloroplásticas *psbA-trnH* obtenidas en 12 localidades, según el criterio filogenético estricto implementado en BAGpipe. Se detalla el número de especies de escarabajos y el número de interacciones insecto-planta (*n*) recuperadas en total y para cada localidad, así como la precisión taxonómica a nivel de especie (E), género (G), tribu (T), o familia (F). 112

Tabla 4.16 Inferencias de dieta y riqueza de especies de acuerdo a la familia botánica. Se muestra la cantidad total de interacciones encontradas para cada familia, destacando en negrita las inferencias más abundantes, y en cursivas los registros más altos de riqueza de especies por familia botánica. Se muestran resultados para abundancias mayores a 25 por familia. 126

Tabla 4.17 Medidas descriptoras cualitativas y cuantitativas de la topología de las redes alimenticias de crisomélidos del bosque seco tropical de Nicaragua. Para las cuatro localidades principales se calculó: (i) número de conexiones por especie, (ii) conectancia, (iii) número de módulos, (iv) hospederos compartidos, (v) robustez de la red trófica, (vi) generalidad compensada, (vii) solapamiento de nicho y (viii) especialización. Se destaca en negritas los máximos valores obtenidos para cada medida, y en cursivas los valores más bajos. La medida de robustez de la red trófica fue calculada siguiendo (a) un escenario de extinción de especies vegetales al azar, y (b) un escenario en que la extinción se inicia a partir de las plantas que reciben más interacciones. 130

Tabla 4.18 Distancias geográficas entre localidades de muestreo, expresadas en grados sexagesimales. La distancia de los sitios más próximos se muestra en cursivas, mientras que los sitios más lejanos se muestra en negrita. 132

Tabla 4.19 Matriz de distancias florísticas según el coeficiente de disimilitud de Sørensen. La mayor diferencia florística entre sitios se muestra en negrita, mientras que los sitios con composición florística más semejante se muestra en cursivas. 133

Tabla 4.20 Variables ambientales involucradas en el análisis CCA, agrupadas según atributos abióticos, ecosistémicos y altitud. Se detallan los resultados de ANOVA y en negrita se destacan aquellas variables significativas. 135

Tabla 4.21 Distancias ambientales, calculadas a partir de análisis de componentes principales (PCA) utilizando información de precipitación, temperatura, porcentaje de cobertura vegetal, altitud, evapotranspiración anual, aridez media anual y biomasa. La distancia de los sitios más semejantes según este criterio se muestra en cursivas, mientras que la de los sitios más divergentes se muestra en negrita.

138

Tabla 4.22 Análisis de regresión múltiple sobre matrices de distancia, evaluando la influencia de variables individuales sobre las diferencias en la composición de las comunidades de crisomélidos en el bosque seco de Nicaragua. Se reportan los coeficientes, error estándar,  $P$ , así como  $R^2$  y  $R^2$  ajustada de los modelos. Variables con un efecto condicional significativo se destacan en negrita.

139

## 5 Discusión

Tabla 5.1 Diferencias en la selección trófica, medida a partir del índice de disimilitud Sørensen entre cuatro localidades de bosque seco tropical en Nicaragua. La mayor divergencia en inferencia de dietas entre comunidades se destaca en negrita y la más semejante en cursivas.

165





# INTRODUCCIÓN



## Prólogo

El bosque seco tropical, con una gran riqueza de especies y endemismos, suele estar integrado en *hotspots* de biodiversidad, y debido a alteraciones por actividades antropogénicas, ha sido catalogado como el bioma terrestre más amenazado del planeta. Se estima que a nivel global queda menos de un 2% de su distribución original, por lo cual su estudio es prioritario para poder acometer su restauración y conservación. En este proyecto de tesis, se estudió la diversidad de especies de crisomélidos (Coleoptera: Chrysomelidae) y sus plantas hospederas en remanentes de bosque seco tropical en Nicaragua, utilizando herramientas moleculares que permiten acelerar el proceso de caracterización de estos componentes de la biodiversidad. Específicamente, para analizar la diversidad de crisomélidos, el trabajo se centró en dos subfamilias especialmente ricas en especies, Cassidinae y Galerucinae *sensu lato*, y se utilizaron secuencias mitocondriales y métodos filogenéticos para la delimitación de especies. Los linajes evolutivos independientes que se identificaron fueron contrastados con evidencia morfológica. Adicionalmente, se aplicaron metodologías moleculares para inferir las asociaciones tróficas de estos insectos a partir de la amplificación de secuencias cloroplásticas provenientes de las plantas usadas como alimento, y cuyo ADN estaría presente en las extracciones de ADN total de los animales. La combinación de información sobre las comunidades de escarabajos herbívoros y sus asociaciones con plantas permitió una caracterización detallada de dos componentes muy diversos del bioma estudiado. Finalmente, se exploraron los potenciales factores ecológicos y ambientales que podrían influir sobre la diversidad de crisomélidos del bosque seco tropical en Nicaragua.



## 1.1 Sobre la diversidad biológica

### 1.1.1 Antecedentes

Nada sobre el planeta Tierra es tan complejo y maravilloso como la diversidad biológica. Durante los dramáticos 4,5 billones de años del planeta Tierra, se han producido significativos cambios biológicos, climáticos y geológicos que han modelado la diversidad de organismos que observamos en la actualidad. Desde las primeras cianobacterias aparecidas en la Era Neoarcaica, los trilobites y primeros peces del periodo Cámbrico, las primeras plantas terrestres del género *Cooksonia* originadas en el periodo Silúrico, la aparición de los primeros insectos en el periodo Carbonífero, los mamíferos y reptiles que aparecieron posteriormente en el periodo Triásico: todos los organismos que una vez existieron o existen hoy en día, constituyen la diversidad biológica.

El término “diversidad biológica” fue usado por primera vez en el contexto de la conservación por Ramyond F. Dasmann en 1968 e introducido a la comunidad científica por Thomas Lovejoy en 1980. Sin embargo, fue el famoso entomólogo Edward O. Wilson quien popularizó el término como su contracción, **Biodiversidad**, en 1988. El término Biodiversidad, en su sentido más amplio es casi sinónimo de *vida sobre la Tierra* (Fottit & Adler 2009) y abarca muchos aspectos: diversidad de especies, diversidad de ecosistemas, diversidad de interacciones, diversidad genética, etc., y aunque no hay una única definición, el Convenio de las Naciones Unidas para la Diversidad Biológica ([www.cbd.int](http://www.cbd.int)) propone el siguiente concepto:

*“Por diversidad biológica se entiende la variabilidad de organismos vivos de cualquier fuente, incluidos, entre otras cosas, los ecosistemas terrestres y marinos y otros ecosistemas acuáticos, y los complejos ecológicos de los que forman parte; comprende la diversidad dentro de cada especie, entre las especies y de los ecosistemas.”*

A pesar de todos los esfuerzos que se han hecho en el transcurso de los años por catalogar a los seres vivos, la mayor parte de la biodiversidad aún es desconocida para la Ciencia. Por ejemplo, si nos centramos en animales vertebrados, los mamíferos, aves y anfibios están relativamente mejor catalogados y estudiados que otros grupos (Jenkins *et al.* 2013), o las mariposas en el caso de los invertebrados (Lewis & Senior 2011). Estudios recientes han estimado que la diversidad global de especies estaría entre  $\sim 5 \pm 3$  (Costello *et al.* 2013) y  $\sim 8,7 \pm 1,3$  millones de especies marinas y terrestres (Mora *et al.* 2011), de las cuales estarían descritas  $\sim 1,6$  millones

según el Catálogo de la Vida (Roskov *et al.* 2015, Figura 1.1), siendo más de la mitad **insectos**. En términos generales faltaría por descubrir y describir el ~86 % de las especies del planeta (Mora *et al.* 2011).

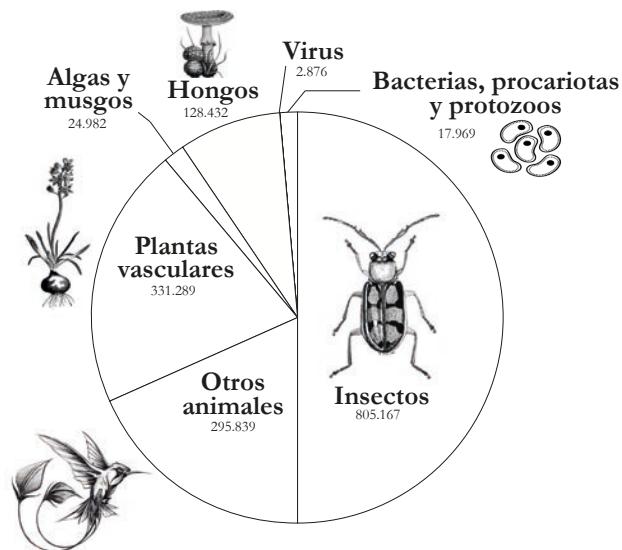


Figura 1.1 Número total de especies conocidas y descritas para la Ciencia, agrupadas en los grandes grupos principales. Fuente: Catálogo de la Vida, lista del año 2015 (Roskov *et al.* 2015).

Así, aunque en la actualidad haya alrededor de un millón y medio de especies formalmente descritas, se ha estimado que sólo para catalogar todo el reino animal, se requerirían 360 años y costaría 263 billones de dólares si se mantiene el ritmo actual de descripción de especies (Carbayo & Marques 2011). A esto se suma el hecho de que en muchos casos, las claves taxonómicas de áreas o grupos específicos son insuficientes o inexistentes, existen especies morfológicamente casi indistinguibles (crípticas) y la literatura taxonómica a veces es contradictoria (Hoagland 1996). Para agravar la situación, la tarea de catalogar las especies existentes es más urgente que nunca, considerando su extinción masiva causada principalmente por presiones antropogénicas. La considerable disminución del número de taxónomos especialistas en los últimos años (Agnarsson & Kuntner 2007), ha conducido a la comunidad científica a reconocer que existe un “impedimento taxonómico” (Rodman & Cody 2003; Miller 2007). Para superarlo, se han explorado algunas alternativas, como la propuesta de acelerar la evaluación de la biodiversidad de Oliver & Beattie (1996), pero con total seguridad, se requiere más que nunca desarrollar y emplear nuevos métodos y tecnologías eficientes para el estudio de la biodiversidad.

### 1.1.2 La especie como unidad fundamental de la biodiversidad

La unidad fundamental de la biodiversidad es la especie. Su concepto, esto es, qué es una especie, ha generado muchos debates y controversia ya desde el siglo XIX, sin existir un consenso claro, y cuya concepción suele ir íntimamente ligada al nivel de estudio que se quiere abordar: poblacional, morfológico, genético, evolutivo, taxonómico, etc. (Wheeler & Meier 2000; De Queiroz 2007; Leliaert *et al.* 2014). Tal ha sido el grado de debate en el campo teórico, que Mayden (1997) recopiló hasta 25 conceptos de especie, cada uno basado en diferentes requisitos que se atribuían a la especie. Por ejemplo, las especies pueden describirse siguiendo criterios que se basan específicamente en su ecología, sus caracteres morfológicos, o sus características genéticas (Figura 1.2). En la actualidad, la propuesta de un Concepto Unificado de Especie (*Unified Species Concept* o USC; De Queiroz 2005), separa la parte teórica común de los diferentes conceptos y considera que las especies son linajes metapoblacionales separados evolutivamente, entendiéndose como linaje a la sucesión ancestro-descendiente, y como metapoblación, a una población formada por subpoblaciones interconectadas entre ellas. Sin embargo, el hecho de que algunos grupos como las angiospermas, los vertebrados o los insectos permiten hacer un diagnóstico taxonómico directo a nivel de especie, más certero que lo que sucede con otros grupos, especialmente si son de morfología similar (por ejemplo: protistas, bacterias o virus), es un indicativo de que se requiere una taxonomía más integrativa que combine diferentes fuentes de información: morfológica, geográfica, ecológica, de reproducción y molecular dentro de un marco conceptual establecido para definir hipótesis de especies sólidas (De Queiroz 2007; Padial *et al.* 2010).

Una de las tareas fundamentales de la Taxonomía ha sido reconocer las especies en la Naturaleza y darles nombre para describir y catalogar a los organismos que nos rodean. Hace más de 250 años, el naturalista sueco Carl Linnaeus revolucionó la forma de catalogar a los seres vivos, al hacer dos contribuciones muy significativas a esta disciplina. Su primera contribución, *Systema Naturae* (Linnaeus 1735), consistió en un sistema jerárquico de clasificación que agrupaba a los seres vivos en rangos taxonómicos según sus similitudes anatómicas, y que sigue utilizándose en la actualidad. Su segunda contribución (y complementaria a la primera) fue el sistema binomial de nomenclatura, para dar un nombre único en latín a cada especie, inicialmente aplicado a la descripción de individuos del reino vegetal en *Species Plantarum* (Linnaeus 1753), y posteriormente con

animales en la décima edición de *Systema Naturae*, en 1758. En la actualidad, aplicando este sistema de nomenclatura, según la ICZN (*International Commission on Zoological Nomenclature*) cada año se describen aproximadamente 16.000-20.000 especies animales nuevas para la Ciencia.

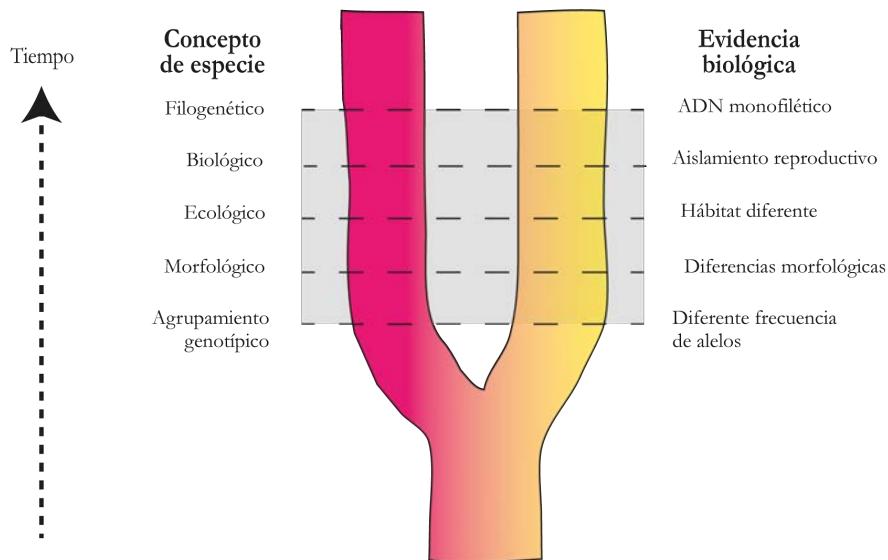


Figura 1.2 Esquema conceptual muy simplificado del proceso de especiación, adaptado de De Queiroz (2007) y Leliaert *et al.* (2014). La zona gris representa etapas del proceso de especiación en el transcurso del tiempo, y las líneas punteadas representan las diferentes propiedades (evidencias biológicas) que adquieren con el transcurso del tiempo.

### 1.1.3 Estado actual de la biodiversidad

En la actualidad, nos enfrentamos a una crisis de biodiversidad aguda y de profundas implicaciones. En los últimos 500 años se han producido una serie de extinciones, comparables en tasa y magnitud con las cinco extinciones en masa que ha sufrido la Tierra previamente (Barnosky *et al.* 2011). Si consideramos que una extinción en masa ocurre cuando se pierden más de las tres cuartas partes de las especies de la Tierra en un intervalo geológico corto (Bambach 2006) podemos empezar a vislumbrar el tipo de problema al que nos enfrentamos. El problema es tan crítico que se ha propuesto el término *desfaunación* para referirse a la rápida y constante pérdida de especies animales de un ecosistema o bioma determinado por causas antropogénicas y el cambio climático del planeta (Dirzo *et al.* 2014). En este trabajo, los autores hacen una revisión exhaustiva sobre la pérdida de especies y señalan que al menos 322 especies de vertebrados terrestres se han extinguido desde el año 1.500 de nuestra era, y las poblaciones de las especies restantes muestran en

promedio un 25 % de disminución de sus abundancias. Además realizan una síntesis detallada del caso de los invertebrados, cuya realidad es peor todavía: utilizando los datos de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) de 203 especies de insectos de cinco órdenes, la mayoría muestran altos porcentajes de disminución de especies, especialmente coleópteros y ortópteros (Figura 1.3A). Cuando evaluaron la situación actual de la diversidad de invertebrados usando estudios realizados a largo plazo en áreas geográficas con relativamente muchas especies conocidas, como es el caso de Reino Unido, los resultados revelaron un alto porcentaje en la disminución del número de especies en el transcurso de 40 años, siendo los odonatos y lepidópteros los más afectados (Figura 1.3B) (Thomas 2016). Entre los invertebrados, quizás uno de los grupos mejor estudiados es el de los lepidópteros, y estos estudios a largo plazo mostraron (i) un patrón de disminución constante en la abundancia de sus poblaciones, más marcado aún para el resto de invertebrados estudiados (Figura 1.3C), y (ii) un efecto muy negativo sobre dichas poblaciones de lepidópteros debido a la perturbación en los ecosistemas (Figura 1.3D).

La comprensión de los efectos de esta pérdida de biodiversidad es muy limitada, aunque es de esperar que distintos procesos ecológicos, como polinización y la producción de semillas, control de plagas y vectores de enfermedades, ciclos de nutrientes, calidad del agua o sustento alimenticio al hombre, entre otros, estén muy comprometidos. Sin embargo, los efectos *per se* de la defaunación implican mucho más que perder especies en un ecosistema, implica transformaciones obligatorias en la composición, conexión y funcionalidad de las comunidades, causando cambios obligados en los ecosistemas. Con la incorporación en los últimos años de información molecular, que revela la historia evolutiva de las especies, se han empezado a estudiar las implicaciones en la diversidad y el ensamblaje de las comunidades (por ejemplo: Tripp & Manos 2008; Cavender-Bares *et al.* 2009; González-Caro *et al.* 2014; Andújar *et al.* 2015). Sin embargo, persiste la tendencia a estudiar vertebrados y plantas vasculares, recibiendo los invertebrados muy poca atención en comparación. Esta situación, por lo tanto, requiere que los esfuerzos de monitoreo y estudios vayan enfocados a los grupos taxonómicos *menos carismáticos*, particularmente invertebrados. Son, con mucha diferencia, los más abundantes del planeta y su desaparición sin lugar a dudas afectará al equilibrio ecológico del planeta.

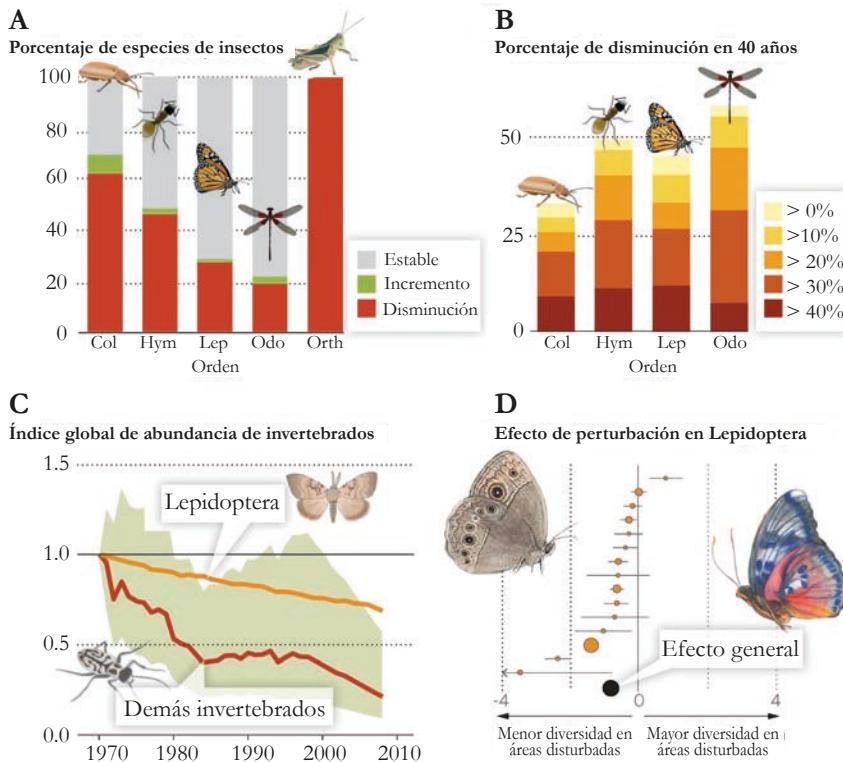


Figura 1.3 Análisis del estado de la biodiversidad de invertebrados de Dirzo *et al.* (2014), a partir de la lista de insectos que constan en alguna categoría de amenaza de la UICN, esto es menos del 2,7 % de las especies identificadas taxonómicamente. (A) De todos los insectos con tendencias poblacionales documentadas por la UICN, el 33 % están en declive, con una fuerte variación entre órdenes. (B) Tendencias entre insectos del Reino Unido (con colores indicando el porcentaje de disminución en 40 años), muestran que un 30-60 % de las especies han visto su área de distribución reducida. (C) A nivel global, el índice de abundancia de invertebrados muestra una disminución general del 45 %, aunque el caso de Lepidoptera es menos severo que para los otros órdenes. (D) Un meta-análisis de los efectos de perturbaciones antropogénicas en Lepidoptera, el taxón de invertebrados mejor estudiado, muestra una considerable disminución de su diversidad a nivel generalizado.

### 1.1.4 Métodos moleculares al rescate: delimitación e identificación de especies en la época molecular

En el transcurso del siglo XIX, el concepto de *Árbol de la Vida* estaba ya extendido, y con él la idea de establecer una forma de agrupar a los seres vivos según sus rasgos evolutivos (Lamarck 1809; Darwin 1859). Sin embargo, no fue sino hasta la aparición de la propuesta de una sistemática formal, fenética o filogenética (Sokal & Sneath 1963; Hennig 1965), cuando se propusieron de forma explícita los principios a la hora de

clasificar a los organismos. El fin de estas propuestas era que estas clasificaciones reflejaran las relaciones evolutivas de los organismos, rastreando las características compartidas entre especies, en una clasificación fenética, o derivadas desde un ancestro común a todos sus descendientes en una filogenética. De forma paralela, sucedieron importantes descubrimientos en el campo de la biología molecular moderna, que junto con las nuevas tecnologías, han permitido avances muy significativos en distintas disciplinas, donde los caracteres moleculares constituyen una evidencia más informativa, menos sesgada, fácilmente medible y comparable, de los procesos ocurridos en la diversificación de un grupo de especies. Dicho impulso ha supuesto que, por ejemplo, en los últimos diez años haya resurgido el interés por una taxonomía integrativa que combina diferentes tipos de datos y metodologías para solventar el ya mencionado impedimento taxonómico (Pante *et al.* 2014).

Las especies deberían delimitarse de la forma más objetiva y rigurosa posible (Miralles & Vences 2013), y en la actualidad la Sistemática dispone de métodos para una taxonomía objetiva, orientada a testar hipótesis de forma rigurosa. Los avances en biología molecular proporcionan, hoy por hoy, el uso de evidencia directa del genotipo, como son las secuencias de ADN, ofreciendo instrumentos para evaluar de forma independiente la transición de caracteres de ancestro a descendientes. Si se añade el notable incremento de teorías y herramientas genómicas y bioinformáticas, donde las secuencias de ADN pueden ser transformadas en árboles filogenéticos para inferir relaciones y procesos históricos, se puede acelerar el proceso de delimitación e identificación de especies. Debido a estos progresos, actualmente las especies pueden ser vistas como entidades comprobables estadísticamente bajo modelos explícitos, evitando el potencial sesgo de las clasificaciones basadas exclusivamente en morfología y principio de autoridad.

Una gran cantidad de estudios en Biología dependen de una taxonomía clara, límites de especies precisos y conocimientos sobre las relaciones filogenéticas entre especies (Sites & Marshall 2004). Las técnicas moleculares han revolucionado la forma en que se investiga la biodiversidad (Yu *et al.* 2012), y son especialmente útiles cuando las características morfológicas son poco informativas o difíciles de medir. Los datos genéticos son una valiosa fuente de información concerniente a procesos relacionados con la especiación y también la delimitación de especies, pues son heredados y esto es de importancia en Taxonomía para reflejar la relación ancestro-descendiente (Fujita & Leaché 2011). Sin embargo, la falta de un enfoque estandarizado para la clasificación

taxonómica de especies, así como la falta de consenso en la definición de la categoría de especie entre los taxónomos, ha llevado eventualmente a diversas opiniones sobre el límite de las especies.

#### 1.1.4.1 El aporte de los métodos moleculares a la delimitación de especies

La delimitación molecular de especies es una práctica metodológica para identificar linajes evolutivos independientes sin flujo genético entre sí (Sites & Marshall 2003; De Queiroz 2007). Los métodos de delimitación basados en árboles filogenéticos delimitan a las especies según las propiedades relacionadas con la topología de estos árboles (Sites & Marshall 2003), pueden usar información proveniente de un único gen o de varios genes y están enfocados tanto al descubrimiento como a la validación de especies (Carstens *et al.* 2013). Desde una perspectiva conceptual, la delimitación de especies sigue el concepto filogenético de especie (Baum 1992), con lo que idealmente debería utilizar árboles inferidos a partir de múltiples *loci* independientes, como propone, por ejemplo, el método BP&P (*Bayesian Phylogenetics and Phylogeography*; Yang & Rannala 2010), que considera la varianza de la coalescencia entre genes. Sin embargo, estos métodos aún son difíciles de aplicar por limitaciones prácticas y de presupuesto, sobre todo en estudios de biodiversidad a gran escala, por lo cual las inferencias filogenéticas de un único *locus* resultan una aproximación válida, práctica y viable para la delimitación de especies.

Aunque ya en la década de los años 90 se propusieron metodologías para delimitar especies utilizando datos moleculares (por ejemplo: Davis & Nixon 1992; Brower 1999), estos procedimientos requerían que se definieran previamente las poblaciones a delimitar, lo que comprometía su aplicación. El primer método específicamente propuesto para inferir especies a partir de datos moleculares usando secuencias de ADN mitocondrial, fue el modelo Generalizado Mixto de Yule y Coalescencia (GMYC; Pons *et al.* 2006), el cual no requiere conocimientos *a priori* sobre las poblaciones a definir ni del número de especies a delimitar, y en los siguientes años se han propuesto otras metodologías para este propósito. Entre ellas, se encuentra el método de Árboles por Procesos de Poisson (PTP; Zhang *et al.* 2013). Existen diferencias importantes entre los métodos mencionados: GMYC expresamente requiere la utilización de un árbol filogenético ultramétrico de un único *locus* y aplica la teoría de Coalescencia; el método PTP se aplica a partir de un árbol no ultramétrico de un único gen o varios, no precisa de un conocimiento previo de las poblaciones y no utiliza explícitamente el modelo de coalescencia. En el caso de BP&P, está diseñado exclusivamente para usar árboles creados a

partir de varios genes, utiliza el modelo coalescente de múltiples especies (Rannala & Yang 2003) y se necesitan conocimientos previos de las poblaciones a delimitar. Estos métodos forman hipótesis de especies putativas que pueden ser verificadas si hay información disponible, por ejemplo con datos morfológicos o de distribución geográfica, entre otros.

#### 1.1.4.2 Identificación de especies por métodos moleculares

Las herramientas moleculares también han contribuido a la identificación de especies, permitiendo asignar una taxonomía conocida a secuencias desconocidas, utilizando tanto criterios fenéticos como filogenéticos. Los códigos de barras (*barcoding*) en el sentido estricto (Hebert *et al.* 2003), se utilizan como herramienta para identificar rápidamente especies ya identificadas por medio de la comparación contra una base de datos de ADN y su eficacia radica en la selección de una región genética cuya tasa de mutación es lo suficientemente lenta como para que la variación intraespecífica sea mínima, pero lo suficientemente rápida como para resaltar la variación interespecífica que separa a las especies (Hebert *et al.* 2003; Hebert & Gregory 2005). En el caso particular de los animales, se identificó que el gen mitocondrial para la subunidad 1 de la citocromo oxidasa *c* (*cox1*) constituía la región más prometedora para distinguir especies (Hebert *et al.* 2003), y en los últimos años un gran número de investigaciones han evaluado y confirmado su eficacia. El caso de las plantas es diferente, ya que desde que se documentó que la región *cox1* de este grupo tenía bajo nivel de divergencia entre las diferentes familias botánicas, diferentes regiones cloroplásticas como *rbcL*, *rps16*, *matK*, *trnL*, *psbA-trnH* y otras, se han propuesto y utilizado para evaluar su poder de discriminación de especies (Shaw *et al.* 2005; Kress *et al.* 2005), siendo *rbcL* + *matK* propuestas como candidatas en estudios de *barcoding* y *psbA-trnH* la tercera mejor opción (CBOL Plant Working Group 2009). En general, la principal ventaja de utilizar un criterio fenético es que permite acelerar el ritmo de la identificación de especies, algo particularmente beneficioso en estudios de diversidad a gran escala y áreas megadiversas. No obstante, también tiene limitaciones de aplicación, sobre todo si la región genética utilizada no es óptima para discriminar especies o la base de datos contra la que se comparan las secuencias no es exhaustiva. Por otra parte, la incorporación de métodos filogenéticos para la identificación de secuencias desconocidas (Ross *et al.* 2008; Berger *et al.* 2011), permite utilizar los códigos de barra de ADN para inferir árboles filogenéticos con secuencias de taxonomía conocida y desconocidas, situando estas últimas en el contexto del árbol filogenético, y asociando la taxonomía a su clado correspondiente.

Tanto los criterios fenéticos como filogenéticos son complementarios y la utilidad de ambos depende de la exhaustividad y rigor de la base de datos de referencia para generar una asignación taxonómica correcta. En la actualidad existen varias iniciativas para contribuir a la identificación de especies de forma rápida y rigurosa, a nivel global, regional o local, fundamentalmente a través de la creación de repositorios de secuencias moleculares y su mantenimiento, por ejemplo en GenBank, BOLD, EMBL, DDBJ, BOLI (*The Barcode of Life Initiative*) (Costa & Antunes 2012), o ZooBank (Polaszek 2005), entre otros. Con este tipo de información, se presume que la tarea de estudiar la biodiversidad de zonas megadiversas y/o inexploradas, con muchas especies aún por descubrir y describir, resultará más rápida y eficiente (Yu *et al.* 2012; Zhou *et al.* 2013; Gibson *et al.* 2014; Joly *et al.* 2014; Andújar *et al.* 2015; Gómez-Rodríguez *et al.* 2015; Gómez-Zurita *et al.* 2016).

## 1.2 Grupo de estudio: la contribución de Chrysomelidae a la biodiversidad tropical

Los insectos, otros invertebrados y hongos constituyen la mayoría de las especies descritas (Stork & Habel 2014) y la Región Neotropical es la región más diversa de la Tierra también para estos organismos (Antonelli & Sanmartín 2011). En la actualidad, más de un millón de las especies descritas son insectos, pero las estimas totales de la diversidad de insectos varían entre 2,6 y 7,8 millones (Stork *et al.* 2015). De entre los insectos, los coleópteros son uno de los grupos más diversos que han evolucionado para ocupar casi cualquier hábitat terrestre, incluyendo las aguas continentales, y debido a su abundancia y megadiversidad, constituyen todo un reto para la Taxonomía. El orden Coleoptera es uno de los 29 órdenes de la clase Insecta, y junto a Hymenoptera, Diptera, Lepidoptera y Hemiptera reúnen al 81 % de todas las especies vivas descritas de insectos (Grimaldi & Engel 2005; Stork *et al.* 2015). De estos órdenes, los coleópteros constituyen el 40 % de esa diversidad, con estimas de entre 0,9 y 2,1 millones de especies (Stork *et al.* 2015).

Los coleópteros muestran la diversidad de especies más alta del planeta, excediendo a la de cualquier grupo vegetal o animal (Farrell 1998), con más de 350.000 especies descritas y con muchísimas más por descubrir, y aparecieron hace 285-318 millones de años atrás (Hunt *et al.* 2007; Béthoux 2009) (Figura 1.4), siendo las familias Carabidae, Chrysomelidae, Curculionidae y Staphylinidae algunas de las más ricas en especies, especialmente en las áreas tropicales.

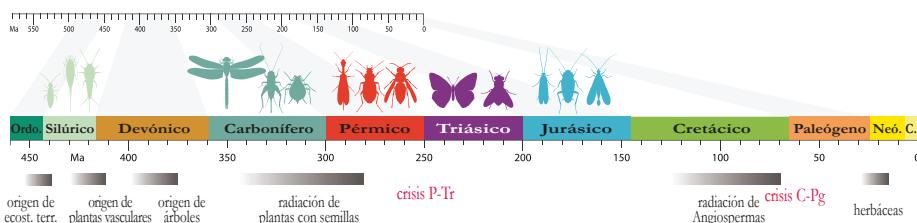


Figura 1.4 Aparición de los principales clados de insectos y eventos biológicos trascendentales, en las distintas eras geológicas. Adaptado de Misof *et al.* (2014). Ordo: Ordovícico; Neó: Neógeno; C: Cuaternario.

La enorme variedad de nichos ecológicos que ocupan los coleópteros en la naturaleza, se refleja en la gran variedad de regímenes alimenticios que tienen, jugando un papel trascendental en el equilibrio de los ecosistemas, al interactuar de muchísimas formas con su entorno. Encontramos, por

ejemplo, coleópteros antófagos, coprófagos, depredadores, detritívoros, espermófagos, frugívoros, fungívoros, herbívoros, necrófagos, polinífagos, saprófagos, xilófagos, pudiendo ser muy específicos en su alimentación, o por el contrario ser omnívoros. Justamente, entre los grupos más exitosos en términos de riqueza de especies, se encuentran varios grupos de escarabajos herbívoros, incluyendo los gorgojos (Curculionidae), los escarabajos longicornios (Cerambycidae) y los crisomélidos (Chrysomelidae), que conforman la mayor cantidad de asociaciones de los insectos con las angiospermas (Robertson *et al.* 2015). Así, más de la mitad de los coleópteros son herbívoros y se alimentan principalmente de angiospermas, el grupo más diverso de plantas con flores: 295.383 especies vegetales descritas según Christenhusz & Byng (2016).

Siendo la asociación trófica más exitosas en términos de abundancia y diversidad la de las superfamilias Chrysomeloidea y Curculionoidea con angiospermas, estos grupos taxonómicos resultan por tanto muy interesantes para estudiar esta asociación, que representa una de las formas de interacción antagónica más abundantes en la naturaleza, la de los herbívoros con las plantas de que se alimentan. Esto es especialmente remarcable en las áreas tropicales, si consideramos que en la región Neotropical viven más del 37 % de todas las especies de plantas conocidas para la ciencia (Antonelli & Sanmartín 2011), y que, en conjunto, el 50 % de las especies descritas de plantas vasculares e insectos viven en los trópicos (Price 2002; Futuyma & Agrawal 2009). De las familias con hábitos exclusivamente herbívoros, este proyecto se enfocó en la familia Chrysomelidae, y a continuación se exponen sus principales características.

### 1.2.1 La familia Chrysomelidae

La familia Chrysomelidae (Latreille 1802) es una de las familias de coleópteros más diversas y exitosas en términos evolutivos e incluye más de 40.000 especies descritas en unos 2.000-3.000 géneros válidos (Farrell 1998; Chaboo 2007; Jolivet *et al.* 2008), pertenecientes a diez subfamilias (Gómez-Zurita *et al.* 2008): Bruchinae, Cassidinae, Chrysomelinae, Criocerinae, Cryptocephalinae, Donaciinae, Eumolpinae, Galerucinae *sensu lato*, Spilopyrinae, y Syнетinae (Figura 1.5). Los crisomélidos en su mayoría se alimentan de angiospermas, tanto monocotiledóneas como dicotiledóneas, mientras que algunos se asocian a coníferas, y muy pocos prefieren helechos y cíadas como alimento (Riley *et al.* 2002), presentando en general diferencias en la especificidad y preferencias

alimenticias. Las especies de esta familia utilizan varios mecanismos de defensa ante potenciales depredadores y parásitos, ya que además de volar para escapar de los depredadores, algunas especies crean una cubierta de excrementos para esconderse, utilizan inmovilización refleja, autohemorragia (secreción defensiva), otros regurgitan toxinas, se esconden en la parte inferior de las hojas para evitar ser vistos por depredadores, otras especies hacen escudos o capullos, construyen ootecas para resguardar los huevos, o saltan hacia el suelo donde es más difícil de verlos. También están los que se camuflan o mimetizan según el sustrato en el que viven. Algunos cassidinos poseen unos élitros extremadamente fuertes, lo que les daría protección contra depredadores, y otros están tan sujetos a las hojas que es muy difícil desprenderlos de ellas (Jolivet & Petitpierre 1981). En este proyecto de investigación se estudiaron dos subfamilias: Cassidinae (Gyllenhal 1813) y Galerucinae *sensu lato* (Latreille 1802), de las más abundantes de la familia, y a continuación se dará una visión general de las especies incluidas en estos dos grupos taxonómicos.

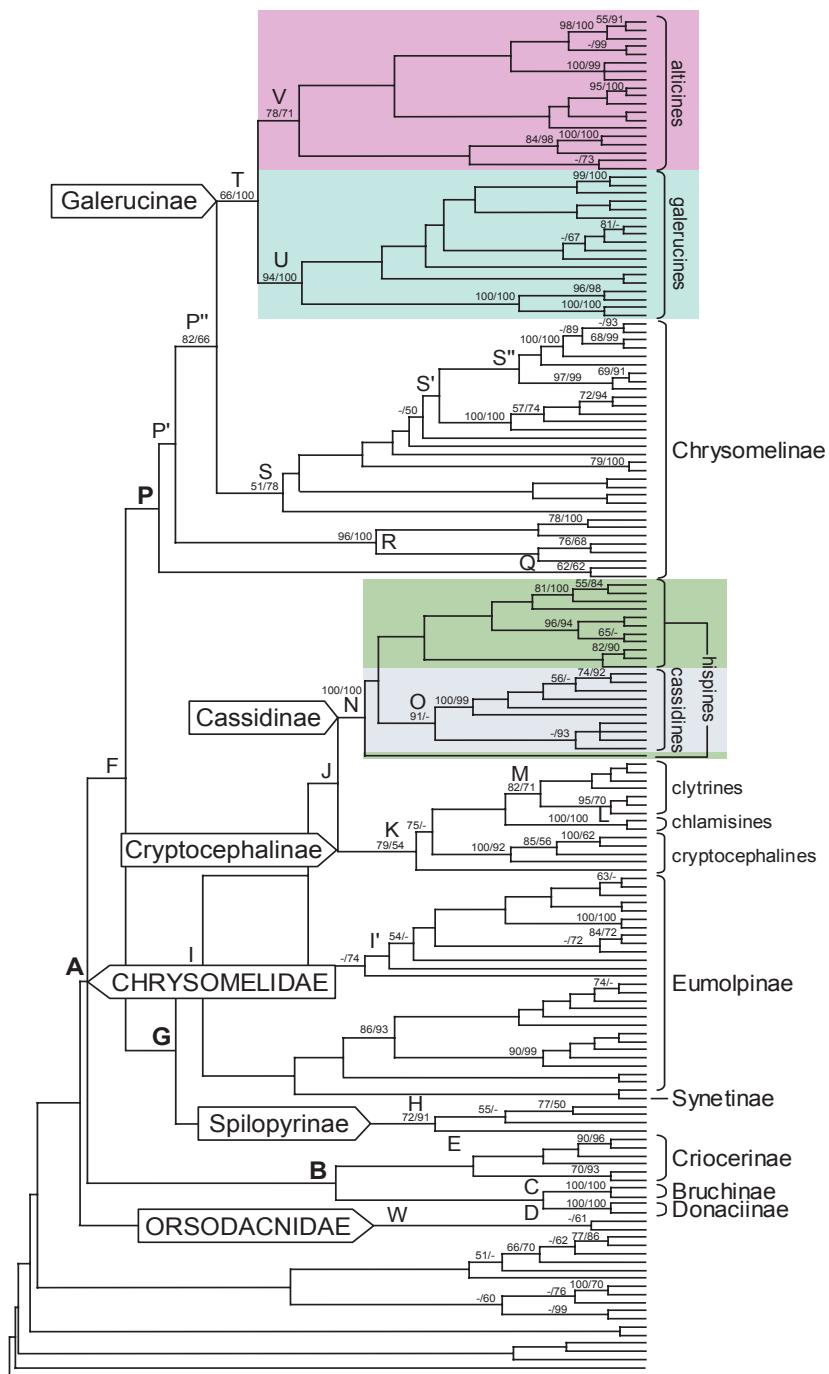


Figura 1.5 Árbol filogenético más parsimonioso de la familia Chrysomelidae basado en el análisis de tres marcadores moleculares. Los cuatro grupos de crisomélidos estudiados en la tesis se destacan en diferentes colores, diferenciando en la subfamilia Cassidinae los cassidinos (gris) e hispinos (verde), y en la subfamilia Galerucinae *sensu lato* los alticinos (rosa) y galerucinos (celeste). Modificado de Gómez-Zurita *et al.* (2007).

### 1.2.1.1 Subfamilia Cassidinae

Esta subfamilia consta de ~6.000 especies descritas (Wilf *et al.* 2000; Chaboo 2007) en 42 tribus, siendo particularmente rica en especies en el Neotrópico. Incluye dos grupos principales: cassidinos e hispinos (Figura 1.6), que previamente tenían el rango taxonómico de subfamilia, pero que ahora están fusionados en la misma subfamilia, debido a que se ha demostrado que Hispinae es en realidad parafilética por incluir a Cassidinae (Gómez-Zurita *et al.* 2008). La mayoría de especies de cassidinos son redondeados, con los bordes de los élitros y pronoto extendidos, de tal forma que cubren la cabeza y patas del individuo. Además varias especies de cassidinos ejercen cuidados maternales a las larvas (Chaboo *et al.* 2014). Los hispinos, por el contrario, suelen ser alargados y pueden contar con protuberancias y espinas, lo que le da el nombre al grupo, y algunas especies son minadoras.

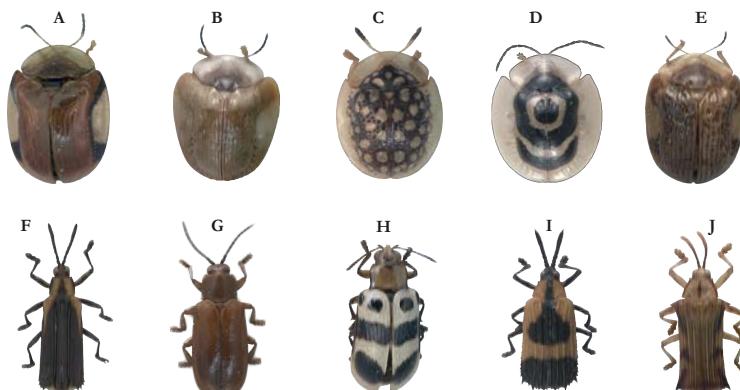


Figura 1.6 Algunos miembros de la subfamilia Cassidinae: cassidinos (A-E) e hispinos (F-J) del bosque seco tropical de Nicaragua. A: *Charidotella emarginata* (Bohemian 1855); B: *Charidotella tuberculata* (Fabricius 1775); C: *Charidotis auroguttata* (Bohemian 1855); D: *Ischnocodia annulus* (Fabricius 1781); E: *Microctenochira bectica* (Bohemian 1855); F: *Heterispa vinula* (Erichson 1847); G: *Cephaloleia puncticollis* (Baly 1885); H: *Chelobasis bicolor* (Gray 1832); I: *Oxychalepus acuticornis* (Chapuis 1877); J: *Ochtheispa elevata* (Baly 1885). Las fotos fueron tomadas en el Institut de Biología Evolutiva CSIC-UPF (Barcelona), utilizando una lupa Leica Microsystems M80(Alemania) y posteriormente apiladas y resumidas con el programa CombineZ.

### 1.2.1.2 Subfamilia Galerucinae *sensu lato*

La subfamilia Galerucinae *s. l.* forma uno de los grupos más ricos en especies de Chrysomelidae, con más de 1.000 géneros y alrededor de 15.000 especies y una taxonomía confusa (Lingafelter & Konstantinov 1999). Tradicionalmente, las especies de esta subfamilia se han separado

en dos grupos: alticinos (escarabajos pulga) y galerucinos (Figura 1.7), donde los alticinos presentan el fémur posterior engrosado y con un órgano interno especializado que les permite saltar sorprendentes distancias para escapar de sus depredadores o para desplazarse, y con la mayor riqueza de especies entre los Chrysomelidae, con ~560 géneros y más de 8.000 especies descritas (Furth 1988). Los galerucinos generalmente carecen de este carácter anatómico, y también son muy diversos, con más de ~480 géneros y más de 5.800 especies descritas (Gillespie *et al.* 2008). Sus adultos se alimentan de hojas y/o flores (incluyendo polen) y las larvas pueden ser folívoras o radicícolas. Esta subfamilia es muy importante en el aspecto económico, por contener algunas especies que son plagas importantes de cultivos.

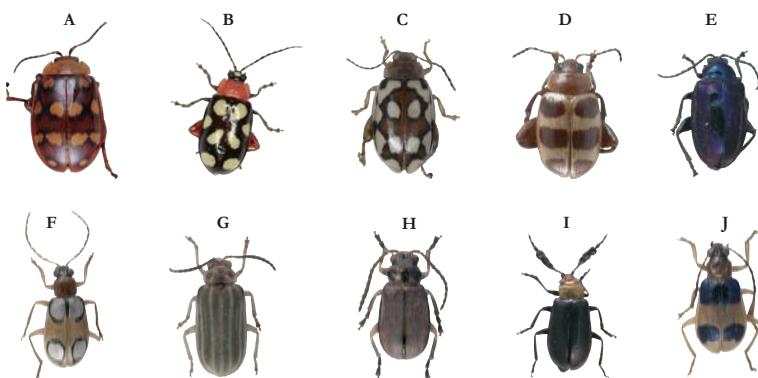


Figura 1.7 Algunos miembros de la subfamilia Galerucinae *sensu lato*, alticinos (A-E) y galerucinos (F-J) del bosque seco tropical de Nicaragua. A: *Alagoasa decemguttata* (Fabricius 1801); B: *Omophoita octomaculata* (Crotch 1873); C: *Walterianella signata* (Jacoby 1886); D-J no fueron identificados taxonómicamente. Las fotos fueron tomadas en el Institut de Biología Evolutiva CSIC-UPF (Barcelona), utilizando una lupa Leica Microsystems M80 (Alemania) y posteriormente apiladas y resumidas con el programa CombineZ.

### 1.2.2 La relación de Chrysomelidae y sus plantas hospederas

La conexión entre los insectos herbívoros y sus plantas hospederas es tan estrecha, que se ha considerado que co-evolucionaron con las angiospermas en el periodo Terciario, al suponer que los insectos ayudaron en la reproducción de las plantas al llevar polen de una flor a otra (por ejemplo, ver Crane *et al.* 1995). Actualmente, esta hipótesis se contradice con la investigación de Doyle (2012) que indica que la radiación de las angiospermas ocurrió en el Cretácico, así como con estudios filogenéticos que han encontrado que los crisomélidos

aparecieron después de la diversificación de las plantas con semilla (Gómez-Zurita *et al.* 2007), o de forma simultánea a sus plantas hospederas (Kergoat *et al.* 2015).

Las investigaciones sobre interacciones insecto-planta se han incrementado sustancialmente desde el estudio realizado sobre mariposas y co-evolución por Ehrlich & Raven (1964), y los escarabajos herbívoros no han sido la excepción. Por ejemplo, Jolivet & Petitpierre (1981) publicaron una compilación de los aspectos más relevantes sobre biología, hábitos alimenticios, fisiología e importancia económica de los crisomélidos, mencionando que la mayoría de las larvas de Chrysomelidae se alimentan de hojas, aunque existe un buen número de especies cuyas larvas son subterráneas y se alimentan de raíces y tallos. También se pueden encontrar especies minadoras de hojas, o las que consumen material vegetal muerto; incluso se han reportado casos de depredación de huevos de hormigas (en el caso específico de Cryptocephalinae) o larvas acuáticas de Donaciinae que viven sumergidas, adheridas a los tallos de sus plantas hospederas mediante un órgano especializado que les permite respirar (Riley *et al.* 2002). Jolivet & Petitpierre (1981), utilizando información de registros visuales manifestaron que las especies de galerucinos son muy selectivos en sus plantas hospederas, y generalmente prefieren mono- o dicotiledóneas de hasta 70 familias botánicas; que los alticinos muestran un espectro alimenticio más amplio, alimentándose de gimnospermas y angiospermas de hasta 100 familias botánicas; que los hispinos son más eclécticos en su selección de plantas hospederas, siendo las gramíneas y las palmas su alimento preferido; y que los cassidinos se relacionan con plantas dicotiledóneas de las familias Asteraceae, Convolvulaceae, Chenopodiaceae y Lamiaceae, entre otras.

Los registros de asociaciones tróficas a partir de observaciones directas en el campo implican mucho tiempo de observación, y son altamente susceptible a errores en la identificación de especies desconocidas, crípticas o en estado larval. Generalmente, los estudios sobre las preferencias alimenticias de los crisomélidos se han basado en observaciones de campo o en ensayos de laboratorio, utilizando casi siempre especies de fácil identificación taxonómica (por ejemplo: Basset *et al.* 1996; Flowers & Janzen 1997; Ødegaard 2000; McKenna & Farrell 2005; Descampe *et al.* 2008; Flowers & Chaboo 2009; Meskens *et al.* 2011). Sin embargo, este enfoque no es apropiado para hacer estudios de asociaciones tróficas a gran escala, bien sea por la cantidad de tiempo que se necesitaría para registrar de forma rigurosa el alimento de las especies, o por otras desventajas de los métodos de observación directa: (i) dificultad para distinguir especies crípticas, (ii) equivocación en la identificación

taxonómica de la especie estudiada/observada, (iii) observación de asociaciones temporales/accidentales, (iv) alteración de las preferencias alimenticias en cautividad. Si además esta práctica se intenta aplicar a áreas megadiversas y especies desconocidas, la tarea resulta simplemente inviable. En este contexto, es indispensable proponer estrategias que sirvan para identificar, de forma rápida y precisa estas interacciones, y las herramientas moleculares son una excelente alternativa.

En los últimos años, el trabajo pionero de Jurado-Rivera y colaboradores (2009) permitió estudiar las asociaciones tróficas entre insectos herbívoros y sus plantas hospederas aplicando técnicas moleculares forenses, y demostrando que es posible identificar el alimento de los crisomélidos utilizando cebadores cloroplásticos a partir de extracciones de ADN total del insecto, que supuestamente también incluye ADN de su dieta. Este estudio permitió identificar plantas hospederas a partir del material vegetal ingerido por diferentes especies de coleópteros y desde entonces otras investigaciones han reproducido esta metodología (Pinzón Navarro *et al.* 2010; Gómez-Zurita *et al.* 2010; Eitzinger & Traugott 2011; Montelongo & Gómez-Zurita 2013; García-Robledo *et al.* 2013; Kitson *et al.* 2013; Kishimoto-Yamada *et al.* 2013; Klimaszewski *et al.* 2013; Gómez-Zurita & Cardoso 2014; Brown *et al.* 2015; Paula *et al.* 2015; Kajtoch *et al.* 2015; Papadopoulou *et al.* 2015; De la Cadena *et al.* 2016). No obstante, la mayoría de estos estudios han restringido esta aplicación a un número limitado de especies. En la actualidad está disponible un programa que automatiza la identificación taxonómica de grandes cantidades de secuencias moleculares desconocidas (BAGpipe; Papadopoulou *et al.* 2015), y en este proyecto de investigación se aplica para estudiar asociaciones tróficas de crisomélidos en un *hotspot* de biodiversidad como es el bosque seco tropical de Nicaragua.

### 1.3 La biodiversidad en el bosque seco tropical

El bosque seco tropical es un bioma complejo que está distribuido entre 20-30 °C norte y sur de la línea ecuatorial, entre los trópicos de Cáncer y de Capricornio (Gentry 1982; De-Nova *et al.* 2012), y en el Neotrópico se distribuye desde el norte de México hasta el sur de Brasil, constituyendo más del 60 % de la superficie de los bosques secos a nivel mundial (Miles *et al.* 2006; Linares-Palomino *et al.* 2011). En Mesoamérica, uno de los 34 *hotspots* de biodiversidad a nivel mundial (Myers *et al.* 2000) y tercero más grande del mundo (de Albuquerque *et al.* 2015), los bosques secos tropicales estacionales (BSTE) están concentrados a lo largo de la costa del Océano Pacífico, desde el sur de México hasta Guanacaste (Costa Rica), con un pequeño remanente en Panamá (Murphy & Lugo 1986; Pennington *et al.* 2000; Griscom & Ashton 2011) (Figura 1.8). En esta zona, el BSTE presenta diferentes tipos de vegetación, influenciados por condiciones edáficas y climáticas locales y, su distribución actual está relacionada con las fluctuaciones climáticas que sufrió el planeta en el periodo Cuaternario (Pennington *et al.* 2000).

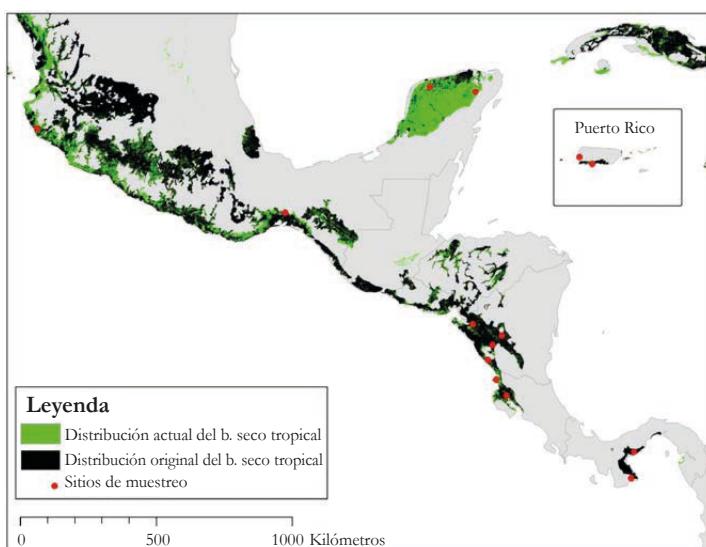


Figura 1.8 Mapa de la distribución del bosque seco tropical en Mesoamérica, publicado por Griscom & Ashton (2011). Se observa la distribución original (en negro) y la distribución actual del bosque (en verde). Este mapa combina las ecoregiones de bosque seco tropical y subtropical, sabanas y matorrales.

Las condiciones abióticas más importantes que caracterizan al BSTE son la precipitación anual y la estacionalidad de la lluvia. En estos bosques, las temperaturas sobrepasan los 17 °C todo el año, la precipitación anual varía

en un rango de 500-2.000 mm al año, pero puede llegar a menos de 100 mm durante los cinco a seis meses más secos del año (Kalacska *et al.* 2004). Una característica especial del BSTE es que desafía la tendencia de otros ecosistemas que son más ricos en especies mientras más se acercan a la línea ecuatorial; el BSTE es más diverso mientras más lejos está del ecuador, en México y al sur de su distribución en América del Sur, en Argentina, Brasil, Bolivia y Paraguay (Gentry 1995), lo que ha hecho que aporte argumentos para discutir la teoría de gradiente de diversidad latitudinal inverso (De-Nova *et al.* 2012).

### 1.3.1 Caracterización florística del bosque seco tropical

En términos generales, el BSTE consiste de diversas formaciones vegetales que incluyen matorrales espinosos, árboles y arbustos caducifolios y semicaducifolios, lianas y plantas herbáceas (Murphy & Lugo 1986). La sequía estacional constituye una barrera para potenciales especies colonizadoras que no están adaptadas a ese grado de aridez, a la vez que su distribución fragmentada representa un obstáculo para la propagación de semillas, propágulos y polen, causando una composición distintiva de especies en los diferentes remanentes de bosque seco (De-Nova *et al.* 2012). Esta vegetación predomina en el paisaje, haciéndolo muy particular e identificable a simple vista, donde destaca, por ejemplo, la presencia de plantas suculentas y espinosas, que están adaptadas al clima árido y semiárido de este ecosistema (Pennington *et al.* 2009). El BSTE tiene una alta diversidad estructural y fisiológica, en parte debido a la larga estación de sequía que lo caracteriza, por lo cual es común encontrar una mezcla de plantas caducifolias y perennes, algo que no se encuentra en los bosques húmedos tropicales. Los BSTE crecen en suelos fértiles y contribuyen a esta fertilidad con materia orgánica, usualmente tienen un dosel cerrado, y su flora dominante consiste principalmente en especies pertenecientes a las familias Fabaceae y Bignoniaceae, además de Anacardiaceae, Myrtaceae, Rubiaceae, Sapindaceae, Euphorbiaceae, Capparaceae, Cactaceae, con algunas plantas herbáceas de las familias Bromeliaceae, Asteraceae, Malvaceae y Marantaceae como principales exponentes (Pennington *et al.* 2000). Algunas de estas familias son más típicas del BSTE que para cualquier otro bioma, incluyendo además a Zygophyllaceae, especialmente en América Central (Pennington *et al.* 2009).

Este bioma presenta una alta tasa de especies endémicas de flora y fauna (Myers *et al.* 2000; Mittermeier *et al.* 2004), que se han adaptado exitosamente a las condiciones ecológicas, climáticas y topográficas locales que se pueden encontrar en los BSTE (Gentry 1995). La región

Mesoamericana tendría más de 17.000 especies de plantas de las cuales más de 2.900 serían endémicas (Mittermeier *et al.* 2004), así como más del 4 % de todos los vertebrados endémicos existentes a nivel mundial (Myers *et al.* 2000). En términos generales, el BSTE tiene pocas especies vegetales de amplia distribución (Linares-Palomino *et al.* 2011), causando alta diversidad beta entre localidades, las cuales a menudo pertenecen a clados monofiléticos endémicos, que presentan variación genética intraespecífica estructurada (Pennington *et al.* 2009; Banda-R *et al.* 2016). Además, los procesos ecológicos están fuertemente asociados a la estación de lluvia y, por ejemplo, en el caso de la floración, muchas especies florecen de forma sincronizada en el periodo de transición entre las épocas seca y lluviosa, cuando los árboles caducifolios aún están sin hojas (Bullock 1995).

### 1.3.2 Estado actual de conservación del bosque seco tropical estacional

A pesar de la condición crítica del BSTE, éste ha recibido mucha menos atención que otros biomas tropicales, en particular el bosque húmedo tropical. Este bioma está muy amenazado a nivel mundial a causa de las graves presiones antropogénicas, altas tasas de deforestación, disminución de su extensión original y desconexión total de los pocos remantes existentes (Janzen 1988; Gillespie *et al.* 2000; Miles *et al.* 2006; Portillo-Quintero & Sánchez-Azofeifa 2010). Actualmente queda el 1,7 % de lo que alguna vez fue su distribución original (Calvo-Alvarado *et al.* 2009) y únicamente el 4,5 % de la extensión actual está bajo alguna categoría de protección (de Albuquerque *et al.* 2015), sea desde iniciativas gubernamentales o privadas. Esto ha causado que, en la actualidad, la distribución del BSTE no sea homogénea, encontrándose muchos remanentes que no se encuentran bajo ninguna categoría de protección y sin ningún tipo de conexión entre sí, haciendo muy difícil el intercambio y flujo genético entre poblaciones o comunidades que alguna vez estuvieron conectadas. Como resultado de la condición crítica en que se encuentra el BSTE, sigue catalogado como uno de los ecosistemas más amenazados de las zonas tropicales, a pesar de su elevada riqueza de especies y endemismos (Myers *et al.* 2000; Mittermeier *et al.* 2004; Banda-R *et al.* 2016).

La conservación del BSTE no sólo es importante para la Biología, pues este tipo de bosque provee de alimentos silvestres y cultivados para el ser humano, jugando un papel fundamental en la seguridad alimentaria de millones de personas que viven en este bioma (Blackie *et al.* 2014). Miel, carbón vegetal, leña, semillas, biocombustibles, gomas y resinas, son las

principales, aunque no las únicas, fuentes de abastecimiento que proporciona el BSTE a las poblaciones que viven en él o su entorno (Blackie *et al.* 2014). De forma tradicional, éste también ha suministrado combustibles forestales y carbón vegetal a los distintos asentamientos humanos, haciendo más acuciante el problema asociado de deforestación (Blackie *et al.* 2014). Estos problemas están estrechamente relacionados con el desarrollo económico de la población: en este ecosistema se encuentra una buena proporción de habitantes de bajos recursos económicos, que ven en la extracción de los recursos naturales del bosque seco tropical su única fuente de ingresos y manutención.

### 1.3.3 El bosque seco tropical estacional en Nicaragua

Nicaragua es el país más grande de América Central, con grandes lagos y volcanes, una superficie de más de 130.000 km<sup>2</sup> y una población de más de seis millones de habitantes, con aproximadamente 350 km de costa en el Océano Pacífico (Harcourt & Sayer 1996). Durante la segunda mitad del siglo XX, en este país se eliminaron amplias extensiones de bosque seco y bosque húmedo tropical para aumentar la frontera agrícola: por ejemplo 24.500 km<sup>2</sup> sólo durante el período 1978-1979 (Bullock *et al.* 1995). Nicaragua posee bosques húmedos tropicales de tierras bajas e inundados, algunos remanentes de bosques nublados, bosques de coníferas y encinares, fragmentos de bosque seco y manglares. En Nicaragua se encuentra aproximadamente el 10 % de los BSTE de América Central (Sabogal 1992), distribuido principalmente en la vertiente del Océano Pacífico, donde vive casi la mitad de la población nicaragüense. Los pocos remanentes de BSTE que aún se conservan son muy fragmentados, amenazados por grandes riesgos de perturbación y deforestación, al igual que sucede en otros países de América Latina como Ecuador, Costa Rica y Perú (Portillo-Quintero & Sánchez-Azofeifa 2010).

Los BSTE en Nicaragua (Figura 1.9) han sido explotados intensivamente para la conversión en tierras agrícolas y ganaderas (Sabogal 1992), así como la producción comercial de madera para exportación, principalmente de *Dalbergia retusa* (Fabaceae), *Pachira quinata* (Malvaceae), *Cedrela odorata* y *Swietenia humilis* (Meliaceae), y *Guaiacum sanctum* (Zygophyllaceae) (González-Rivas *et al.* 2006). Justamente esta práctica, ocasionó que en el 2006, 18 especies vegetales fueran candidatas a entrar en la lista de especies amenazadas de la UICN, de las cuales todas excepto *Guaiacum sanctum* son consideradas especies vulnerables (González-Rivas *et al.* 2006). Desafortunadamente aún hay pocos estudios que estén focalizados exclusivamente a estudiar los remanentes de BSTE en

Nicaragua, aunque existen algunas excepciones (Sabogal 1992; Gillespie *et al.* 2000; González-Rivas *et al.* 2006; Tarrasón *et al.* 2009).

En Nicaragua, el primer refugio de vida silvestre se creó en 1958 y el primer parque nacional en 1971, sin embargo las crisis económicas y la guerra civil impidieron en esa época que las áreas protegidas pasasen de ser meramente figurativas, y fue sólo en 1990 que se creó una red de áreas protegidas funcional (Harcourt & Sayer 1996). De forma complementaria, la iniciativa privada creó las Reservas Silvestres Privadas (RSP), que son propiedades privadas cuyos dueños han apostado por la conservación, protección y recuperación de los recursos naturales y del medio ambiente local, como reclamos ecoturísticos, y sometiéndolas voluntariamente a la regulación estatal. Son acreditadas y supervisadas por el Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales (MARENA) y forman parte del Sistema Nacional de Áreas Protegidas (SINAP) de forma tal que, aunque privadas y orientadas a producir un beneficio económico, contribuyen de forma directa a un fin público. La Red RSP apoya a las reservas silvestres en la promoción y gestión de proyectos de conservación de la biodiversidad e incremento de su conectividad, ampliación de servicios ambientales, monitoreo e investigación del capital natural, desarrollo de estaciones biológicas, educación ambiental, ecoturismo, producción sostenible, reforestación y otros servicios potenciales, siempre promoviendo el compromiso social comunitario local. Por esta razón, es necesario comprometerse con la investigación en este ecosistema, que examine la biodiversidad a diferentes escalas, y que en último término ayude a comprender la importancia de este ecosistema para la sociedad.



Reserva Miraflores-Moropotentte



camino a Laguna Montegalán



Reserva Natura



Reserva San Cristóbal-Casita



Finca Sierra Serena



Finca Escamequita

Figura 1.9 Muestra de algunos remanentes de bosque seco tropical estacional en Nicaragua.

### 1.3.4 Biodiversidad de Chrysomelidae en el bosque seco tropical estacional

La mayoría de investigaciones sobre el BSTE se enfocan a distintos aspectos de la vegetación, mientras que estudios específicamente sobre Chrysomelidae son muy escasos. En Mesoamérica, se han realizado esfuerzos por conocer la diversidad de insectos, incluido Chrysomelidae,

sobre todo en Costa Rica, donde un 15 % de su territorio es BSTE (Hanson 2011). Aunque los crisomélidos son el segundo grupo más grande de escarabajos fitófagos (después de Curculionidae), su fauna es poco conocida y la mayoría de estudios se han enfocado al bosque húmedo tropical. La familia Chrysomelidae ha sido estudiada en México (Noguera 1988; Andrews & Gilbert 2005; Becerra 2007; Sánchez-Reyes *et al.* 2014), Costa Rica (Flowers 1991; Flowers & Janzen 1997) y Panamá (Furth 2003; Ødegaard 2006). En el caso concreto de Chrysomelidae en Nicaragua, se han hecho esfuerzos por catalogar a esta familia, y los últimos reportes indican que hay 103 especies de Cassidinae *sensu stricto* (Maes *et al.* 2016a), 106 especies de hispinos (Maes *et al.* 2016b) y 54 especies de Chrysomelinae (Maes & Gómez-Zurita 2016).

## 1.4 Consideración final

La recopilación introductoria denota que existe un profundo vacío del conocimiento de la diversidad biológica en este bioma. Para solventarlo, proponemos una serie de estrategias metodológicas que permiten acelerar la delimitación de las especies de coleópteros y sus asociaciones tróficas, que sirvan en última instancia para conocer la composición y estructura de las comunidades en el BSTE. Esperamos que la información generada sirva para concienciar y proteger este bioma tan singular y característico, que sin embargo está fuertemente amenazado y muy cerca de su desaparición.



# OBJETIVOS



## **2.1 Objetivo general**

La finalidad general de esta tesis fue aplicar protocolos para evaluar de forma rápida y eficiente la diversidad biológica en áreas tropicales. Este estudio se diseñó para conocer la diversidad de especies de un grupo de Crisomélidos, así como identificar sus potenciales plantas hospederas en el bosque seco tropical, donde la riqueza de insectos es abrumadora y aún desconocida. Para este propósito, se integraron herramientas y métodos moleculares con taxonomía y ecología para delimitar el número de especies, así como las asociaciones tróficas de dos grandes grupos de Chrysomelidae: Cassidinae y Galerucinae s. l. en el BSTE de Nicaragua.

## **2.2 Objetivos específicos**

Con el fin de alcanzar este objetivo general, se establecieron los siguientes objetivos específicos:

- I. Obtener un muestreo geográficamente representativo de crisomélidos, enfocado principalmente a la colecta de especímenes pertenecientes a Cassidinae y Galerucinae s. l., abarcando el rango de distribución del BSTE en Nicaragua.
- II. Emplear métodos de delimitación molecular para estimar el número de especies de los crisomélidos presentes en el muestreo (diversidad alfa), empleando secuencias del gen mitocondrial *cox1*.
- III. Caracterizar las asociaciones tróficas de los crisomélidos con las angiospermas, a través de la asignación taxonómica de secuencias cloroplásticas (*psbA-trnH*) obtenidas utilizando métodos basados en secuencias de ADN y bases de datos públicas.
- IV. Describir la diversidad regional de la comunidad de crisomélidos del BSTE en Nicaragua a partir del análisis de diversidad beta.
- V. Identificar factores ecológicos y ambientales que pudieran influir en la composición de las comunidades de crisomélidos que habitan en el BSTE en Nicaragua.



# MATERIALES Y MÉTODOS



## 3.1 Ubicación y colecta de especímenes

### 3.1.1 Localidades de muestreo

Para este estudio, los coleópteros pertenecientes a la familia Chrysomelidae fueron colectados en el bosque seco tropical estacional (BSTE) de Nicaragua, durante los años 2009-2012, en diferentes épocas del año. Nuestro esfuerzo de muestreo se concentró en cuatro zonas del país, cubriendo la distribución de este bioma de norte a sur. Estas localidades presentan diferente grado de conservación y afrontan diversos tipos de amenazas antropogénicas. Con el objeto de complementar y evaluar la biodiversidad de la zona, se colectó además en otras áreas de bosque seco tropical. Al finalizar el muestreo, se obtuvieron ejemplares de 95 localidades geo-referenciadas.

Cuando las localidades de colecta estaban muy próximas entre sí, se utilizó el programa de información geográfica QGIS v2.0 (QGIS Development Team 2013) para crear zonas de “amortiguamiento” (buffer) a una distancia de 5 km de cada coordenada geográfica, de tal forma que aquellos sitios que estuvieran dentro de la misma zona de amortiguamiento se consideraron como la misma localidad. Así, además de las cuatro localidades principales de muestreo, se definieron ocho localidades adicionales, obteniendo en total doce sitios de muestreo (Figura 3.1). A continuación se detallan algunas características de las cuatro localidades principales:

1. *Estelí, Miraflores-Moropotente*: Zona perteneciente al Sistema Nacional de Áreas Protegidas de Nicaragua. El área posee una topografía ondulada, con montañas y algunas mesetas elevadas. Su rango altitudinal comprende entre los 900-1.600 msnm, con temperaturas anuales entre 18-25 °C y una precipitación anual media entre 800-1.600 mm. El BSTE en esta zona llega a medir entre 18-30 m de altura, y también encontramos otras formaciones vegetales como bosque de pinares y bosque de robledales. Dentro de esta localidad existen áreas en mejor estado de conservación, especialmente aquellas bajo normas de protección estricta. Las principales actividades que afectan el entorno son la ganadería y la agricultura extensiva para el cultivo de tabaco. El muestreo se realizó durante tres años: 2010 (marzo-diciembre), 2011 (septiembre) y 2012 (enero y marzo), en un rango altitudinal de 850 a 1.262 msnm.

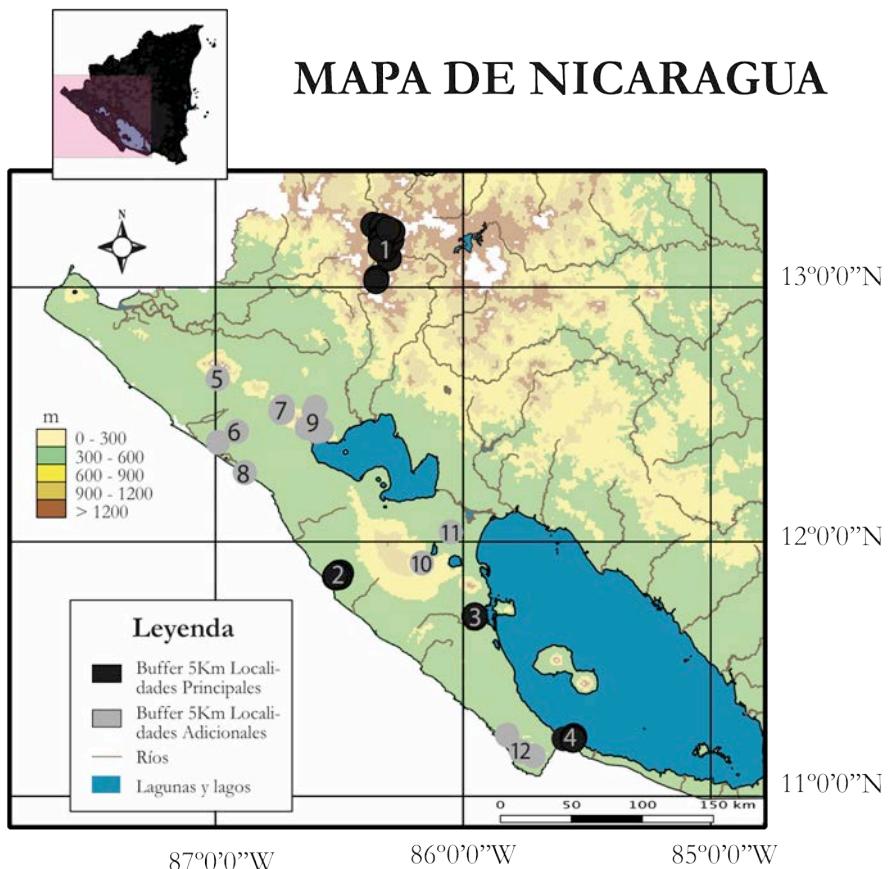


Figura 3.1. Mapa de localidades de muestreo de coleópteros en zonas de bosque seco tropical en Nicaragua. En negro se muestran las zonas de amortiguamiento de las cuatro localidades principales y en gris se indican los sitios de muestreo complementarios.

2. *Managua, Reserva Natura:* Área perteneciente al Sistema Nacional de Áreas Protegidas de Nicaragua, en un rango altitudinal de hasta unos 150 msnm. Sus características climáticas incluyen una temperatura media anual que oscila entre los 27-35 °C, y precipitaciones que alcanzan los 1.500 mm. Es importante destacar que esta reserva privada surgió como una iniciativa de responsabilidad social empresarial para recuperar zonas alteradas del bosque seco tropical nicaragüense en el año 2004, luego de constatar la degradación total de este ecosistema. Con este propósito, se plantaron unos 434.000 árboles de 33 especies nativas de la zona, permitiendo captar aguas pluviales y la consecuente rehabilitación de los dos lagos existentes en la zona. En la actualidad es la única reserva privada destinada por completo a la conservación del bosque seco tropical y a la producción de agua. Nuestro muestreo se realizó durante 2010 (octubre), 2011

(febrero-marzo, octubre-noviembre) y 2012 (enero), cubriendo un rango altitudinal entre 53-156 msnm.

3. *Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila*: Zona perteneciente al Sistema Nacional de Áreas Protegidas de Nicaragua, próxima al Volcán Mombacho y el Gran Lago de Nicaragua (Cocibolca). Está localizada en un rango altitudinal entre 50-200 msnm, con una temperatura promedio anual entre los 25-33 °C y la precipitación oscila entre 800-1.300 mm. Su vegetación es típica de bosque seco, con árboles de hasta 30 m de altura, y se puede considerar en óptimo estado de conservación. Aunque el grado de conservación es bueno, existen amenazas al bosque por el cultivo de caña de azúcar a gran escala en regiones circundantes. Nuestro muestreo ocupó un rango altitudinal de 50-116 msnm, realizándose en 2009 (octubre y noviembre), 2010 (mayo y noviembre) y 2011 (junio, agosto y septiembre).
4. *Rivas, Finca Sierra Serena*: Área perteneciente al Sistema Nacional de Áreas Protegidas de Nicaragua y próxima al Gran Lago de Nicaragua (Cocibolca). Esta zona se encuentra en un rango altitudinal entre 50-260 msnm y presenta una temperatura media anual de 26 °C y la precipitación oscila entre los 1.600-2.000 mm anuales. Las formaciones vegetales presentes corresponden al bosque seco y bosque de transición, alcanzando los 30 m de altura. Es importante mencionar que la zona sur del país refleja gran diversidad y riqueza de especies por ser zona de interacción entre las ecorregiones de bosque seco tropical, el bosque húmedo istmeño-atlántico y el bosque húmedo estacional de Costa Rica (Central Intelligence Agency *et al.* 2012). Este conjunto de factores hacen que en esta zona, coexistan especies de flora y fauna asociadas a los diferentes biomas. Esta zona fue previamente objeto de actividad agrícola intensiva, excepto las zonas altas y de más difícil acceso, pero en la actualidad se han impulsado actividades de reforestación y el bosque se encuentra en estado de sucesión secundaria. Hoy en día, las actividades más desarrolladas en el área son el turismo y la extracción de plantas medicinales. Las colectas de ejemplares se realizaron durante los años 2009 (septiembre), 2010 (julio), 2011 (marzo) y 2012 (febrero), cubriendo un rango altitudinal entre 56-260 msnm.

Adicionalmente, se realizaron colectas en otras ocho localidades que están dentro del rango de distribución del bosque seco tropical en Nicaragua. Mientras que en las zonas descritas previamente, el muestreo fue relativamente intensivo y ejecutado durante varias salidas de campo, en las

localidades complementarias el muestreo fue ocasional. A continuación se detallan algunas características de estas localidades:

5. *Chinandega, Reserva Natural San Cristóbal-Casita*: Área perteneciente al Sistema Nacional de Áreas Protegidas de Nicaragua, cercana al volcán Casita. Perteneció a la cordillera Los Maribios, con elevaciones entre los 300-1.400 msnm. La temperatura y precipitación oscilan entre 21-30 °C y 500-2.000 mm anuales, respectivamente. Esta localidad presenta vegetación típica de bosque de transición, de hasta 15 m de altura. Su grado de conservación es regular, soportando presiones antropogénicas relacionadas con el cultivo de caña para producción de azúcar y ron. Nuestras muestras fueron capturadas en enero-febrero del 2012, cubriendo un rango altitudinal entre 310-350 msnm.
6. *León, Jardín Botánico*: Ubicado en las afueras de la ciudad de León, a 50 msnm. Esta área presenta una temperatura media anual estimada que oscila entre los 29-32 °C y precipitaciones que alcanzan los 1.300 mm al año. La vegetación llega hasta los 25 m de altura y aquellas áreas que no están dentro de los límites del Jardín Botánico no tienen ningún estatus de conservación, por lo cual afrontan actividades productivas tales como la ganadería y pesca, además de la presión demográfica por el crecimiento poblacional de la ciudad. Nuestras muestras fueron colectadas durante 2011 (enero, marzo y agosto) y 2012 (enero).
7. *León, Cerro Negro*: Esta área pertenece a la cordillera volcánica de los Maribios y es una zona con elevaciones montañosas de hasta 730 msnm. La temperatura promedio es de 30 °C y la precipitación media anual varía entre 800-1200 mm. Su vegetación, típica de bosque seco, alcanza una altura de hasta 15 m. Esta área no tiene ningún estatus de conservación y está altamente alterada, siendo principalmente afectada por la deforestación para suministro de leña y carbón. Nuestro muestreo se realizó en enero 2012, cubriendo un rango altitudinal de 250-285 msnm.
8. *León, Reserva Natural Isla de Juan Venado*: Zona perteneciente al Sistema Nacional de Áreas Protegidas de Nicaragua, a 0-25 msnm. Presenta una temperatura y precipitación media anual de 34 °C y 1.600-1.800 mm, respectivamente. Está separada del continente por el cauce del río Chiquito, que discurre en paralelo a la costa del Océano Pacífico. En esta localidad se puede encontrar vegetación de hasta 20 m de altura, típica de bosque seco alternada con vegetación de manglar y bosque húmedo. De acuerdo con el Plan de Manejo de la reserva, las principales amenazas que afronta se deben a factores físico-naturales

(maremotos, tormentas e inundaciones) y por las prácticas antropogénicas, principalmente relacionadas con el deterioro de las sub-cuencas hídricas de la reserva. Nuestro muestreo se realizó en enero de 2012.

9. *León, La Paz*: Localidad ubicada a 70 msnm, perteneciente a la cordillera de los Maribios y próxima al Lago Xolotlán. Esta área presenta una temperatura media anual que oscila entre los 29-32 °C y una precipitación media anual de 500-2.000 mm. Su vegetación es típica de bosque seco con árboles de hasta 25 m de altura. Su grado de conservación es bajo, debido principalmente a las actividades productivas desarrolladas en la zona, como agricultura, ganadería y extracción de recursos forestales para artesanía. Nuestras capturas se realizaron durante el mes de enero de 2012, en un rango altitudinal de 66-113 msnm.
10. *Masaya, Cruz Negra*: Localidad ubicada en la zona central de la región del Pacífico, con montañas de alturas entre 300-600 msnm. Anualmente, presenta temperaturas entre 23-27 °C y lluvias en un rango de 1.200-1.400 mm. Su vegetación se corresponde con la de bosque seco tropical, con árboles de hasta 10 m de altura. La zona está muy alterada debido principalmente al cultivo extensivo de café, frutas y hortalizas. Nuestros especímenes fueron capturados en 2012 (abril) a 320 m de altitud.
11. *Masaya, Las Flores*: Localidad próxima a la ciudad de Masaya, y con escasa elevación (150 msnm). La temperatura media anual es de 27 °C y la precipitación varía entre 1.200-1.400 mm anuales. Esta localidad presenta una vegetación típica de bosque seco de hasta 15 m de altura. Es una zona altamente alterada, principalmente debido a la agricultura y ganadería presentes en la zona. Los ejemplares se capturaron en 2010 (julio) a 150 msnm.
12. *Rivas, Finca Escamequita*: Área perteneciente al Sistema Nacional de Áreas Protegidas de Nicaragua, ubicada a más de 30 msnm y limitando con el Océano Pacífico. Esta zona se caracteriza por una temperatura y precipitación media anual de 27 °C y 1.300 mm, respectivamente. Su formación vegetal corresponde al bosque seco, con árboles de hasta 25 m de altura. Las principales actividades productivas que se desarrollan en la zona están vinculadas a la agricultura, extracción de plantas medicinales y el turismo. Su grado de conservación es regular.

La captura de especímenes se realizó durante 2009 (noviembre) y 2012 (febrero), en un rango altitudinal de 96-149 msnm.

Las localidades muestreadas corresponden tanto a áreas pertenecientes al SINAP (Sistema Nacional de Áreas Protegidas), a las Reservas Silvestres Privadas de Nicaragua, o en otros casos, los especímenes capturados provinieron de áreas degradadas, sin ninguna categoría de protección y con diferentes presiones antropogénicas sobre este ecosistema. Para cada localidad, en la Tabla 3.1 se detalla la categoría de conservación, ubicación geográfica, altitud promedio y el correspondiente número de individuos estudiados exclusivamente en esta tesis.

Tabla 3.1. Localidades de muestreo y forma de protección actual. Para cada localidad, se muestra el número total de individuos estudiados en esta tesis (n).

Localidades	Sistema de Protección	Latitud	Longitud	Altitud (m)	n
<b>Localidades Principales</b>					
1. Estelí, Miraflores-Moropotente	Estatal	13,1884	-86,3245	975	448
2. Managua, Reserva Natura	Privado	11,8675	-86,5140	83	205
3. Granada, Reserva Privada Domitila	Privado	11,7084	-85,9536	81	149*
4. Rivas, Finca Sierra Serena	Privado	11,2334	-85,5512	87	330
<b>Localidades Complementarias</b>					
5. Chinandega, Res. Nat. San Cristóbal-Casita	Estatal	12,6443	-86,9915	329	4
6. León, Jardín Botánico	Privado	12,4100	-86,9588	50	52
7. León, Cerro Negro	Ninguno	12,5267	-86,7333	272	21
8. León, Reserva Natural Isla de Juan Venado	Estatal	12,2722	-86,8813	25	1
9. León, La Paz	Ninguno	12,4477	-86,6216	92	23
10. Masaya, Cruz Negra	Ninguno	11,9167	-86,1667	320	2
11. Masaya, Las Flores	Ninguno	11,9833	-86,0333	150	48
12. Rivas, Finca Escamequita	Estatal	11,2400	-85,8407	115	37

\* Incluye dos larvas no identificadas taxonómicamente.

### 3.1.2 Forma de colecta y procesamiento de muestras en el campo

Los especímenes de Chrysomelidae fueron colectados con diferentes métodos de captura, usando mangas de barrido, colecta manual, paraguas invertido y trampas de luz (Figuras 3.2-3.5).



Figura 3.2. Captura de coleópteros utilizando mangas de barrido



Figura 3.3. Captura de coleópteros por colecta manual



Figura 3.4. Captura de coleópteros con paraguas invertido



Figura 3.5. Coleóptero capturado con trampa de luz

Los individuos capturados por cualquiera de los métodos mencionados previamente, fueron inmediatamente guardados en viales con etanol absoluto para fijar y preservar su ADN. Además, se registraron los datos de ubicación, coordenadas y, cuando fue posible, la identificación de la planta sobre la cual fueron capturados.

### 3.1.3 Procesamiento de muestras en el laboratorio

Una vez en el laboratorio, se sustituyó el etanol, los especímenes fueron separados en morfoespecies y almacenados en congeladores a -20 °C hasta la posterior extracción de ADN. Entre las diferentes subfamilias de Chrysomelidae presentes en las muestras, se enfocó el estudio a dos de los grupos más abundantes, ampliamente distribuidos y con ecologías diversas: Cassidinae (cassidinos e hispinos) y Galerucinae *sensu lato* (alticinos y galerucinos). Así, únicamente los individuos pertenecientes a estos dos grupos fueron utilizados para la caracterización molecular por medio del ADN. La muestra para el estudio se obtuvo a partir de la selección de un ejemplar por cada morfoespecie y unidad de muestreo, que en todos los casos se identificó como el conjunto de ejemplares capturados el mismo día en el mismo lugar (mismas coordenadas geográficas) dentro de cada localidad. Este procedimiento aspiró a incluir todas las especies obtenidas en el campo, maximizando su representación geográfica e idealmente la variabilidad genética incluida en el estudio, y minimizando costes de procesamiento de muestras.

El procedimiento de extracción de ADN utilizó una técnica no destructiva de los ejemplares, donde estos fueron preparados en seco tras la obtención de su ADN para la creación de una colección de referencia. Para la extracción se usó el cuerpo entero del individuo, se abrieron los élitros del espécimen y se procedió a realizar un corte a lo largo de los tergos abdominales, usando alfileres entomológicos esterilizados, asegurando así que los productos del kit de extracción de ADN pudieran penetrar en todo el cuerpo. Este procedimiento se realizó para todos los individuos seleccionados. La extracción del ADN genómico total de los escarabajos se la realizó con el kit de extracción para sangre y tejido (*DNeasy Blood & Tissue Kit*; Qiagen Iberia S.L., Madrid), según las instrucciones del fabricante. Al final del proceso de extracción, se procedió al montaje de los individuos para la posterior incorporación a la colección entomológica del grupo de investigación en el Institut de Biología Evolutiva (Colección IBE-JGZ, Barcelona).

#### 3.1.3.1 Caracterización molecular de los animales

La caracterización molecular de los ejemplares de Chrysomelidae se basó en la secuenciación parcial de la primera subunidad del gen mitocondrial *citocromo oxidasa c (cox1)*. Este gen fue amplificado por reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) usando en primera

instancia los cebadores *C1-J-2183-mod* (Gómez-Zurita *et al.* 2012) y *TL2-N-3014* (Simon *et al.* 1994), con los cuales se obtuvo un fragmento del extremo 3' del gen que osciló entre los 831 y 835 pares de bases (pb).

Tabla 3.2. Listado de cebadores utilizados para la amplificación y secuenciación de las regiones mitocondriales y cloroplásticas.

Región del ADN	Cebadores	Secuencia 5'-3'
Gen <i>Cox 1</i>		
	C1-J-2183-mod (Jerry <sub>m</sub> )	CAACATYTATTGGATTYYTGG
	TL2-N-3014 (Pat)	TCCAATGCACTAATCTGCCATATT
	Chy*	TWGTAGCCCAYTTTCATTAYGT
	SPat	GCACTAWTCTGCCATATTAGA
Espaciador intergénico <i>psbA-trnH</i>		
	psbAF	GTTATGCATGAACGTAATGCTC
	trnHR2	CGCGCATGGTGGATTACAATCC
	psbA-Int2	CTCATAACTTCCCTCTAGAYYTAGC
	trnH-Int1	GCCTTGATCCACTTGCCYAC

\*La secuencia del cebador Tom, mencionado en el texto, es complementaria a ésta.

En aquellos casos en los que no fue posible obtener el fragmento entero de *cox1* con los dos cebadores antes mencionados, se utilizaron los cebadores internos: Chy, Tom (Ribera *et al.* 2010), y SPat (Timmermans *et al.* 2010). Estos dos fragmentos no se superponen entre sí, y cada uno tiene una longitud aproximada de 400 pb. La combinación de los cebadores utilizados y su correspondiente secuencia se detallan en la Tabla 3.2., mientras que las condiciones específicas de cada PCR, se detallan en la Tabla 3.3.

Cada producto de PCR tuvo un volumen final de 25 µl y contenía, en orden de adición, 18,65 µl de agua esterilizada; 2,5 µl de solución tampón 10 x; 1,5 µl de MgCl<sub>2</sub> 50 mM; 0,25 µl de desoxirribonucleótidos trifosfato (dNTP's) 25 mM; 0,5 µl de cada cebador 10 mM; 0,1 µl de *Taq*-polimerasa y 1 µl de ADN genómico. Los resultados de la PCR fueron revisados en geles de agarosa al 1 % con SYBR®Safe (Invitrogen). Los productos de PCR únicos y del tamaño esperado fueron purificados con dos volúmenes de isopropanol absoluto y 1/10 en volumen de acetato de amonio 5 M. Tras la cuantificación y evaluación de la calidad del producto de PCR resuspendido mediante espectrofotometría (NanoDrop ND-1000, NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, USA), se usaron 10 ng para su secuenciación en ambas direcciones con los mismos cebadores usados para la PCR. La secuenciación se hizo mediante el kit de secuenciación

cíclica *BigDye® Terminator* v3.1 y un analizador de ADN ABI PRISM® 3700, ambos de Applied Biosystems (Foster City, CA, USA). Todas las secuencias de ADN obtenidas, tanto mitocondriales como cloroplásticas (ver siguiente apartado), fueron ensambladas y editadas con el programa Geneious Pro 5.3.6 (Drummond *et al.*, 2010).

Tabla 3.3. Condiciones específicas de la PCR para cada pareja de cebadores utilizados en esta investigación.

Condiciones PCR				
	Jerry <sub>m</sub> &Pat	Jerry <sub>m</sub> &SPat; Chy&Pat(SPat); Jerry <sub>m</sub> &Tom	psbA&trnH	psbA-Int2&trnH- Int1
Inicio	94 °C (3 min)	94 °C (3 min)	94 °C (3 min)	94 °C (3 min)
Touchdown		60 °C - 51 °C x	15 x	60 °C - 43 °C x
Denaturalización	94 °C (30 s)	94 °C (30 s)	94 °C (30 s)	94 °C (30 s)
Anillamiento	50 °C (30 s) x	50 °C (30 s)	42 °C (30 s) x	60 °C (30 s) x
Extensión	72 °C (1 min)	72 °C (1 min)	72 °C (1 min)	72 °C (1 min)
Extensión Final	72 °C (3 min)	72 °C (10 min)	72 °C (10 min)	72 °C (10 min)

### 3.1.3.2 Caracterización molecular de dietas potenciales de coleópteros

Con el objeto de inferir los potenciales recursos alimenticios que utilizan los coleópteros del bosque seco tropical, se amplificó la región cloroplástica intergénica no-codificante *psbA-trnH* a partir de la misma extracción de ADN del insecto, que se supone que incluye restos de su dieta (diferentes plantas en este caso). La PCR fue realizada con los cebadores universales específicos para plantas: *psbAF* (Sang *et al.*, 1997) y *trnH2* (Tate & Simpson 2003). Sin embargo, en ocasiones, la amplificación del fragmento completo no fue exitosa, y fue necesario utilizar cebadores internos diseñados en nuestro laboratorio: *psbA-Int2* y *trnH-Int1* (Papadopoulou *et al.* 2015). Con dichos cebadores internos se realizó una segunda PCR de re-amplificación a partir de la PCR original y como resultado de la PCR se obtuvieron tanto productos de PCR únicos para ser secuenciados directamente, como casos en los que se obtuvieron múltiples bandas (Figura 3.6). En el último caso, se procedió a separar las bandas en un gel de agarosa al 1,5 % de concentración, cortando de forma individual cada banda con cuchillas de bisturí esterilizadas y tomando la precaución de no tocar bandas próximas, siendo también muy precisos en

los cortes para disminuir la cantidad de agarosa en las bandas cortadas. En los casos en que no fue posible separar bandas por tener un tamaño muy similar, dichas bandas no se cortaron. Cada banda cortada fue colocada en tubos *eppendorf* y almacenados en el congelador a -20 °C al menos durante una hora. Transcurrido el tiempo mínimo, las bandas congeladas fueron trituradas con puntas para pipeta de 100 µl. Se utilizó 1 µl de la fracción líquida para una re-amplificación adicional con los cebadores internos especificados anteriormente. En todos los casos, la re-amplificación se basó únicamente en 20 ciclos de PCR. Las secuencias de los cebadores utilizados están detallados en la Tabla 3.2., mientras que las condiciones específicas de la PCR para cada pareja se muestran en la Tabla 3.3. Los productos de PCR de interés se purificaron, cuantificaron y secuenciaron como se describió previamente para *cox1*.

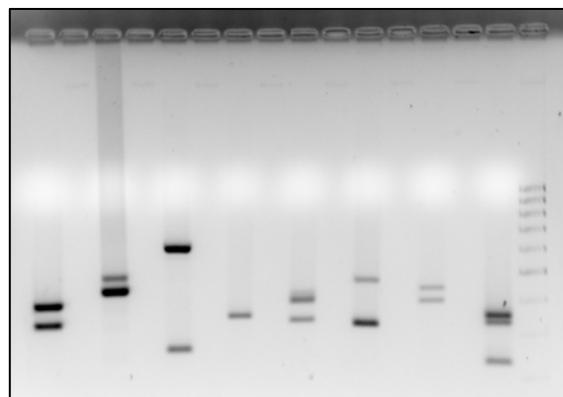


Figura 3.6. Electroforesis de productos de PCR del fragmento cloroplástico *psbA-trnH* con múltiples bandas en gel de agarosa al 1,5 %, previo a la extracción de cada banda.

## 3.2 Delimitación molecular de especies de coleópteros

### 3.2.1 Obtención de árboles de genes con secuencias mitocondriales

Antes de realizar los análisis filogenéticos para la delimitación de especies en este grupo de coleópteros neotropicales, las secuencias se agruparon en dos grandes grupos taxonómicos, Cassidinae o Galerucinae s. l. Para cada grupo, se utilizó únicamente una matriz de haplotipos, eliminando aquellas secuencias idénticas o redundantes para optimizar el rendimiento computacional. El filtrado de los datos originales para extraer haplotipos se hizo mediante el script de Perl *collapseotypes\_v4.5.pl* (Chesters 2013). Para cada grupo, se escogieron secuencias de un grupo hermano o divergente que pudiese servir como grupo externo. En el caso de Cassidinae, se usó el hispino *Chelobasis perplexa* (Baly 1858), colectado en el bosque húmedo de Nicaragua, y perteneciente a la tribu Arescini, considerada una de las más primitivas de los hispinos (Wilf *et al.* 2000; Chaboo 2007), mientras que para Galerucinae s. l. se escogió a un crisomélido de la subfamilia Chrysomelinae: *Calligrapha multipunctata bigsbyana* (Say, 1824) (número de acceso Genbank: AM283119), por ser esta subfamilia el grupo hermano de los Galerucinae s. l. (Gómez-Zurita *et al.* 2008). Las secuencias de *cox1* de cada matriz, para las que se constató previamente que contenían el marco de lectura correcto para la proteína, fueron alineadas usando el algoritmo de alineamiento de secuencias múltiples MAFFT versión v7.017, implementando la estrategia G-INS-i (Katoh *et al.* 2002; Katoh & Standley 2013). En ambos casos se utilizaron los parámetros establecidos por defecto en el programa. Además se utilizó MEGA 7 (Kumar *et al.* 2016) para calcular las frecuencias nucleotídicas de alticinos, cassidinos, galerucinos e hispinos y del conjunto de crisomélidos. La distancia interespecífica entre grupos se evaluó con distancia-p y el error estándar se obtuvo mediante 100 réplicas de *bootstrap*.

A continuación, para cada matriz de haplotipos se evaluaron objetivamente los correspondientes modelos de evolución molecular con mejor ajuste a la variabilidad observada, bajo el Criterio de Información de Akaike corregido (AIC<sub>c</sub>) y el Criterio de Información Bayesiano (BIC) (Sullivan & Joyce 2005). Estos modelos, que evalúan las sustituciones nucleotídicas que han ocurrido en la región de ADN estudiada, fueron ensayados en ambas matrices usando *jModelTest 2* (Posada 2008; Darriba *et al.* 2012). Además se evaluó la estrategia de partición por posición de

codones bajo el criterio BIC, utilizando *PartitionFinder v.1.1.1* (Lanfear *et al.* 2012), para discriminar modelos específicos según estas posiciones de codón. Las matrices de haplotipos y los modelos evolutivos seleccionados se utilizaron para inferir los árboles de las relaciones evolutivas entre haplotipos mediante los métodos de máxima verosimilitud (ML) e inferencia bayesiana (BI).

### 3.2.1.1 Inferencia filogenética mediante Máxima Verosimilitud

Los árboles ML se obtuvieron mediante el programa RAxML (*Randomized accelerated Maximum Likelihood*) versión 8.0.4 (Stamatakis 2006, 2014), explorando el soporte de las relaciones obtenidas con la técnica de *bootstrap* o re-muestreo de los datos originales. A partir de cada alineamiento, se utilizó un árbol parsimonioso aleatorio según la búsqueda de 20 árboles iniciales (implementado por defecto en el algoritmo *rapid hill-climbing* de RAxML), como punto de partida para la optimización de la topología. A continuación se generaron 1.000 pseudo-réplicas de los datos para investigar el nivel de soporte de los clados, utilizando la opción *-f a* del código ejecutable *raxmlHPC-PTHREADS-SSE3*. Además se especificaron los grupos externos correspondientes y mencionados previamente, los cuales fueron utilizados en todos los análisis. Debido a que el programa RAxML sólo tiene implementado modelos de sustitución basados en GTR (*General Time Reversible*) y se desaconseja estimar la proporción de sitios no variables en combinación con el modelo de distribución GAMMA ( $\Gamma$ ) (Yang 2006; Stamatakis 2006), los árboles ML de *cox1* se crearon únicamente con el modelo GTR +  $\Gamma$ .

### 3.2.1.2 Inferencia filogenética mediante Inferencia Bayesiana

Para la evaluación de relaciones evolutivas de *cox1* se aplicó también la inferencia bayesiana especificando una serie de *priors* relevantes para el análisis, parámetros que se definen previamente y que sirven como hipótesis de los procesos evolutivos y su rango de valores posibles en los datos de entrada. En nuestro caso, los datos de entrada fueron las matrices de haplotipos del gen mitocondrial *cox1* de Cassidinae y Galerucinae *s. l.*, aplicando tanto los resultados de mejor modelo de substitución según *jModelTest*, como los resultados de la estrategia de partición por codones evaluados con *PartitionFinder*, esto es, con las posiciones 1 y 2 compartiendo el mismo modelo de substitución, y la posición 3 un modelo adicional.

Se utilizó la aplicación BEAUTi (Bayesian Evolutionary Analysis Utility), implementada en el paquete de BEAST v1.8 (Drummond *et al.* 2012), para preparar los datos para su análisis, usando un reloj no correlacionado relajado (Drummond *et al.* 2006) siguiendo una distribución exponencial. Las condiciones de la búsqueda utilizadas en los análisis para conseguir convergencia, tanto en Cassidinae y Galerucinae s. l. se detallan en la Tabla 3.4. Específicamente, los árboles ultramétricos inferidos fueron construidos según: (i) modelos de substitución evolutiva seleccionados por *jModelTest* y *PartitionFinder*; (ii) un reloj no correlacionado exponencial relajado, con una tasa de substitución media fijada en 1, con la tasa de cada rama obtenida a partir de una distribución exponencial; (iii); (iv) topologías según un modelo de coalescencia de tamaño poblacional constante y distribución uniforme; y (v) número de generaciones suficientes para obtener convergencia en los resultados. Se fijó la tasa de substitución media en el valor arbitrario 1 porque el interés era obtener una filogenia con tasas de evolución relativas para usar en GMYC, no para datar el árbol filogenético. Por otro lado, aunque nuestras matrices están conformadas por especies diferentes, se utilizó el modelo de coalescencia (y no uno de especiación) debido a que en BEAST no se puede especificar modelos mixtos, y según el estudio realizado por Monaghan *et al.* (2009), un prior de coalescencia resulta más apropiado para delimitación de especies con GMYC. El resto de operadores y *priors* disponibles en BEAUTi se mantuvieron por defecto. Para cada matriz se creó un fichero en formato *xml*, y se llevaron a cabo cuatro análisis de forma independiente para analizar la convergencia de resultados, utilizando un computador de dos procesadores de seis núcleos Dual Intel Xeon X5690 del Instituto de Biología Evolutiva CSIC-UPF (Barcelona, España), y el portal CIPRES del Centro de Supercomputación de San Diego, USA (Miller *et al.* 2010).

El programa Tracer v1.5 (Rambaut & Drummond 2007) se utilizó con el fin de constatar la convergencia y equilibrio de las cadenas de Markov, a través de los valores de ESS. En todos los casos, se aceptaron los análisis independientes con convergencia y que obtuvieron para todos los parámetros valores de ESS mayores a 200. Se combinaron los archivos generados de los cuatro análisis independientes utilizando LogCombiner v1.8 (Drummond *et al.* 2012), eliminando el 10 % inicial de las cadenas de Markov generadas, previas al punto en que se alcanza estabilidad en la estimación de los parámetros. A continuación, los árboles muestreados fueron resumidos con TreeAnnotator v1.8 (Drummond *et al.* 2012) para generar un único árbol consenso, aplicando la estrategia de mayor credibilidad de clados (*maximum clade credibility tree*) usando la mediana de las alturas de los

nodos. La visualización de los árboles obtenidos se la realizó con el programa FigTree (Rambaut 2008).

Tabla 3.4. Parámetros especificados en la inferencia filogenética de Cassidinae y Galerucinae s. l. según el criterio bayesiano en el programa BEAST 1.8, considerando datos particionados y sin particionar. M = millones de generaciones.

	Cassidinae		Galerucinae s. l.	
	No Particionados	Particionados	No Particionados	Particionados
Modelo de substitución	GTR+I+G	GTR+I+G <sup>a</sup> /GTR +G <sup>b</sup> , no conectados	GTR+I+G	GTR+I+G <sup>a</sup> /TN93+I +G <sup>b</sup> , no conectados
Reloj evolutivo	Exponencial no correlacionado relajado con una tasa de sustitución media fijada en 1.			
Conjeturas del Árbol		Coalescente, de tamaño constante y generado al azar		
Cadenas de Markov	50 M	300 M	250 M	500 M

<sup>a</sup> Posición 1&2

<sup>b</sup> Posición 3

### 3.2.2 Métodos de delimitación de especies basados en secuencias

Para determinar las potenciales especies de Chrysomelidae presentes en nuestro muestreo, se procedió a utilizar dos de los modelos más utilizados que permiten hacer estas aproximaciones objetivas y usando información a partir de un único *locus*: el modelo Generalizado Mixto de Yule y Coalescencia (GYMC) y el modelo de Árboles por procesos de Poisson (PTP).

#### 3.2.2.1 Delimitación de especies con el modelo GYMC

El modelo GYMC (Pons *et al.* 2006) combina la teoría del proceso de nacimiento de linajes independientes (especies) y la teoría de Coalescencia dentro de la especie, utilizando la variación genética de un grupo de secuencias. El método analiza la tasa de ramificación de las secuencias en el árbol filogenético, separando especies y poblaciones, donde la longitud de las ramas entre especies están determinadas por procesos macroevolutivos como especiación y extinción (Yule 1925; Nee *et al.* 1994), mientras que la longitud de ramas dentro de la especie reflejan los procesos microevolutivos de coalescencia neutral en las poblaciones (Hudson 1990). Por lo tanto, este método encuentra los nodos que

definen especies putativas y aplica un test de razón de verosimilitud (LRT por sus siglas en inglés) para evaluar el ajuste de la longitud de las ramas a un modelo mixto de nacimiento del linaje y coalescencia neutral poblacional. Además, tiene la ventaja de que fue desarrollado específicamente para evaluar un único *locus*, con lo que es muy apto para datos mitocondriales, y no se requiere conocimientos previos de las potenciales especies a delimitar (Pons *et al.* 2006; Fontaneto *et al.* 2007).

El modelo GMYC permite calcular (i) un único umbral o límite, o (ii) un umbral múltiple que varía a lo largo del árbol filogenético (Monaghan *et al.* 2009), para separar aquellos procesos de diversificación de los procesos de coalescencia, y determinar así el número de grupos de coalescencia (=especies) presentes en una muestra. Para comprobar si hay evidencia significativa en la transición entre coalescencia y especiación, se calcula la probabilidad de que los eventos de diversificación más recientes, sean más antiguos que los eventos de coalescencia más antiguos, y se compara contra un modelo nulo, donde todo el árbol pertenece a un solo evento de coalescencia, esto es a una sola especie. Además, el método provee de un intervalo de confianza estadístico, donde se evalúan los límites de las potenciales especies presentes en el conjunto de datos, calculados a partir de la solución de 2 unidades de log-verosimilitud desde el valor calculado, correspondiendo a un intervalo de confianza equivalente al 95 %.

A pesar de las ventajas y facilidad de aplicación de éste método de delimitación de especies, presenta ciertas desventajas, que se deben tomar en cuenta: (i) podría ser difícil para el método encontrar el punto de transición entre procesos de especiación y coalescencia cuando existe, por ejemplo, una tasa de especiación rápida y un tamaño poblacional grande; (ii) no siempre es posible ajustar los datos a un árbol filogenético ultramétrico, un requisito indispensable del modelo; y, en relación con esto último, (iii) la necesidad de aplicar metodologías para convertir árboles en ultramétricos, podría introducir sesgos en la longitud de las ramas y su topología, conduciendo a una sobreestimación o subestimación de los linajes evolutivos (Tang *et al.* 2014).

A pesar de esas limitaciones, este método ha sido ampliamente aplicado en diferentes grupos taxonómicos y a diferentes escalas y regiones geográficas, tanto en (i) vertebrados: primates (Dellicour & Flot 2015), murciélagos (Esselstyn *et al.* 2012), peces (Bagley *et al.* 2015; Costa-Silva *et al.* 2015; Roxo *et al.* 2015), reptiles (Barley *et al.* 2013; Miralles & Vences 2013; Blair *et al.* 2015); (ii) invertebrados: mariposas (Talavera *et al.* 2013; Tang *et al.* 2014; Dumas *et al.* 2015; Kekkonen *et al.* 2015; Toussaint *et al.*

2015), dípteros (Carew & Hoffmann 2015; Lin *et al.* 2015), avispas (Gebiola *et al.* 2012; McLeish & van-Noort 2012; Schwarzfeld & Sperling 2015), colémbolos (Katz *et al.* 2015), caracoles marinos (Puillandre *et al.* 2012; Modica *et al.* 2014), abejas (Lecocq *et al.* 2015), arañas (Hamilton *et al.* 2011; Hedin 2015), saltamontes (Pocco *et al.* 2015); (iii) plantas vasculares (McLeish & van-Noort 2012; Su *et al.* 2015); (iv) musgos (Lang *et al.* 2015); (v) hongos (Leavitt *et al.* 2015) y (vi) algas (Allewaert *et al.* 2015; Guillemin *et al.* 2015; Zuccarello *et al.* 2015). En el caso particular de Coleoptera, los estudios de Hendrich *et al.* (2010), Astrin *et al.* (2012), Ikeda *et al.* (2012), Papadopoulou *et al.* (2013), Rodriguero *et al.* (2013), Baselga *et al.* (2013), García-López *et al.* (2013), Hämback *et al.* (2013), Montagna *et al.* (2013), Fujisawa *et al.* (2014), Andújar *et al.* (2015), Kundrata *et al.* (2015), Nguyen & Gómez-Zurita (2016) o Thormann *et al.* (2016), son algunos de los ejemplos donde el método GMYC ha sido aplicado para delimitar especies putativas, describir especies nuevas en combinación con criterios morfológicos, o revelar especies nuevas en el caso de grupos crípticos.

Con el objetivo de inferir las especies potenciales presentes en el muestreo de Cassidinae y Galerucinae *s. l.* con el modelo GMYC y a partir de los árboles de máxima verosimilitud, se probaron tres métodos distintos que transformaron dichos árboles ML en ultramétricos. Esta exploración de alternativas se planteó debido al potencial sesgo que se podría introducir en los resultados debido a la selección de una única estrategia de linealización, porque cada método implementa algoritmos que evalúan la tasa de sustitución y el tiempo de divergencia de forma distinta. Los métodos aplicados fueron: r8s, PATHd8 y treePL.

a) Método de Verosimilitud Penalizada: Este método facilita la estimación de las tasas de evolución molecular absolutas, ajustando la longitud de las ramas de un árbol filogenético, y está implementado en el programa r8s (Sanderson 2003). R8s es un método semi-paramétrico, y utiliza estrategias paramétricas y no-paramétricas para relajar el supuesto de una tasa de evolución constante y así obtener mejores estimas de tiempo. El programa requiere conocer el número de pares de bases de las secuencias mitocondriales y un árbol filogenético con longitudes de rama estimadas, esto es, la información del número de substituciones a lo largo de cada rama. Si se desea específicamente datar el árbol filogenético, además se pueden añadir varios puntos de calibración para escalar la tasa y tiempo a unidades absolutas. Para ello, en los parámetros de entrada se identifican los nodos a los que se les asigna una edad máxima o mínima. En nuestro caso, nosotros únicamente requeríamos un árbol ultramétrico

con edades relativas para analizar en GMYC, por lo cual se fijó la raíz con un valor arbitrario.

Cada uno de los árboles filogenéticos (con datos particionados y sin particionar) obtenidos con RAxML de Cassidinae y Galerucinae *s. l.* fueron evaluados con este método, usando la versión r8s 1.71 (<http://loco.biosci.arizona.edu/r8s/>). Siguiendo las instrucciones del manual, el análisis de r8s consistió en la estima de un valor de “*smoothing*” óptimo, valor numérico no paramétrico, que penaliza los cambios drásticos en la tasa de sustitución de las ramas, y un análisis de calibración del árbol, ajustando el valor de ese parámetro obtenido en el paso previo mediante un análisis de validación cruzada. En todos los casos se eliminaron los grupos externos utilizados para enraizar los árboles filogenéticos de máxima verosimilitud utilizando el comando “*prune*”. La corrección de las tasas relativas se hizo fijando arbitrariamente la edad del nodo raíz a 100, aplicando el algoritmo truncado de Newton para evaluar el desempeño de los valores de *smoothing* y escoger el que mejor se ajustase a los datos a partir de una prueba de chi-cuadrado, y mediante el método de verosimilitud penalizada (PL, por sus siglas en inglés).

b) Método *PATHd8*: Este programa, diseñado para datar filogenias, estima árboles ultramétricos a partir de árboles que no se ajustan a un reloj molecular estricto (Britton *et al.* 2007). Este método utiliza un algoritmo rápido, de computación sencilla, y por ello está especialmente recomendado para estimar tiempos de divergencia a partir de árboles filogenéticos muy grandes (miles de taxones). El fundamento de PATHd8 considera que la edad relativa de un nodo específico se puede estimar a partir de la distancia promedio existente desde ese nodo hacia todos los nodos terminales, relativa a la distancia promedio desde la raíz del árbol hacia todos los nodos terminales, bajo el supuesto implícito de que la variación promedio entre grupos hermanos no es muy variable. El programa además implementa un método de longitud de ruta media (MPL: *Mean Path Length*) para establecer un reloj molecular, y se encarga de la tasa de variación de sustitución a través de una tasa de “*smoothing*” local.

El requisito fundamental para producir un árbol ultramétrico con PATHd8 consiste en usar un árbol filogenético de topología específica y con longitudes de rama calculadas a partir del número de substituciones. Además, es posible especificar la edad de nodos concretos para mejorar la calibración del árbol, sea con datos fósiles o con edades de referencia.

Para cada árbol de RAxML de Cassidinae o Galerucinae *s. l.*, los parámetros establecidos fueron: (i) número de pares de bases de las secuencias mitocondriales, (ii) la topología óptima obtenida con RAxML, y (iii) la ubicación del nodo raíz, usando la posición del grupo externo como edad de divergencia máxima.

c) Método *treePL*: Es otro método desarrollado para transformar la longitud de las ramas de un árbol filogenético, de tal forma que sea proporcional al tiempo de divergencia (Smith & O'Meara 2012). Al igual que r8s, es un método de verosimilitud penalizada, aunque en este caso utiliza algoritmos que son eficientes para estimar el tiempo de divergencia en conjuntos grandes de datos, por ejemplo en filogenias con miles de taxones, permitiendo acelerar la optimización y evitar los óptimos locales. Así, treePL estima tasas evolutivas y tiempos de divergencia bajo un enfoque semi-paramétrico que permite que las tasas de sustitución varíen entre ramas del árbol. De la misma forma que r8s, treePL calcula un valor de *smoothing* óptimo que controla por la heterogeneidad de tasa que se permite entre ramas, y a través de un análisis de validación cruzada y los respectivos resultados del test de chi-cuadrado para cada uno de los valores *smoothing* resultantes del análisis.

Todos los árboles ultramétricos de Cassidinae y Galerucinae *s. l.* obtenidos con treePL, usando datos particionados y sin particionar, fueron recuperados con los siguientes parámetros: (i) el mejor árbol filogenético inferido con RAxML; (ii) el valor de *smoothing* ajustado por validación cruzada; (iii) el número de pares de bases de las secuencias mitocondriales; (iv) la edad del nodo raíz fijada arbitrariamente a 100; (v) la función *prime* que se ejecuta la primera vez para probar las diferentes posibilidades de optimización del análisis; y (vi) la función *thorough*, que aunque puede ralentizar un poco el análisis, asegura que éste continuará hasta que haya convergencia de resultados.

Una vez que se obtuvieron los árboles ultramétricos, tanto con cada uno de los métodos indicados previamente para árboles ML, como los árboles BI obtenidos directamente con BEAST, se aplicó la función *multi2di* del paquete *ape* de R (Paradis *et al.* 2004) para resolver potenciales politomías en las filogenias y generar árboles completamente dicotómicos. A continuación se utilizó el programa SPlits (Ezard *et al.* 2009) en RStudio (R Development Core Team 2013), para aplicar el método GMYC y la estrategia de umbral simple, y así (i) encontrar el punto de transición entre especiación y coalescencia, (ii) optimizar el valor de máxima verosimilitud del modelo para encontrar los nodos ancestrales comunes más recientes que definen especies diferentes, y (iii) encontrar los intervalos de

confianza de los parámetros establecidos en el modelo con un 95 % de probabilidad. Éstos intervalos fueron calculados como soluciones dentro de 2 unidades log-verosimilitud a partir de la óptima. Se optó por no utilizar la estrategia de umbral múltiple (Monaghan *et al.* 2009; Fujisawa & Barraclough 2013), que aunque tiene un fundamento más plausible al suponer que el origen de todas las especies no es sincrónico, se ha demostrado con datos empíricos que sobreestima el número de especies y no se ajusta significativamente mejor que la opción de umbral simple (por ejemplo ver en: Papadopoulou *et al.*, 2013; Talavera *et al.*, 2013; Modica *et al.*, 2014; Lang *et al.*, 2015; Schwarzfeld & Sperling, 2015).

### 3.2.2.2 Delimitación de especies con el modelo PTP

El modelo PTP (Zhang *et al.* 2013) delimita las especies potenciales a partir de un árbol filogenético no-ultramétrico, calculando la tasa de especiación directamente a partir del número de substituciones, y usa algoritmos heurísticos para identificar la clasificación más verosímil de los procesos evolutivos de diversificación y especiación a nivel poblacional y de especie. La idea fundamental de PTP es que el número de substituciones entre especies ha de ser significativamente más elevado que el número de substituciones dentro de una especie. Así, el método asume que: (i) cada substitución tiene una pequeña probabilidad de generar especiación; (ii) hay una distribución Poisson que describe especiación y otra independiente que describe la ramificación intraespecífica; (iii) en ambos casos el número de substituciones hasta el siguiente evento de ramificación sigue una distribución exponencial. El modelo PTP infiere especies putativas que son consistentes con el Concepto Filogenético de Especie (PSC por sus siglas en inglés). Para obtener las especies putativas, el método estima el número de substituciones medio esperado por sitio entre dos eventos de ramificación, usando la información de las longitudes de rama de la filogenia. Luego implementa dos tipos de proceso de Poisson: eventos de ramificación intra- e interespecíficos, antes de inferir el número de especies más probable a partir de un árbol filogenético bifurcado inicial. Recientemente se implementó en el procedimiento la opción de delimitar especies potenciales bajo un enfoque bayesiano (bPTP), en el que se utilizan cadenas de Markov para estimar la probabilidad posterior de cada clado. Los valores más altos de dicha probabilidad posterior en un clado determinado indicarían que todos los descendientes de ese clado pertenecen a la misma especie con mayor probabilidad (Zhang *et al.* 2013). PTP asume que la filogenia de referencia es un árbol de especies (no un árbol de genes) que refleja el conocimiento sobre la tasa y proceso de especiación, por lo cual sus resultados, al igual

que los de cualquier método de delimitación de especies, deben ser considerados como hipótesis iniciales y no evidencias *de facto*, que deben testarse con análisis adicionales de validación de especies (por ejemplo: información genética complementaria, distribución geográfica y/o caracteres morfológicos).

La ventaja principal de PTP es que no requiere un árbol de genes ultramétrico, algo que es obligatorio con el modelo GMYC, evitando así la posibilidad de sesgos en la obtención de resultados por la transformación analítica de las longitudes de rama de los árboles. Por otra parte, es necesario considerar que PTP tiende a sobreestimar el número de especies putativas cuando en el árbol filogenético hay desequilibrios en el número de individuos por especie (Zhang *et al.* 2013). Hasta la fecha, algunos de los estudios que han aplicado este método de delimitación de especies han sido realizados por Cottontail *et al.* (2014); Leasi & Norenburg (2014); Modica *et al.* (2014); Tang *et al.* (2014); Dumas *et al.* (2015); Hedin (2015); Lang *et al.* (2015); Leavitt *et al.* (2015); Lin *et al.* (2015); Schwarzfeld & Sperling (2015); Toussaint *et al.* (2015); o Nguyen & Gómez-Zurita (2016). En la mayoría de estos estudios, los resultados son congruentes al comparar especies delimitadas con PTP y con el método GMYC, aunque según estudios de simulación, PTP es al parecer más consistente que GMYC, sobre todo cuando las distancias evolutivas entre especies son pequeñas (Zhang *et al.* 2013; Fontaneto *et al.* 2015).

En nuestro caso, los mejores árboles filogenéticos de Cassidinae y Galerucinae s. l., usando datos particionados y sin particionar y creados con RAxML, fueron utilizado para obtener la delimitación de especies putativas según PTP y bPTP. En todos los casos, los análisis fueron ejecutados en línea utilizando la herramienta disponible en: <http://species.h-its.org/ptp/>. Para los análisis, se especificaron 500.000 generaciones y el resto de parámetros se usaron con sus valores por defecto, siguiendo las recomendaciones de los autores, y aceptando los resultados que habían alcanzado equilibrio y convergencia.

### 3.3 Estimación de la riqueza de especies de coleópteros

#### 3.3.1 Diversidad Alfa

Para estimar el grado de éxito de nuestros muestreos en conseguir una muestra representativa de la diversidad de los grupos focales, se calculó el número de especies esperadas de Cassidinae y Galerucinae s. l. mediante estimadores ecológicos clásicos de riqueza de especies y también aplicando la técnica de rarefacción, según sus implementaciones en el programa EstimateS v.9.1.0 (Colwell 2013). Como el muestreo no fue diseñado en términos cuantitativos, y la selección de especies para el análisis molecular trató de maximizar la diversidad fenotípica y no representar la frecuencia de captura de cada morfoespecie, únicamente se usaron datos de incidencia (presencia/ausencia) para predecir el número de especies esperadas en el área muestreada (Gotelli & Colwell 2011). En EstimateS, se usaron matrices de incidencia para cada una de las cuatro localidades principales, y también de forma conjunta, así como del total de 12 localidades muestreadas. En todos los análisis, se hicieron tres análisis, con diferentes consideraciones de *especie*: (i) morfoespecies; (ii) especies inferidas exclusivamente a partir de datos moleculares; o (iii) especies resultantes de la integración de datos moleculares y morfológicos. Cada matriz de incidencia estuvo constituida por datos de presencia de cada especie en cada unidad de muestreo. En todos los casos, la unidad de muestreo fue la fecha específica de captura en cada sitio de muestreo, tal como se indicó en la sección 3.1.3. Los estimadores basados en datos de incidencia usados fueron: ICE (*Incidence-based Coverage Estimator*), Chao 2, Jackknife 1 y Jackknife 2 (Gotelli & Colwell 2011; Colwell 2013). En algunos casos (específicamente, Chao 2 y Jackknife 1), se calculó la desviación estándar de las estimas a partir de 100 aleatorizaciones de cada grupo de datos y re-muestreo. Las curvas de rarefacción y sus intervalos de confianza al 95 % se obtuvieron aplicando 100 re-muestreos y un factor 3.0 x de proyección teórica del muestreo.

#### 3.3.2 Diversidad Beta

La diversidad Beta (Whittaker 1960) mide la heterogeneidad en la composición de las comunidades entre dos o más sitios teniendo en cuenta las especies que comparten y las que no comparten. En nuestro

caso, el cálculo de la diversidad beta entre las comunidades de Cassidinae y Galerucinae *s. l.* de las cuatro localidades principales, se realizó mediante el programa *betapart* (Baselga & Orme 2012) en R. Este programa permite evaluar la heterogeneidad de las comunidades proporcionando una medida de disimilitud de forma global a partir de la diversidad beta de Sørensen (1948) para cada par de localidades evaluadas, además de la contribución de los componentes de reemplazamiento (*turnover*; beta de Simpson, 1943) y anidamiento (*nestedness*; a partir del índice desarrollado por Baselga, 2010) a esta disimilitud global. En nuestro caso, se prepararon matrices de presencia (1) o ausencia (0) de las especies de crisomélidos (en columnas) en las localidades donde fueron registrados (filas), y se aplicó la función *beta.multi* para calcular los índices de interés del conjunto de localidades, y la función *beta.pair* para los cálculos correspondientes entre cada par de localidades.

## 3.4 Inferencia molecular del alimento de los coleópteros

### 3.4.1 Inferencia taxonómica de secuencias cloroplásticas utilizando BAGpipe

Las secuencias cloroplásticas *psbA-trnH* obtenidas a partir de las extracciones de ADN total de los coleópteros fueron usadas para la identificación taxonómica de las plantas de procedencia, asumiendo que buena parte de ellas derivarían de la dieta de los insectos. Debido al elevado número de secuencias cloroplásticas por identificar, la asignación taxonómica de las dietas potenciales de Chrysomelidae de bosque seco se realizó mediante el procedimiento automático denominado BAGpipe (*pipeline for Biodiversity Assessment using GenBank data*; Papadopoulou *et al.*, 2015). Este procedimiento funciona a través de una serie de procesos que combinan: (i) la búsqueda de secuencias homólogas en una base de datos de referencia con información taxonómica, y (ii) la aplicación de criterios fenéticos y filogenéticos para la asignación taxonómica de secuencias desconocidas por comparación con las anteriores.

#### 3.4.1.1 Construcción de la base de datos de referencia de BAGpipe

A pesar de que en la actualidad el uso de códigos de barra genéticos para la identificación taxonómica es común, las bases de datos públicas disponibles para vincular información de secuencia de ADN con nombres de especies no son exhaustivas, y en el caso de algunos grupos taxonómicos hiperdiversos (como las plantas vasculares y los coleópteros) en regiones geográficas de gran diversidad (particularmente en los trópicos), su representatividad es muy limitada. Por lo tanto, crear una base de datos de referencia local con diversidad intra- e interespecífica es altamente recomendable (García-Robledo *et al.* 2013), ya que favorece el proceso de identificación de secuencias desconocidas y su asignación a especies conocidas (Kress *et al.* 2015; Papadopoulou *et al.* 2015).

En nuestro caso, siguiendo el procedimiento de BAGpipe, se creó una base de datos de referencia de secuencias cloroplásticas *psbA-trnH* obtenidas a partir de la última actualización de GenBank disponible (17-abril-2015). Para crear esta base de datos de referencia, se restringió la

obtención de secuencias a la división Magnoliophyta (donde se concentra la mayor diversidad de dietas conocidas de Chrysomelidae) y con su respectiva información taxonómica; se estandarizaron la orientación y el tamaño de la región estudiada utilizando un grupo de secuencias representativas de éste fragmento; y se eliminaron duplicados para un mismo taxón de secuencias idénticas o muy parecidas utilizando criterios de similitud de secuencia. Estos pasos se llevaron a cabo de forma automática con *scripts* de BAGpipe (Papadopoulou *et al.*, 2015). Es importante destacar que en los datos obtenidos de GenBank, ya estuvieron disponibles las secuencias *psbA-trnH* de la flora de Nicaragua, generadas en nuestro laboratorio y en el proyecto en el que se enmarca esta tesis doctoral (Papadopoulou *et al.* 2015). Estas secuencias se obtuvieron a partir de plantas herborizadas en las mismas localidades que nuestros especímenes, con el objetivo de mejorar la resolución taxonómica de los resultados y complementar la representatividad de dicha flora en las bases de datos públicas, como lo es GenBank.

### 3.4.1.2 Asignación taxonómica mediante criterios fenéticos y filogenéticos

La asignación taxonómica de las secuencias cloroplásticas con BAGpipe utilizó dos estrategias: (i) inferencia fenética, a través de distancias genéticas, e (ii) inferencia filogenética basada en árboles de Máxima Verosimilitud. En el primer caso, se usó un límite de identidad del 85 % para crear grupos con nuestras secuencias “no identificadas” o “problema” similares (*clusters*). Esta agrupación inicial es obligatoria en el caso de las secuencias de *psbA-trnH*, ya que la divergencia filogenética y la presencia de muchos *indels* (inserciones o delecciones de nucléotidos en una secuencia) largos hace irreconocibles las homologías, que sólo se retienen, y por tanto se pueden alinear, hasta un cierto umbral de divergencia. Pero además, al filtrarse los datos por semejanza, se generaron subconjuntos de los mismos de tamaño más discreto, potencialmente mejorando el rendimiento computacional de los análisis filogenéticos posteriores. A continuación, se comparó cada grupo de secuencias contra la base de datos de referencia, y se retuvieron aquellos fragmentos homólogos a cada *cluster* con similitud mayor al 80 %, y con su respectiva identificación taxonómica. Para cada grupo, compuesto por secuencias problema y secuencias de referencia, se calculó su distancia genética por pares mediante el algoritmo global de distancia pareada Needleman-Wunsch, para obtener la *mejor coincidencia* respecto a las secuencias de referencia. La asignación taxonómica se realizó a partir de la identificación de la parte común de la taxonomía en las coincidencias al 1% y al 4% de similitud.

Finalmente, se hizo una exploración del número de secuencias homólogas involucradas en cada grupo, ya que los autores recomiendan manejar subgrupos de datos con una cantidad de secuencias que oscilen entre 10 y 500 por motivos de eficiencia computacional, sobre todo cuando se pueden recuperar miles de secuencias para un mismo grupo. En los casos en que se obtuvo subgrupos de datos con cantidades por debajo o por encima de lo sugerido, se modificó el límite de divergencia hasta obtener el tamaño recomendado.

Para la asignación taxonómica basada en árboles filogenéticos, cada grupo de secuencias y sus respectivos homólogos fueron alineados con el algoritmo implementado en BAGpipe, *MAFFT E-INS-i* (Katoh & Standley 2013), y se crearon los respectivos ficheros en formato “*phylop*” relajado. Con el objeto de identificar y corregir posibles alineamientos erróneos, todos fueron inspeccionados en Geneious Pro 5.3.6 antes de continuar con el proceso automático, y se editaron únicamente aquellos que tenían errores obvios de alineamiento (típicamente en los extremos de las secuencias). A continuación, se utilizó el programa RAxML y el algoritmo *-f a* con el método de *bootstrapping* rápido (100 pseudo-réplicas) para inferir las relaciones filogenéticas de cada grupo de secuencias con la opción de análisis en paralelo (*parallelization*). Debido a que los árboles obtenidos no tenían un grupo externo para fijar la raíz del árbol, se aplicó la estrategia de enraizado en el punto medio (*midpoint rooting*) (Papadopoulou *et al.* 2015). Finalmente, se asoció la información taxonómica de cada clado del árbol con nuestras secuencias problema según dos criterios: liberal y estricto. La asignación taxonómica liberal consistió en identificar la posición de la secuencia problema dentro del árbol y el primer clado con soporte mayor al 70 % del que la secuencia forma parte, asignándole la taxonomía que comparten todos los elementos del clado. La asignación estricta consistió en identificar el siguiente clado soportado que incluye al primero con la secuencia no identificada, y asignar la taxonomía que comparten todos los taxones involucrados. Como paso final, se generó una tabla con los resultados obtenidos de asignación taxonómica fenética y filogenética para cada secuencia problema.

Durante el proceso fue necesaria la eliminación de secuencias de GenBank con identificaciones taxonómicas erróneas, que se iban reconociendo al completarse los análisis, específicamente al inspeccionar los árboles filogenéticos y revisar las tablas de resultados. Cuando se observaron diferencias taxonómicas marcadas (en rangos de tribus, familias u ordenes diferentes) entre la asignación según la “mejor coincidencia” y la

asignación basada en el árbol filogenético, se comprobó la taxonomía de GenBank de las secuencias involucradas. En estos casos, típicamente se verificaba que secuencias indistinguibles o muy parecidas tenían clasificaciones muy divergentes (p. ej., familias distintas), lo que determinaba que la búsqueda de taxonomía compartida de integrantes de un clado revelara solapamientos sólo en rangos taxonómicos altos (p. ej. orden, si las familias al menos pertenecían al mismo). Además, cada secuencia dudosa se sometió a una búsqueda en *blast* (Altschul *et al.* 1997), constatando su anotación taxonómica y la de las secuencias más similares. Cuando hubo sospechas razonables sobre la incorrecta asignación taxonómica de alguna secuencia depositada en GenBank, se procedió a eliminarla de la base de datos de referencia, y se repitió todo el proceso de asignación taxonómica. La lista de secuencias de GenBank con discrepancias taxonómicas halladas en este estudio se detallan en el Apéndice I.

### 3.4.2 Evaluación de la fiabilidad de las inferencias de dieta

#### 3.4.2.1 Propósito del ensayo experimental

La caracterización de dietas por medios moleculares depende en gran medida de la cantidad y del nivel de degradación del material orgánico ingerido, así como del desempeño de la PCR. Dada la naturaleza de este material y de sus estrategias de recuperación, además de la incertidumbre sobre la procedencia de las secuencias obtenidas, si del tracto digestivo de los animales o contaminación ambiental, se diseñó un experimento para evaluar la fiabilidad de los resultados de la inferencia de potenciales plantas hospederas de los crisomélidos del bosque seco. Para evaluar si existen sesgos en la identificación de dietas al aplicar metodologías diferentes, se compararon los resultados de inferencia de dieta obtenidos con el procedimiento estándar (apartado 3.1.3.2) con los de protocolos alternativos de laboratorio diseñados para descartar la posibilidad de contaminación ambiental.

#### 3.4.2.2 Diseño de los experimentos

En concreto, estos ensayos se hicieron con dos especies de cassidinos: *Ischnocodia annulus* (Fabricius, 1781) y *Physona alutacea* (Boheman, 1854), y seis especies de alticinos: *Alagoasa decemguttata* (Fabricius, 1801), *Blepharida*

*suturalis* (Jacoby, 1885), *Glenidion sp.*, *Omophoita octomaculata* (Crotch, 1873), *Syphrea sp.* y *Walterianella venustula* (Schaufuss, 1874). Los ensayos experimentales difirieron según la muestra utilizada. (1) Los individuos de *I. annulus* fueron capturados sobre cinco especies de plantas identificadas taxonómicamente: *Ardisia revoluta* (Primulaceae), *Chiococca alba* (Rubiaceae), *Eugenia acapulcensis* (Myrtaceae), *Gouania lupuloides* (Rhamnaceae), y *Trophis racemosa* (Moraceae), y se utilizaron para determinar si las inferencias de dieta basadas en secuencias *psbA-trnH* obtenidas con técnicas convencionales de extracción de ADN, y explicadas previamente (apartado 3.1.3.2), se correspondían con las plantas sobre las que fueron colectados. (2) Por su parte, los alticinos de cada especie fueron separados en dos grupos. Uno fue tratado según el procedimiento estándar. Al otro grupo se le aplicó un protocolo de descontaminación externa con hipoclorito sódico previo a la extracción de ADN (Montagna *et al.* 2015), con el fin de garantizar que ningún resto de ADN vegetal ambiental permaneciera adherido al cuerpo. Así, las secuencias resultantes deberían provenir del interior del animal, idealmente de su tubo digestivo. (3) Por último, los individuos de *Physonota alutacea*, también se dividieron en dos grupos. Uno se sometió al procedimiento convencional de extracción de ADN, y el resto de individuos fueron descontaminados con el mismo protocolo que los alticinos, antes de proceder a la disección de su tubo digestivo utilizando pinzas esterilizadas. La extracción de ADN se realizó a partir de cada tubo digestivo, asegurando así que se amplificaba exclusivamente el material vegetal consumido por cada individuo.

### 3.4.2.3 Asignación taxonómica de los fragmentos cloroplásticos

Las nuevas extracciones de ADN de las muestras tratadas se utilizaron para amplificar y secuenciar el mismo fragmento de *psbA-trnH* del procedimiento habitual, que incluía la secuenciación directa así como la secuenciación de productos reamplificados (ver apartado 3.1.3.2). La identificación taxonómica de estos fragmentos cloroplásticos se realizó con el mismo procedimiento automático BAGpipe explicado con anterioridad. En este caso, siendo estos experimentos posteriores a los de determinación de dieta a partir de las muestras nativas, la base de datos de referencia se creó con posterioridad, con la información actualizada en GenBank del 19 de agosto de 2014, y siguiendo todos los pasos descritos previamente en el apartado 3.4.1.

### 3.4.2.4 Comparación de tratamientos

La comparación de las inferencias de dieta entre determinaciones a partir de ejemplares nativos o tratados para su descontaminación se realizó en función de las especies de coleópteros analizados. En una primera instancia se hizo una recopilación de las plantas hospederas encontradas en la bibliografía para cada una de las especies (o géneros) involucradas en este experimento. Así, en el caso de los individuos de *Ischnocodia annulus*, las inferencias de dieta obtenidas por técnicas moleculares convencionales se compararon con la información de la planta sobre la que fueron colectados y los registros bibliográficos.

En el caso de las especies de alticinos y *Physonota alutacea*, las inferencias de dieta fueron evaluadas estadísticamente para identificar si los métodos de laboratorio alternativos tenían algún efecto en las inferencias de dieta encontradas. Debido a que los datos no seguían una distribución normal, los test paramétricos no eran apropiados y se recurrió al análisis multivariante basado en permutaciones (Borcard *et al.* 2011), específicamente utilizando un análisis de Correspondencias Canónico (CCA; ter-Braak & Verdonschot, 1995). Se aplicó este análisis porque permite representar, en un espacio geométrico de pocas dimensiones, las relaciones existentes entre un conjunto de objetos. Estos objetos generalmente son dos matrices: una matriz de variables dependientes (o de respuesta) y una matriz de variables independientes (o explicativas), y a partir del análisis CCA se busca la relación de ambas matrices por medio de técnicas de regresión multivariante. En nuestro caso, se construyó una matriz de incidencia de dietas (según la familia botánica identificada en BAGpipe) para cada individuo estudiado; esta matriz fue la de respuesta. Adicionalmente se creó una matriz de variables explicativas, donde cada individuo se asoció a información del tipo de amplificación (directa o por medio de bandas), la clase de protocolo aplicado (convencional o alternativo) y la especie de crisomélido correspondiente. Utilizando ambas matrices, se aplicó CCA en el programa *vegan* (Oksanen *et al.* 2015a) de R. Para evaluar la significación del efecto de las variables explicativas se utilizó la función *anova* de *vegan* en los ejes CCA con 999 permutaciones.

### 3.4.3 Caracterización de las interacciones insecto-planta: los coleópteros de Nicaragua y sus plantas hospederas

La descripción de las interacciones entre alticinos, cassidinos, galerucinos e hispinos con sus respectivas plantas hospederas en el bosque seco, se realizaron a partir de la construcción de redes alimenticias bi-tróficas, donde cada miembro de un nivel trófico está conectado únicamente con miembros del otro nivel trófico (Dormann *et al.* 2008). Para generar las redes alimenticias, se crearon matrices de abundancia (como herramienta exploratoria de los datos, ya que somos conscientes de las limitaciones de nuestro muestreo) y matrices de incidencia para las cuatro localidades principales: Reserva Domitila, Reserva Miraflores-Moropotente, Reserva Natura y Finca Sierra Serena. En cada matriz las columnas representaron las especies del nivel trófico superior (coleópteros) y cada fila correspondió al nivel trófico inferior (especies de planta inferidas como dieta), y las interacciones se visualizaron usando la función *plotweb* del programa *bipartite* en R (Dormann *et al.* 2008). La estructura de las asociaciones tróficas insecto-planta se describió a partir de (i) índices basados en aspectos cualitativos de redes tróficas y, a modo exploratorio, de (ii) medidas cuantitativas de redes tróficas con la función *networklevel* del programa *bipartite*.

#### 3.4.3.1 Índices basados en redes tróficas cualitativas

Se calcularon varios índices y descriptores de redes basados en matrices binarias, incluyendo: (i) número de conexiones por especie ( $N_i$ ); (ii) conectancia ( $C_0$ ), que describe la estructura de la red según la proporción del número de conexiones observadas sobre el número de posibles conexiones, excluyendo interacciones dentro del mismo nivel trófico; (iii) módulos o compartimentos ( $M_0$ ), que describe el número de regiones que no están conectadas con ningún otro módulo; (iv) número promedio de hospederos compartidos ( $H_c$ ), que es una medida de semejanza de las preferencias en la selección de hospederos (Dormann *et al.* 2009); (v) robustez de la red ( $R_0$ ), una medida que indica en qué grado afecta la pérdida de especies a la topología de la red (Estrada 2007), y que puede medirse a partir de una eliminación aleatoria de especies (Burgos *et al.* 2007) o de manera ordenada, empezando por la extinción de las especies más generalistas (Memmott *et al.* 2004).

### 3.4.3.2 Índices basados en redes tróficas cuantitativas

Exploramos algunas medidas que requieren datos cuantitativos, únicamente para explorar el comportamiento de nuestros datos, a través de los siguientes índices cuantitativos que describen patrones de la comunidad según la abundancia de las interacciones: (i) generalidad compensada ( $G_c$ ), que se interpreta aquí como el número promedio de especies de plantas hospederas por especie de coleóptero (Bersier *et al.* 2002; Dormann *et al.* 2009); (ii) solapamiento de nicho ( $S_n$ ), que indica la similitud promedio en patrones de interacción entre especies del mismo nivel trófico (Horn 1966), reflejando fronteras de hábitat; y (iii) grado de especialización ( $E_s$ ), medida que describe la exclusividad de las interacciones (Dormann *et al.* 2009).

## 3.5 Correlaciones ecológicas

Un objetivo central en Ecología es explicar la distribución de las especies en términos de las variables ambientales que caracterizan un ecosistema determinado. Para este fin, existen algunos métodos estadísticos que permiten identificar las variables o los factores que presumiblemente actúan restringiendo a las especies a un lugar determinado (Legendre & Legendre 1988). Una forma de aproximar la cuestión de si existe estructura en la composición de especies de una región, que pueda asociarse a factores ambientales o de otro tipo, es a través del análisis de medidas de disimilitud para los diferentes factores de interés y que relacionen diferentes áreas en la región (Goslee 2010). Este tipo de matrices de distancia pueden representar variables de diferente escala y tipo: categóricas, de rango o intervalo, y pueden contener datos univariantes o multivariantes (Lichstein 2007).

### 3.5.1 Recopilación de variables explicativas

En nuestro caso, para identificar los potenciales factores y su influencia en la composición de las comunidades de Chrysomelidae en las cuatro localidades principales del estudio, consideramos varias variables: (i) la distancia (posición) geográfica entre localidades; (ii) la variación en la composición florística entre localidades medida a partir de su diversidad beta; así como (iii) algunos atributos abióticos y ecológicos que permiten caracterizar el ecosistema donde habitan los crisomélidos de bosque seco. Como procedimiento general para identificar el grado de influencia de estos factores que potencialmente influirían en las diferencias de la composición de las comunidades de Chrysomelidae, se realizó un análisis de correlación entre matrices de disimilitud, utilizando la diversidad beta de Sørensen, representando como distancias todos los factores considerados en este estudio. Dependiendo de la naturaleza de los datos, se aplicaron diferentes metodologías para la obtención de dichas matrices, las cuales se detallan a continuación.

#### 3.5.1.1 Distancias geográficas

Una predicción razonable y compatible con planteamientos neutralistas respecto al efecto de la distancia geográfica sobre la composición de las comunidades es que a mayores distancias las comunidades tiendan a ser

más diferentes. Sin embargo, los procesos espaciales no son independientes del ambiente, y dos sitios alejados pueden compartir especies en virtud de características ambientales que las seleccione; y, al revés, lugares geográficamente próximos pueden ser muy diferentes en la composición de sus floras y faunas dependiendo de distintos factores, típicamente ambientales (p. ej., gradientes climáticos relacionados con la elevación), pero también la existencia de barreras geográficas que limiten la dispersión. En todo caso, es legítimo preguntarse acerca del efecto de la separación geográfica sobre la composición de la biota de un conjunto de localidades. Así, con el fin de identificar si el efecto de la distancia geográfica es significativo en la composición de comunidades de crisomélidos así como su correlación con otros factores, se calculó una matriz de distancia geográfica entre cada par de localidades, utilizando el programa *Geographic Distance Matrix Generator* (v.1.2.3) (Ersts, P. J.). Este programa calcula la distancia entre dos puntos geográficos a partir de un listado de sitios georeferenciados, obteniendo la distancia lineal en grados geográficos sexagesimales.

### 3.5.1.2 Distancias florísticas: diversidad beta de la flora del bosque seco

Es inmediato pensar que las diferencias florísticas entre localidades podrían jugar un papel muy importante, determinando en buena medida la composición de las comunidades de herbívoros. Para identificar la relevancia de la composición vegetal respecto a la composición de las comunidades de crisomélidos de las cuatro localidades principales del estudio, se generaron matrices de disimilitud de flora de estas localidades. Para ello se recopilaron inventarios florísticos de estas localidades proporcionados por la Dra. Indiana Coronado, botánica del Jardín Botánico Ambiental de León (Nicaragua). Se crearon matrices binarias con estos datos a partir de las que se calcularon los correspondientes índices de disimilitud de Sørensen entre localidades utilizando el programa *betapart* en R.

### 3.5.1.3 Distancias ambientales: análisis de varianza de variables ambientales

El clima es uno de los principales factores que modelan un ecosistema determinado y su influencia afecta directamente a la capacidad de dispersión de distintos grupos taxonómicos (Araújo & Pearson 2005). Conocer el efecto de las variables climáticas y otras peculiaridades del

ambiente sobre las comunidades es crucial y relevante para comprender mejor la forma en que éstas se estructuran. Actualmente, existen metodologías que permiten extraer numerosas variables que definen un ambiente o una región de una forma sistemática y a partir de esos datos elaborar estrategias para su comparación. En este estudio estos datos ambientales se usaron para expresar el grado de diferencia ambiental entre localidades mediante matrices de disimilitud, de modo que una mayor “distancia ambiental” reflejaría mayores discrepancias en los factores ambientales considerados.

Para esta caracterización ambiental se recopilaron mapas públicos globales en formato *raster* o *shapefile* con información sobre altitud, condiciones abióticas (aridez ambiental, temperatura y precipitación) y funciones ecosistémicas (cobertura vegetal, evapotranspiración potencial y biomasa). En todos los casos, los mapas se visualizaron en QGIS (QGIS Development Team 2013) y, aplicando las herramientas de este programa, se delimitaron capas correspondientes a Nicaragua, extrayendo a partir de ellas los valores las variables ambientales en cada uno de los puntos de muestreo de las localidades de interés, para un total de 65 puntos con coordenadas. En la Tabla 3.5 se describe brevemente el tipo de información recopilada en cada capa, que de forma resumida consistió en 24 variables: 19 con datos climáticos de precipitación y temperatura, además de aridez ambiental, cobertura vegetal, evapotranspiración potencial, biomasa y altitud.

Si consideramos este conjunto de datos multivariantes como una colección de sitios posicionados en un espacio, donde cada variable define una dimensión, entonces inicialmente partimos de 24 dimensiones para interpretar la relación entre dichas variables. Para hacer posible la interpretación y ordenación de estos datos, a fin de identificar y medir los aspectos importantes del ecosistema, se recurrió a métodos estadísticos para la reducción de dimensionalidad (Zuur *et al.* 2007). En concreto, la ordenación de sitios de muestreo según sus condiciones ambientales se realizó mediante un análisis de componentes principales (PCA). El objetivo del PCA es ordenar un conjunto de datos a partir de las variables que los definen, según su varianza en múltiples dimensiones (o ejes). El método PCA trata de reducir esta dimensionalidad al máximo, idealmente proyectando los datos sobre pocos (dos o tres) componentes o ejes con significado, esto es, que recojan la mayor parte de la varianza de las variables que estos datos abarcan, siendo aconsejable que la varianza explicada por estos pocos ejes sea mayor al 80 % (Borcard *et al.* 2011).

Tabla 3.5. Descripción y origen de las variables ecológicas incluidas en la caracterización ambiental de las cuatro localidades estudiadas de bosque seco tropical.

Nombre	Descripción	Fuente	Unidad
BIOCLIM	19 variables bioclimáticas relacionadas a la precipitación y temperatura.	http://www.worldclim.org; Hijmans <i>et al.</i> , 2005)	Precipitación: mm; Temperatura: °C
Porcentaje de cobertura arbórea	Los datos muestran la proporción de área cubierta con ramas y hojas en los árboles, a partir de imágenes satelitales. Para las zonas de árboles caducifolios, los datos se calcularon a partir del periodo del año con mayor florecimiento.	ISCGM, 2008	Porcentaje (%)
DEM	Modelo de elevación digital del terreno	EROS Data Center, 2010	Altitud en metros sobre el nivel del mar
Evapotranspiración Media Anual	Datos de procesos de evapotranspiración y déficit de lluvia que afectarían el potencial crecimiento vegetal.	CGIAR-CSI, Trabucco, A., and Zomer, R.J. 2009	Milímetros/unidad de tiempo
Aridez Media Anual	Índice de aridez media anual, que muestra la humedad disponible para el potencial crecimiento vegetal.	CGIAR-CSI, Trabucco, A., and Zomer, R.J. 2009	Valores bajos indican menor humedad disponible
Productividad primaria neta	Cantidad de carbono atmosférico fijado en las plantas como biomasa.	UNEP, 2010	Kg-carbón por m <sup>2</sup> por año

El análisis de PCA sobre la matriz cuantitativa de las 24 variables se llevó a cabo mediante la función *rda* del programa *vegan* en R (Oksanen *et al.* 2015a). Utilizando la opción *scale=TRUE*, se eliminó la colinealidad entre las variables, especificando así que el cálculo de la varianza de los componentes se hiciera a partir de una matriz asociada de correlación, tras transformar y estandarizar las variables (media = 0; desviación estándar = 1) (Borcard *et al.* 2011). Esta estrategia evita utilizar la matriz de covarianza que está “distorsionada” por las diferentes escalas que aplican a los datos originales de las variables. De esta forma, se obtuvieron los ejes ortogonales (no correlacionados) que servirían para los siguientes análisis, en lugar de los valores originales de las variables. El número de componentes que explican al menos el 80 % de la varianza de los datos se obtuvo mediante la opción *summary* y se representó de forma gráfica con la función *erplot* de Borcard *et al.* (2011). Las gráficas bi-dimensionales de los ejes significativos se crearon con la función *biplot* y *scaling = 1*, para proyectar las coordenadas donde los eigenvectores estuvieran escalados a

una unidad de longitud y las distancias entre objetos en la gráfica representaran una aproximación de sus distancias euclidianas en el espacio multidimensional (Borcard *et al.* 2011).

Así, para obtener una medida de “distancias ambientales” entre pares de localidades, se usaron los eigenvalores obtenidos en los componentes significativos, para proyectar esos valores en una gráfica y calcular el centroide (punto medio) de la nube de puntos de cada localidad y determinar así la distancia eucliana existente entre cada par de localidades. La proyección de los eigenvalores se hizo con la función *ordiplot3d* de *vegan3d* (Oksanen *et al.* 2015b). La agrupación de valores por localidad se hizo con las funciones *hcclus* y *ward*, que minimizan el error de la varianza y producen resultados significativos a partir de cualquier tipo de distancias, sean euclidianas o no (Borcard *et al.* 2011). El cálculo de centroides para cada grupo se hizo mediante la función *colMeans* de R. Por último, la distancia entre centroides, nuestra versión de la “distancia ambiental” entre localidades, se calculó a través de la función *dist* (*method=“euclidean”*) de R.

### 3.5.2 Análisis multivariante de factores modeladores de biodiversidad

En nuestra aproximación a la evaluación de los factores condicionantes de diferencias en la estructura de la comunidad de crisomélidos del bosque seco tropical en Nicaragua ( $D_{insectos}$ ) [matriz de respuesta], exploramos la contribución o importancia relativa de la posición geográfica ( $D_{geografica}$ ), la composición florística ( $D_{floristica}$ ) y las características ambientales ( $D_{ambiental}$ ) [matrices explicativas]. Esta contribución se calculó a partir de un análisis de correlación multivariante sobre matrices de disimilitud generadas según los procedimientos descritos en el anterior apartado, utilizando el programa *ecodist* (Goslee & Urban 2007) en R. Para ejecutar estos análisis, se requiere que todas las variables consideradas estén en términos de la disimilitud entre objetos con las que plantear las hipótesis, esto es, (i) una matriz de disimilitud calculada a partir de datos de respuesta, y (ii) otras matrices que deben contener disimilitudes calculadas a partir de los datos explicativos (Goslee 2010). Así, cada matriz fue descompuesta en vectores representando las correspondientes distancias por pares y se aplicó la regresión contra el vector de la matriz de respuesta. Además del análisis de regresión múltiple con todos los datos, se plantearon varios escenarios

(modelos) para cuantificar el efecto ante la ausencia de una determinada variable, analizándose así: (i) un modelo general, donde estuvieron incluidas todas las matrices explicativas; y (ii) modelos anidados explicados exclusivamente por la interacción de dos de las variables explicativas (Figura 3.7). Debido a que los elementos de las matrices de distancia pudieran no ser independientes, el estudio de su significación fue aproximado mediante técnicas de pseudo-replicación, por medio de permutaciones, donde  $R^2$  se obtuvo como el valor promedio del coeficiente múltiple de correlación al cuadrado de  $n$  permutaciones (Manly 1986). Este coeficiente de correlación múltiple ( $R^2$ ) de Pearson se calculó con la función *MRM* de *ecodist* (Goslee & Urban 2007), el cual combina la correlación de Mantel y la regresión múltiple, permitiendo el análisis de regresión de dos o más matrices de disimilitud, e incorpora de forma explícita las distancias geográficas de los sitios de muestreo en los análisis. Debido a que la acumulación de variables explicativas incrementa la varianza explicada por correlaciones aleatorias, la  $R^2$  presenta sesgo, y para corregirla se aplicó un modelo lineal en todos los casos (Borcard *et al.* 2011). El valor de  $R^2$  puede oscilar entre 1 y 0, y los valores cercanos a 1 indican alta predicción de la variable dependiente a partir de las variables explicativas, mientras que valores próximos a 0 indican que el modelo lineal (con las variables utilizadas) no explica la variabilidad en la matriz de respuesta. La significación estadística del coeficiente de correlación múltiple se evaluó a través de 999 permutaciones.

De forma adicional, también se evaluó el *efecto puro* (efecto exclusivo de una variable sobre la matriz de respuesta) de los factores ambientales sobre las diferencias en la composición de especies de crisomélidos. Esto se hizo mediante un análisis de correspondencia canónica (CCA; ter Braak & Verdonschot, 1995) a partir de funciones de *vegan*. En primera instancia, las 24 variables fueron agrupadas en tres categorías: (i) atributos abióticos (precipitación, temperatura y aridez ambiental); (ii) atributos ecosistémicos (biomasa, evapotranspiración potencial e índice de cobertura vegetal); y (iii) altitud sobre el nivel del mar. Se analizó cada categoría por separado y la significación de los resultados se evaluó por medio de 999 permutaciones de los datos originales. Para facilitar la interpretación de las gráficas bi-dimensionales del CCA, se calculó el *círculo de equilibrio de descriptores* (Legendre & Legendre 1988), que permite evaluar la contribución de cada descriptor a la formación del espacio reducido, usando la función *cleanplot.pca* de Borcard *et al.* (2011). Según esta representación, las variables con vectores más largos que el radio del círculo tienen una contribución superior al promedio y pueden ser interpretadas como aquéllas que más aportan a la varianza de los datos (Borcard *et al.* 2011).

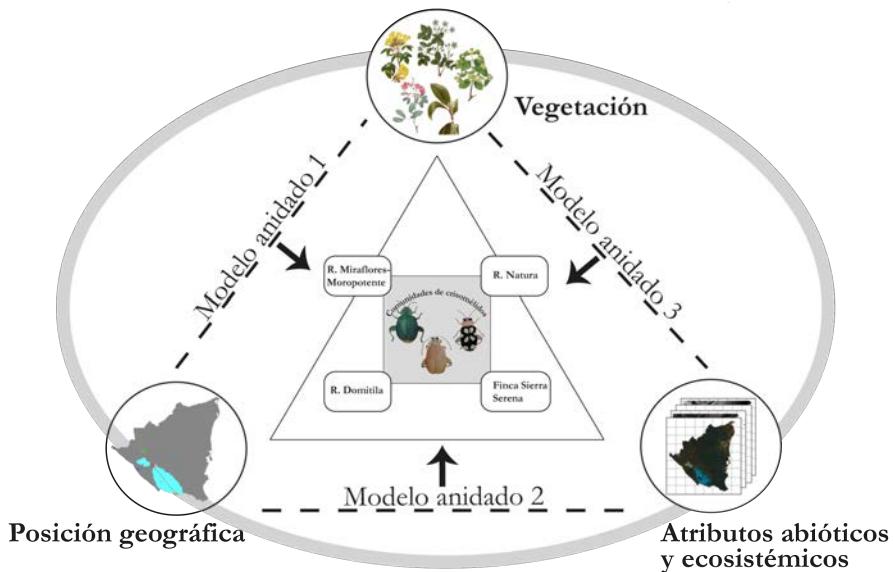


Figura 3.7. Diagrama de los condicionantes potenciales que servirían para explicar la composición de la comunidad de crisomélidos en cuatro localidades de bosque seco de Nicaragua. Se muestran cuatro hipótesis a testar: un modelo general, donde se incluyen todas las variables explicativas (elipse gris), y tres modelos anidados (líneas discontinuas).



# **RESULTADOS**



## 4.1. Morfoespecies de coleópteros

Tras la selección en el laboratorio de un ejemplar por morfoespecie y por unidad de muestreo para los análisis moleculares, en total se estudiaron 1.320 ejemplares pertenecientes a los dos grupos focales del estudio: Cassidinae y Galerucinae s. l. (Tabla 4.1). En el caso de Cassidinae se estudiaron 449 individuos que se separaron en 69 morfoespecies, tanto de cassidinos (38 morfoespecies) como de hispinos (31 morfoespecies). Para Galerucinae s. l., se analizaron 871 individuos de 182 morfoespecies: 112 alticinos y 70 galerucinos. En total, partimos de la hipótesis de 251 morfoespecies en nuestra muestra que, en algunos casos, pudieron asignarse a taxones concretos, bien a nivel genérico o de especie (Apéndice II): 27 morfoespecies de cassidinos, 17 de hispinos y 30 especies de alticinos. La gran mayoría de especies permanecen sin identificación, lo que da más valor a la disponibilidad del material de colección de referencia para su futura asignación taxonómica. En el Apéndice II, además de las morfoespecies encontradas, agrupadas por tribu, incluyendo su asignación taxonómica cuando fue posible identificarlas, se relacionan también la localidad y fecha de captura, genes amplificados, número de potenciales plantas hospederas recuperadas por métodos moleculares (ver apartado 4.5.1), y la inferencia taxonómica de dichas dietas (ver apartado 4.5.3).

## 4.2. Delimitación de especies de coleópteros utilizando herramientas moleculares

### 4.2.1 Matriz de secuencias mitocondriales y diversidad haplotípica

En el laboratorio, los 1.320 individuos fueron utilizados para amplificar la región mitocondrial *cox1*. Sin embargo, no todos los casos fueron exitosos, a pesar de varias modificaciones en el protocolo de amplificación de ADN. Como resultado, se obtuvo información para el 88,9 % de los individuos, esto es, 1.174 secuencias mitocondriales: 392 pertenecientes a cassidinos e hispinos y 792 a alticinos y galerucinos. La Tabla 4.1 muestra el número de individuos (n), el número de morfoespecies implicadas, la cantidad de secuencias y de haplotipos obtenidas para cada subfamilia y grupo de especies.

Tabla 4.1 Número de individuos, morfoespecies, y secuencias mitocondriales obtenidas, según la subfamilia y grupo de especies.

Subfamilia	Grupo	n	Morfoespecies	Morfoespecies sin <i>cox1</i>	Individuos con secuencia	Haplótipos ( <i>cox1</i> )
					<i>cox1</i>	
Cassidinae		449	69	3	392	190
	cassidinos	323	38	1	289	123
	hispinos	126	31	2	103	67
Galerucinae s.l.		871	182	17	782	554
	alticinos	589	112	6	535	367
	galerucinos	282	70	11	247	187
Total		1.320	251	20	1.174	744

Los fragmentos amplificados de *cox1* no fueron del mismo tamaño. Aunque el alineamiento general de los 744 haplotipos estuvo compuesto por 833 posiciones, se obtuvieron 830 pares de bases (pb) en alticinos y galerucinos, 833 pb en cassidinos y 831 pb en hispinos. Las frecuencias nucleotídicas fueron similares entre grupos (Figura 4.1), con la riqueza en AT esperada según otros estudios (71,2 %). El alineamiento de estas secuencias mostró un 59,4 % de posiciones variables, un 57,8 % de las cuales eran informativas.

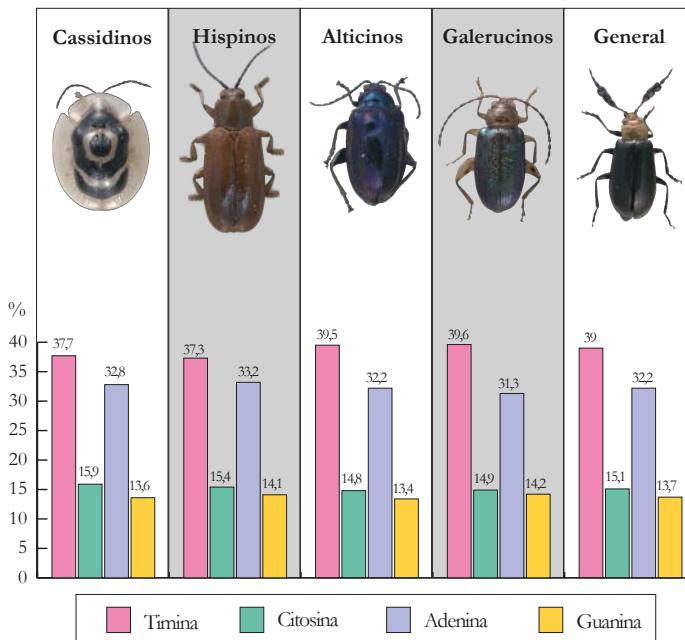


Figura 4.1 Frecuencias nucleotídicas observadas para cada grupo, así como de forma general para los 744 haplotipos de los cuatro grupos estudiados.

La diferencia promedio entre secuencias de una misma especie (distancia-p, no corregida) considerando la delimitación inicial de morfoespecies fue de  $p = 0,165$ , con la máxima divergencia observada en el caso de los hispinos (0,173) y la mínima en el grupo de los galerucinos (0,154) (Figura 4.2). Las distancias genéticas interespecíficas entre cassidinos e hispinos fueron menores, en general, que en el caso de Galerucinae s. l., y las mayores divergencias se encontraron entre especies de alticinos e hispinos (0,231) (Tabla 4.2).

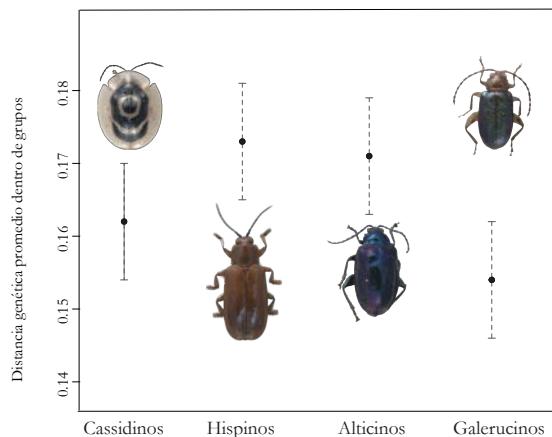


Figura 4.2 Divergencia intraespecífica promedio (puntos) de las especies de alticinos, cassidinos, hispinos y galerucinos. El error estándar (líneas discontinuas) está calculado a partir de 100 pseudo-réplicas. Los valores están calculados según la distancia genética por pares no corregida.

Tabla 4.2 Distancias genéticas interespecíficas no corregidas por pares, calculadas a partir de un total de 744 haplotipos de *cpx1*. Los valores de error estándar (en la parte superior de la matriz) están calculados a partir de 100 pseudo-réplicas.

	Hispinos	Cassidinos	Galerucinos	Alticinos
Hispinos		0,008	0,010	0,009
Cassidinos	0,191		0,010	0,010
Galerucinos	0,230	0,228		0,008
Alticinos	<b>0,231</b>	0,228	0,181	

#### 4.2.2 Delimitación de especies basada en árboles

Los análisis para la delimitación molecular de especies se realizaron únicamente con los haplotipos, analizando cada subfamilia por separado, y los individuos fueron restituidos a su especie molecular *a posteriori* a partir

de la información de secuencias compartidas. Para el 11 % de los individuos no se consiguió amplificar el fragmento *cox1*, representando un total de 20 morfoespecies para las que no dispusimos de secuencias mitocondriales (Tabla 4.1; Apéndice II).

#### 4.2.2.1 Cassidinos e hispinos

A pesar de que la filogenia para cassidinos e hispinos deriva de un único marcador de evolución rápida, el árbol obtenido retuvo cierta estructura compatible con lo esperado según la sistemática actual del grupo, con la mayoría de hispinos y de cassidinos agrupados en sendos clados. Los análisis de máxima verosimilitud e inferencia bayesiana a partir de las matrices de haplotipos de *cox1* infirieron relaciones internas muy parecidas en cada grupo, con variaciones ligeras en las topologías, independientemente de la estrategia utilizada (Figura 4.3; Apéndice III).

La Tabla 4.3 muestra los resultados de los diferentes procedimientos de delimitación de especies aplicados a los datos de *cox1* de Cassidinae. El número de entidades moleculares o especies inferidas a partir de las diferentes topologías y procedimientos analíticos ensayados osciló entre 71 (GMYC a partir del árbol ML linealizado con PATHd8) y 78 (GMYC a partir del mismo árbol ML, pero linealizado con r8s), con intervalos de confianza en un rango de 69 a 85, dependiendo del análisis (Tabla 4.3). Así, las estimas de GMYC (71-78) y PTP (74-75) fueron altamente congruentes. Los árboles obtenidos a partir de modelos evolutivos propios de las posiciones de codón produjeron estimas de número de especies ligeramente más conservativas (71-76 especies), excepto en el caso de bPTP, que las obtenidas con un único modelo de sustitución para todas las posiciones del alineamiento (74-78 especies). Aunque el número de unidades inferidas fue muy parecido entre las aproximaciones usadas, las especies concretas no siempre coincidieron (Figura 4.3). En esta subfamilia, el número de *singletons* inferidos difirió según el método aplicado (Tabla 4.3). Las inferencias más conservadoras se obtuvieron al linealizar el árbol de Máxima Verosimilitud con PATHd8 (27 %), mientras que haplotipos únicos fueron separados en un mayor número de especies al utilizar el mismo árbol con r8s (36 %). En conjunto, 16 especies putativas de Cassidinae fueron inferidas a partir de un único haplotipo, en completo consenso entre morfología y todos los métodos de delimitación aplicados (Figura 4.3).

---

Resultados

---

Tabla 4.3 Comparación de resultados de los análisis GMYC y bPTP/PTP con los diferentes métodos de delimitación de especies basados en árboles de genes para la subfamilia Cassidinae. Para cada método se detalla número de linajes evolutivos independientes ( $N_{lei}$ ), el número de linajes con más de un haplotipo ( $N_g$ ), incluyendo sus respectivos intervalos de confianza (IC), y el porcentaje de *singletons* (especie de un único haplotipo) inferidos. Además se detallan los valores de verosimilitud del modelo nulo ( $V_0$ ) (evento único de coalescencia en todo el árbol), y verosimilitud del modelo GMYC con umbral simple ( $V_{GMYC}$ ). La significación de la razón de verosimilitud (RV) fue evaluada usando una prueba de chi-cuadrado con tres grados de libertad, que comparó el modelo nulo y el modelo GMYC tal como está implementado en el programa SPplits (\*,  $P < 0,001$ ).

Árbol	Criterio	$N_{lei}$	IC <sub>lei</sub>	% <i>singletons</i>	$N_g$	IC <sub>g</sub>	$V_0$	$V_{GMYC}$	RV	Aciertos con mspp.
BEAST	NP	75	73-78	28	41	40-42	1.161,88	1.244,50	165,24*	57
	P	75	72-77	28	39	39-41	1.389,99	1.524,61	269,23*	57
RAxML + d8	NP	76	72-78	29	39	37-40	143,89	345,88	403,99*	59
	P	71	69-72	27	39	39-39	219,59	579,51	719,84*	60
RAxML + r8s	NP	78	77-78	36	36	36-37	57,39	268,37	421,95*	58
	P	76	75-76	33	38	38-39	129,86	441,29	622,87*	57
RAxML + treePL	NP	76	74-78	32	39	37-40	8,65	189,87	362,45*	59
	P	76	76-77	30	39	38-39	91,22	365,46	548,48*	58
bPTP	NP	74	73-85	31	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	60
	P	75	73-85	33	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	58
PTP	NP	74	s/d	31	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	60
	P	75	s/d	33	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	58

NP = No particionado

P = Particionado

n/a = no aplica

En la Figura 4.3 se muestra el árbol filogenético inferido mediante Máxima Verosimilitud (datos sin particionar), a fin de mostrar las relaciones entre secuencias de *cox1* sin distorsionar la longitud de sus ramas, y los resultados de la inferencia de especies con cada uno de los métodos y estrategias de delimitación de especies aplicados.

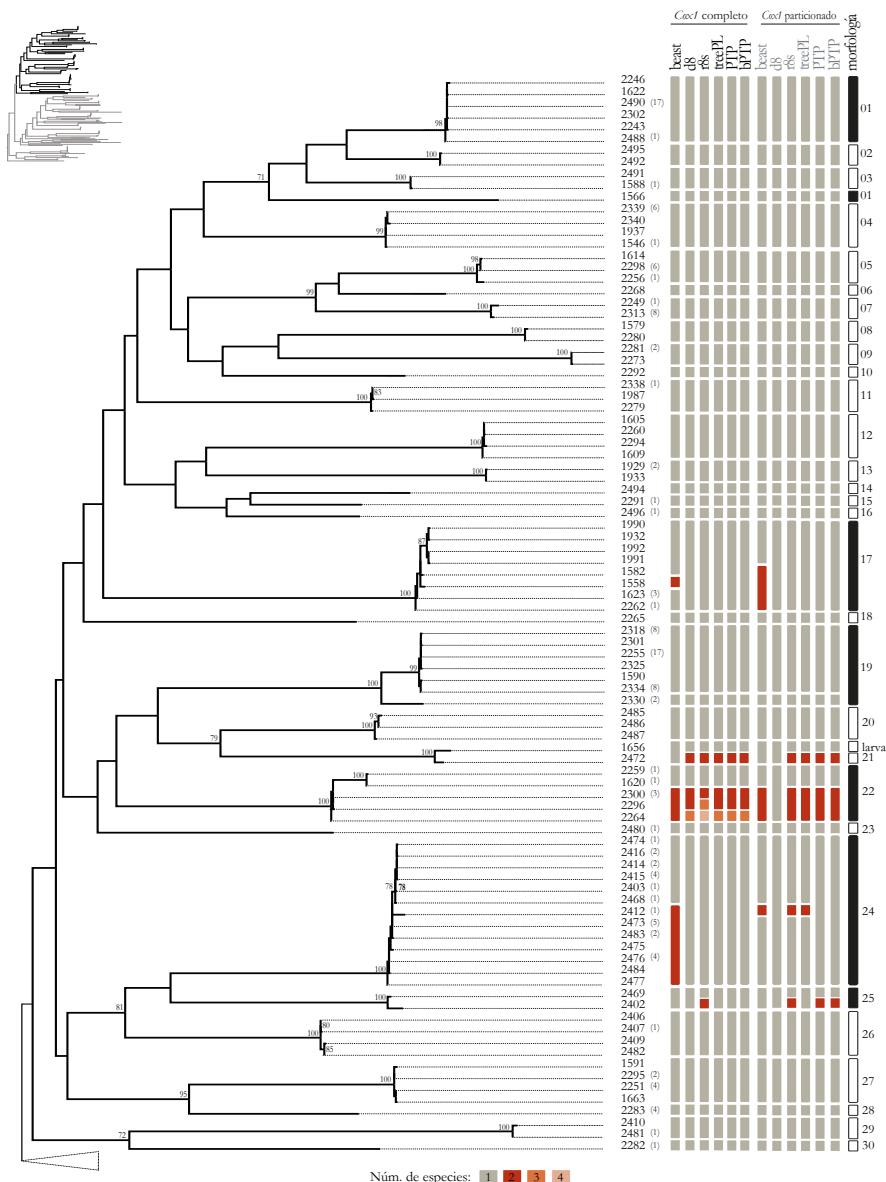
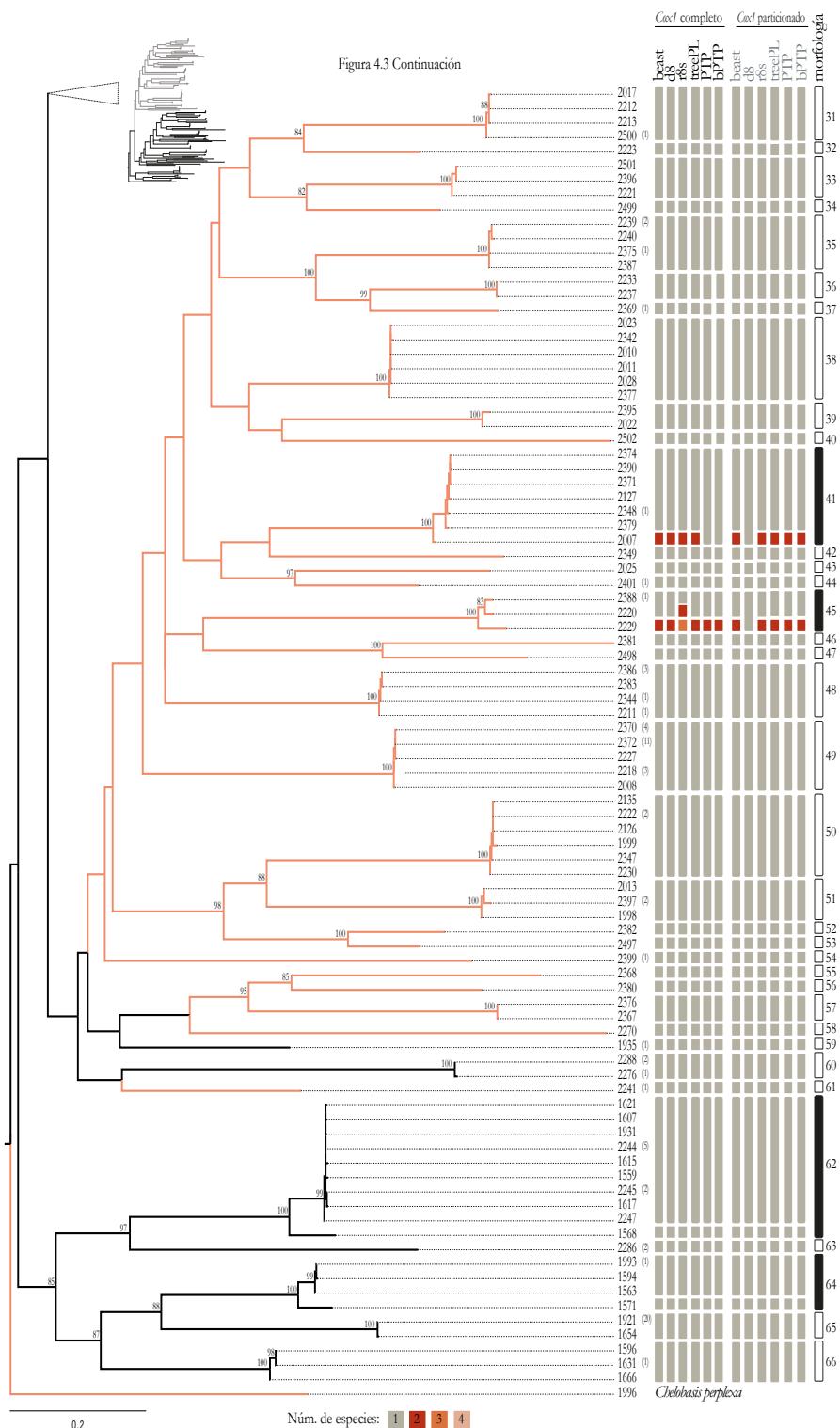


Figura 4.3 Delimitación de especies en la muestra de Cassidinae del bosque seco de Nicaragua, e inferidas a partir del gen mitocondrial *cox1*. En el árbol de Máxima Verosimilitud, se indican los valores de *bootstrap* mayores al 70 % obtenidos con RAxML. Las ramas pertenecientes a cassidinos se muestran en negro y las de hispíños en naranja. Los terminales corresponden a haplotipos, y entre paréntesis se indica el número de individuos que comparten ese haplotipo. Las columnas representan los resultados de delimitación de especies según cada método y tipo de datos, y la de la derecha la agrupación de los individuos por morfoespecie, mostrándose en negro aquellos casos en que hay diferencias entre hipótesis morfológica e inferencia molecular. En el caso de discrepancias, siempre por subdivisiones de una única morfoespecie, las entidades moleculares se muestran en diferentes colores cuando hay diferencias entre métodos.

## Resultados



En general, todos los métodos de delimitación de especies infirieron resultados muy parecidos, y la proporción de especies moleculares que coinciden con las 69 morfospécies de Cassidinae osciló entre 83-87 % (Tabla 4.3; Figura 4.3). Específicamente, encontramos incongruencias entre morfoespecies y especies inferidas a partir de *cox1* en diez casos (Tabla 4.4), correspondientes a ocho morfoespecies de cassidinos: morfoespecies 1 (*Charidotella sexpunctata*), 17 (*Agroiconota propinquua*), 19 (*Ischnocodia annulus*), 22, 24 (*Physonota alutacea*), 25 (*Physonota sp.*), 62 (*Delytala fuliginosa*), y 64 (*Helocassis clavata*); y dos de hispinos: morfoespecies 41 y 45 (*Ochthispa elevata*). Estas incongruencias se debieron a la detección de más especies moleculares que morfoespecies, y en varios casos por la presencia de un haplotipo divergente que determinó la delimitación de dos entidades para un mismo morfotipo (morfoespecies 1, 19, 62 y 64). Es importante destacar que en el caso de la morfoespecie 1 (*Charidotella sexpunctata*), además de encontrarse dos entidades moleculares, éstas podrían no ser monofiléticas (Figura 4.3). El caso con mayor número de potenciales especies moleculares corresponde a la morfoespecie 22, para la cual todos los métodos arrojaron resultados diferentes (excepto BEAST que identificó dos potenciales especies), independientemente de la estrategia aplicada. Por ejemplo, con el método r8s se delimitaron cuatro especies diferentes al analizar *cox1* sin particiones, y dos especies al analizar *cox1* con partición por codones (Figura 4.3).

En pocos casos—concretamente las morfoespecies 22, 41 y 45—se pudo verificar un patrón en el que individuos con haplotipos divergentes correspondían además a poblaciones segregadas geográficamente del resto (Tabla 4.4). En el caso mencionado de la morfoespecie 22, la mayoría de métodos moleculares infirieron dos o más especies, separando a los individuos colectados en la zona centro del país (Reserva Naura y Reserva Domitila) de los capturados en el sur (Reserva Escamequita y Finca Sierra Serena). La separación en dos especies de las morfoespecies 41 y *Ochthispa elevata* (morfoespecie 45) también podrían explicarse por su ubicación geográfica, ya que los individuos más divergentes fueron colectados al norte del país, en la Reserva Miraflores-Moropotente, mientras que el resto de especímenes provenían del centro y sur.

Tabla 4.4 Incongruencia entre morfoespecies de cassidinos e hispinos y entidades moleculares delimitadas a partir de haplotipos de *cox1* con los métodos GMYC y PTP/bPTP.

Grupo	Morfo-especie	Taxon	Entidades según GMYC y PTP/bPTP	Núm. ind.	Núm. loc.	Alopatría
cassidinos	1	<i>Charidotella sexpunctata</i>	2	25	7	No
	17	<i>Agroiconota propinqua</i>	1-2	12	4	No
	19	<i>Ischnocodia annulus</i>	2	42	6	No
	22		1-4	10	4	Sí
	24	<i>Physonota alutacea</i>	1-2	45	4	No
	25	<i>Physonota sp.</i>	1-2	2	1	No
	62	<i>Delytala fuliginosa</i>	2	16	4	No
	64	<i>Helocassis clavata</i>	2	5	3	No
hispinos	41		1-2	8	5	Sí
	45	<i>Ochthispa elevata</i>	1-3	4	4	Sí

Adicionalmente, encontramos un caso, el de la morfoespecie 21, en que no fue posible identificar el tipo de incongruencia pues mientras que un individuo era adulto y pudo identificarse como *Coptocycla leprosa*, el otro era una larva y no pudo asignarse a ninguna morfoespecie.

#### 4.2.2.2 Alticinos y galerucinos

En el caso de Galerucinae s. l., también se obtuvieron relaciones muy parecidas a partir de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana (Figura 4.4; Apéndice III). La morfoespecie 107 (galerucino), en función del método de inferencia, se recuperó bien dentro o bien fuera del grupo de los alticinos, mientras que la morfoespecie 55 (alticino) fue recuperada próxima a los galerucinos (Apéndice III). Globalmente, el número de entidades evolutivas independientes obtenidas tanto con GMYC como con PTP/bPTP varió entre 179 y 190 (Tabla 4.5), con intervalos de confianza en un rango de 176 a 209. Considerando únicamente los resultados obtenidos a partir de árboles con la estrategia del modelo evolutivo único para todas las posiciones de *cox1*, las especies estimadas variaron entre 179 (GMYC sobre el árbol ML linealizado con PATHd8) y 190 (GMYC sobre el mismo árbol linealizado con r8s). Los resultados obtenidos a partir de árboles inferidos con modelos de substitución específicos de codón fueron muy similares, con estimas que oscilaron entre 184 (PATHd8/bPTP) y 189 (BEAST). Como en el caso de Cassidinae, aunque los diferentes métodos infirieron el mismo o un número de especies muy parecido, sí hubo algunas diferencias en las

especies concretas que se delimitaron. Pero, en general, las diferencias fueron mínimas y se obtuvo una buena congruencia con las hipótesis basadas en morfoespecies (Tabla 4.5). Para esta subfamilia también se observaron diferencias sobre el número de *singletons* inferidos según el método aplicado. Se obtuvo un menor número de *singletons* cuando se aplicó GMYC al árbol ultramétrico de inferencia bayesiana y al árbol de Máxima Verosimilitud linealizado con PATHd8 (42 %), mientras que el mayor número de *singletons* se obtuvieron con PTP (46 %) (Tabla 4.5). En total, 62 especies putativas de Galerucinae s. l. fueron inferidas a partir de un único haplotipo, en completo consenso entre morfología y todos los métodos de delimitación aplicados (Figura 4.4).

Tabla 4.5 Comparación de resultados de los análisis GMYC y bPTP/PTP con los diferentes métodos de delimitación de especies basados en árboles de genes para la subfamilia Galerucinae s. l. Para cada método se detalla el número de linajes evolutivos independientes ( $N_{lei}$ ), el número de linajes con más de un haplotipo ( $N_g$ ), incluyendo sus respectivos intervalos de confianza (IC), y el porcentaje de *singletons* (especie de un único haplotipo) inferidos. Además, se detallan los valores de verosimilitud del modelo nulo ( $V_o$ ) (evento único de coalescencia en todo el árbol), y verosimilitud del modelo GMYC con umbral simple ( $V_{GMYC}$ ). La significación de la razón de verosimilitud (RV) fue evaluada usando una prueba de chi-cuadrado con tres grados de libertad, que comparó el modelo nulo y el modelo GMYC tal como está implementado en el programa SPLITS (\*,  $P < 0,001$ ).

Árbol	Criterio	$N_{lei}$	IC <sub>lei</sub>	% <i>singletons</i>	$N_g$	IC <sub>g</sub>	$V_o$	$V_{GMYC}$	Aciertos	
									RV	con mspp.
BEAST	NP	187	176-200	42	101	95-108	3.451,59	3.577,37	251,56*	142
	P	189	177-193	43	104	97-104	3.170,95	3.304,26	266,60*	142
RAxML + d8	NP	179	176-183	42	93	92-94	1.039,41	1.332,52	586,22*	155
	P	184	181-186	43	95	93-95	1.209,72	1.664,86	910,27*	149
RAxML + r8s	NP	190	183-196	44	98	95-99	675,82	916,55	481,45*	147
	P	186	181-188	45	94	94-95	932,99	1.404,49	942,99*	154
RAxML + treePL	NP	186	181-190	44	94	92-96	770,63	1.057,32	573,37*	149
	P	186	177-188	44	93	93-95	943,03	1.417,69	949,32*	149
bPTP	NP	188	184-209	45	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	148
	P	184	184-204	45	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	149
PTP	NP	186	n/a	46	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	146
	P	185	n/a	46	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	148

NP = No particionado

P = Particionado

n/a = no aplica

## Resultados

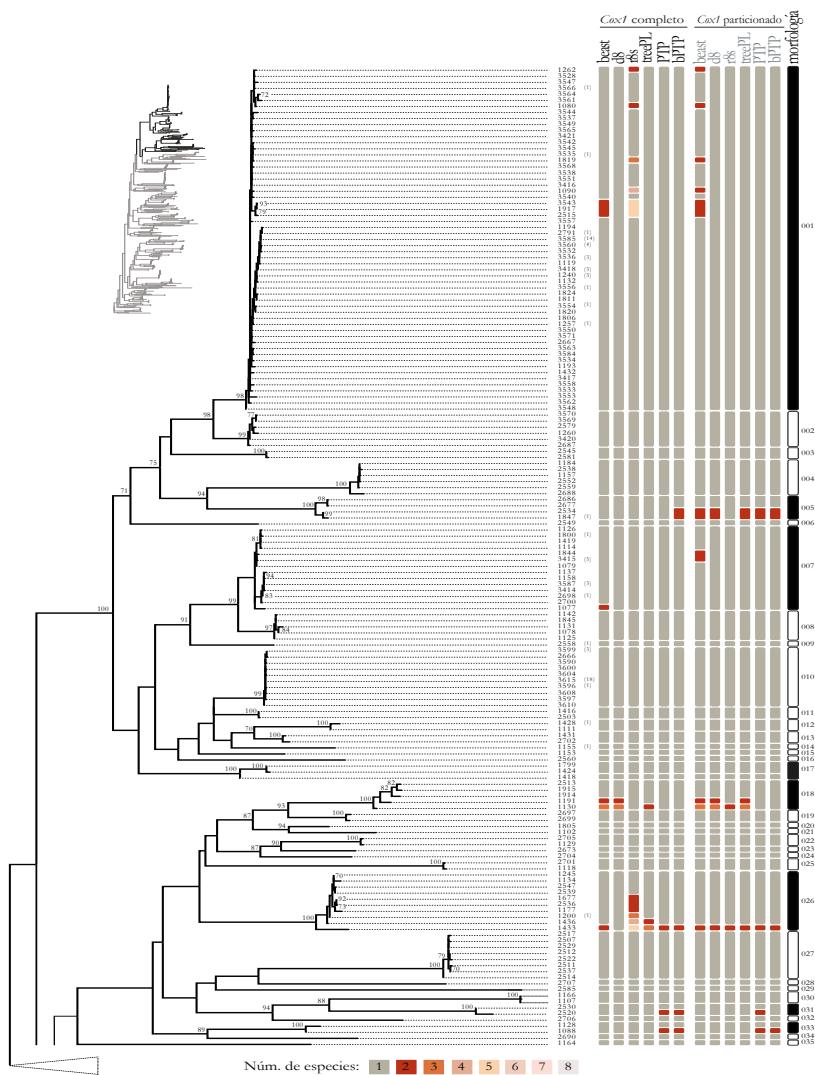
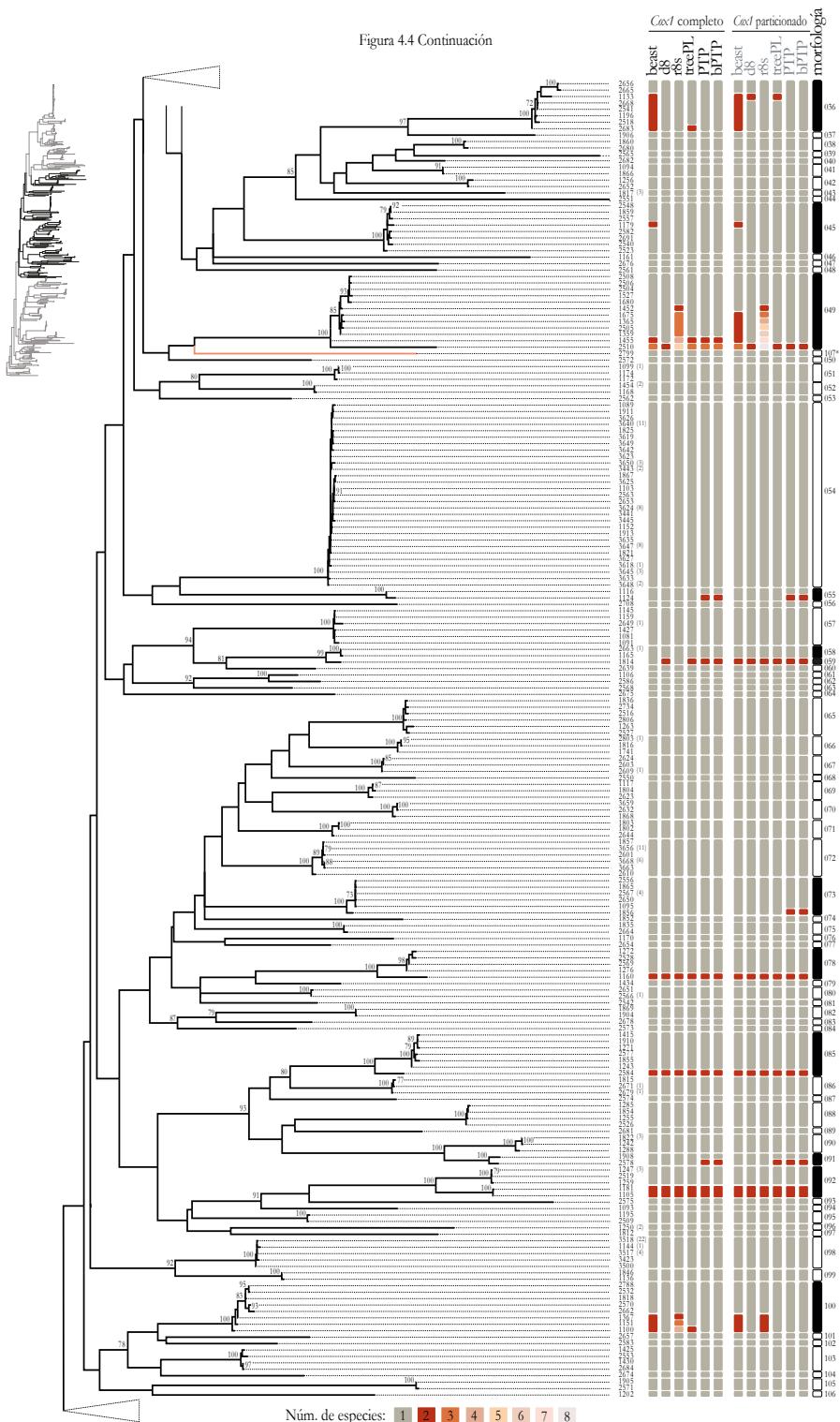


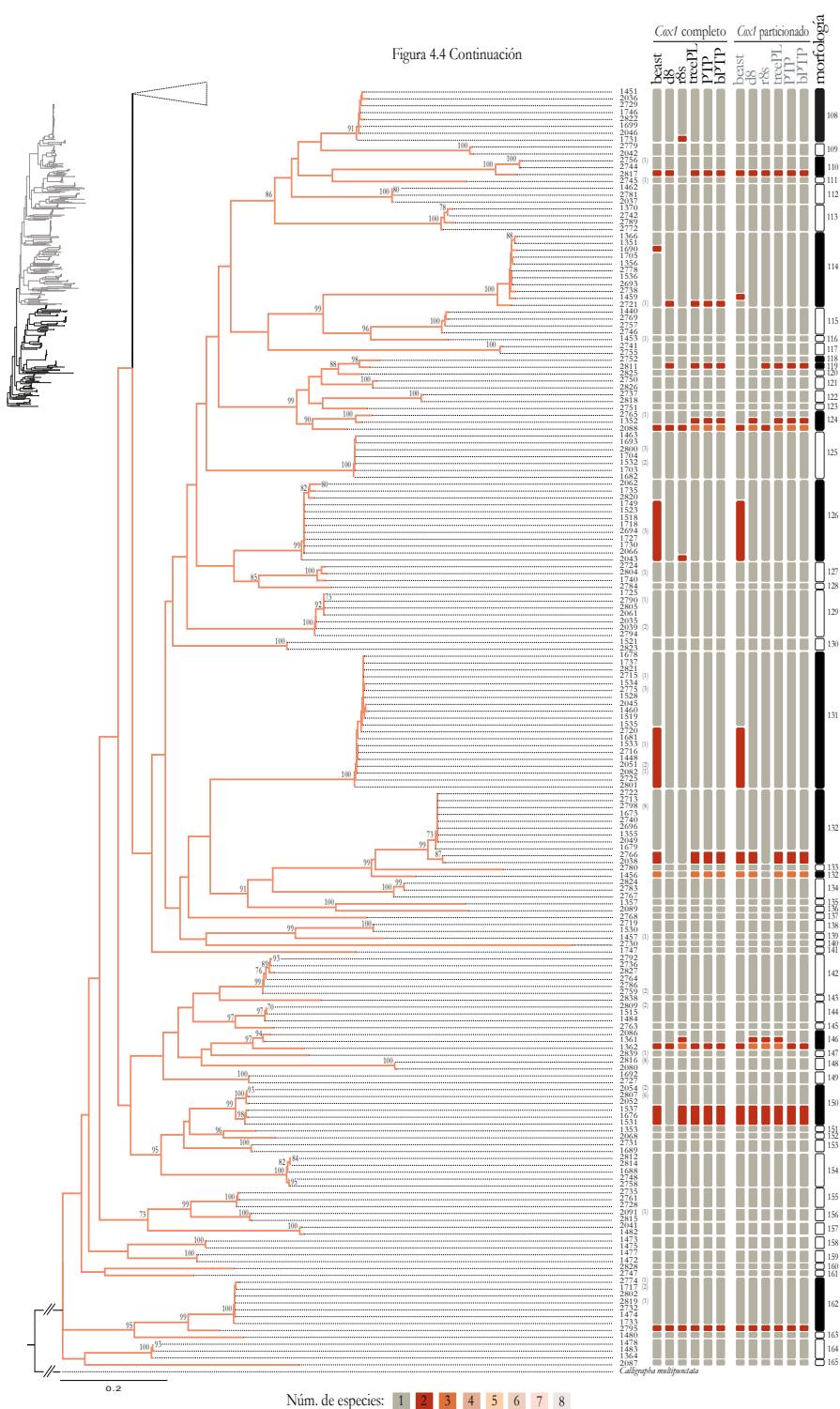
Figura 4.4 Delimitación de especies en la muestra de Galerucinae s. l. del bosque seco de Nicaragua, e inferidas a partir del gen mitocondrial *cox1*. En el árbol de Máxima Verosimilitud, se indican los valores de *bootstrap* mayores al 70 % obtenidos con RAxML. Las ramas pertenecientes a alticinos se muestran en negro y las de galerucinos en naranja. Los terminales corresponden a haplotipos, y entre paréntesis se indica el número de individuos que comparten ese haplotipo. Las columnas representan los resultados de delimitación de especies según cada método y tipo de datos, y la de la derecha, la agrupación de los individuos por morfoespecie, mostrándose en negro aquellos casos en los que hay diferencias entre hipótesis morfológica e inferencia molecular. En el caso de discrepancias, siempre por subdivisiones de una única morfoespecie, las entidades moleculares se muestran en diferentes colores cuando hay diferencias entre métodos. La doble barra en la raíz del árbol indica que se redujo la longitud de su rama y no es proporcional a la escala.

Figura 4.4 Continuación



## Resultados

Figura 4.4 Continuación



En la Figura 4.4 se muestran las relaciones filogenéticas entre haplotipos de *cox1* y los resultados de la delimitación de especies de Galerucinae s. l. al aplicar los distintos métodos basados en datos moleculares. En general, todos los métodos de delimitación de especies infirieron resultados similares, y la proporción de especies moleculares que coincidieron con las 165 morfoespecies de Galerucinae s. l. osciló entre 86-93 % (Tabla 4.5; Figura 4.4). Las incongruencias entre datos morfológicos y moleculares (Tabla 4.6) afectaron a 20 morfoespecies de alticinos: 1 (*Walterianella venustula*), 5 (*Walterianella signata*), 7 (*Alagoasa decemguttata*), 17 (*Disonycha sp. 1*), 18 (*Disonycha sp. 2*), 26 (*Disonycha sp. 10*), 31, 33, 36 (*Heikertingerella sp. 1*), 45, 49, 55, 58, 59, 73, 78, 85, 91, 92, y 100; y doce de galerucinos: 108, 110, 114, 118, 119, 124, 126, 131, 132, 146, 150, y 162.

Estas incongruencias (Tabla 4.6), se debieron en su mayoría a que los métodos basados en los árboles de *cox1* detectaron en general más especies que las hipótesis basadas en morfología, y en la mayoría de los casos, dicha separación se produjo debido a la existencia de un haplotipo divergente (Figura 4.4), como sucedió por ejemplo en el caso de las morfoespecies 17 (*Disonycha sp. 1*), 26 (*Disonycha sp. 10*), 49, 114, 132, 146 y 150. En este grupo, se encontró además la morfoespecie 49, para la cual se obtuvo el mayor número de especies moleculares inferidas: dependiendo del método aplicado se detectaron entre dos (PATHd8/treePL/PTP/bPTP) y ocho (r8s) especies (Figura 4.4). En dos casos, se obtuvieron resultados opuestos al habitual: una única entidad delimitada a partir de los datos moleculares incluía ejemplares que, por diferencias anatómicas, habían sido separados en dos morfoespecies (morfoespecies 58 y 59 en alticinos, y 118 y 119 en galerucinos; Tabla 4.6).

Como ocurría en el caso de los cassidinos, algunas subdivisiones genéticas de las morfoespecies fueron consistentes con la segregación geográfica de las muestras, lo que podría reflejar estructura genética de las poblaciones de la morfoespecie. Así, los alticinos de las morfoespecies 5 (*Walterianella signata*), 18 (*Disonycha sp. 2*) y 78, y los galerucinos de las morfoespecies 110, 146 y 150 fueron separados por la mayoría de métodos moleculares en dos o más especies, una para los individuos colectados en la zona montañosa al norte del país (Reserva Miraflores-Moropotente o La Paz), y otra en el resto de localidades, más meridionales y de escasa elevación (Jardín Botánico, Reserva Natura, Reserva Domitila o Finca Sierra Serena). De forma similar, la morfoespecie 92 fue separada por cualquiera de los métodos de delimitación en un grupo de individuos colectados al sur del país (F. Sierra Serena) y otro en la zona central (Reservas Natura y Domitila).

Resultados

Tabla 4.6 Incongruencia entre morfoespecies de alticinos y galerucinos y entidades moleculares delimitadas a partir de haplotipos de *cox1* con los métodos GMYC y PTP/bPTP.

Grupo	Morfoespecie	Taxon	Entidades GMYC y PTP/bPTP	Núm. ind.	Núm. loc.	Alopatría
alticinos	1	<i>Walterianella venustula</i>	1-5	82	7	No
	5	<i>Walterianella signata</i>	1-2	5	3	Sí
	7	<i>Alagoasa decemguttata</i>	1-2	24	3	No
	17	<i>Disonycha sp. 1</i>	2	3	1	No
	18	<i>Disonycha sp. 2</i>	1-3	5	3	Sí
	26	<i>Disonycha sp. 10</i>	1-5	11	4	No
	31		1-2	2	1	No
	33		1-2	2	1	No
	36	<i>Heikertingerella sp. 1</i>	1-2	8	6	No
	45		1-2	8	3	No
	49		2-8	12	2	No
	55		1-2	2	2	No
	58+59		1-2	4	4	Sí
	73		1-2	10	2	No
	78		2	5	4	Sí
	85		2	7	5	No
	91		1-2	2	2	No
	92		2	8	3	Sí
	100		1-4	8	4	No
galerucinos	108		1-2	8	4	No
	110		1-2	4	2	Sí
	114		1-2	12	5	No
	118+119		1-2	2	2	Sí
	124		1-3	4	1	No
	126		1-2	15	2	No
	131		1-2	28	6	No
	132		1-3	20	6	No
	146		1-3	3	3	Sí
	150		1-2	14	2	Sí
	162		2	12	3	No

Considerando que no existieron diferencias substanciales entre métodos aplicados ni para Cassidinae ni para Galerucinae s. l., todos los análisis posteriores se realizaron a partir de la hipótesis de especies obtenidas a partir de inferencia bayesiana. Se prefirió el árbol consenso de BEAST,

porque esta opción es la más diferente a la hipótesis de morfoespecies, permitiéndonos explorar el efecto de estas diferencias entre criterios de distinción de especies en los análisis posteriores, considerando que las diferencias entre especies inferidas no son grandes. Debido a que no existieron tampoco mayores diferencias entre la estrategia de particiones y sin particionar, se usaron los resultados de esta última estrategia, porque tiene menos parámetros, lo que disminuye la varianza en las estimas por sobre-parametrización.

### 4.3 Riqueza de especies de Chrysomelidae en el bosque seco

Para evaluar la eficiencia y exhaustividad de nuestros muestreos se analizó la riqueza esperada de especies en nuestros muestreos usando curvas de rarefacción, basadas en datos de incidencia, así como estimas basadas en estimadores de riqueza de especies no paramétricos, también basados en incidencia. Los análisis de rarefacción en cada una de las áreas muestreadas mostraron claramente que en ningún caso se alcanzó la asintota (Figura 4.5), esto es, que el esfuerzo de muestreo no describió la diversidad total en estas áreas. La riqueza de especies de las comunidades estudiadas, por localidad y en el conjunto de nuestra representación de bosque seco en Nicaragua, y según todos los estimadores usados se muestra en la Tabla 4.7.

En la Reserva Miraflores, considerando las características morfológicas de 448 individuos se registraron 128 morfoespecies, y la estima basada en datos moleculares osciló entre 123 y 128 especies. Al menos el 58 % de estas especies se registraron una única vez en todo el muestreo. Considerando los índices no paramétricos de estimación de riqueza de especies y el análisis de rarefacción, en esta localidad se habría muestreado entre el 48 (ICE) y el 65 % (Jackknife 1) de las especies (Tabla 4.7; Figura 4.5A). Los 205 individuos capturados en Reserva Natura fueron clasificados en 60 morfoespecies y, considerando los datos moleculares, el número de especies ascendió a 63 especies. Al menos un 42 % de estas especies fueron registradas una sola vez en todo el muestreo, y según los estimadores de riqueza, se habría muestreado entre el 63 (Jackknife 2) y el 79 % (Chao 2) de las especies (Tabla 4.7; Figura 4.5B). En la Reserva Domitila, 147 individuos fueron asignados a 49 morfoespecies o 52 según métodos moleculares, y al menos un 63 % de estas especies fueron registradas una única vez en todo el muestreo. Las estimas de riqueza indican que en esta localidad se capturó entre un 43 (ICE) y un 68 % (rarefacción y Chao 2) de las especies (Tabla 4.7; Figura 4.5C). En la Finca Sierra Serena, se encontraron 330 individuos que fueron separados en 131 morfoespecies o entre 132 y 137 según los datos moleculares. Al menos el 55 % de estas especies fueron registradas en esta localidad una sola vez en todo el muestreo, y de acuerdo con los estimadores, en esta localidad se habría muestreado entre el 50 (ICE) y el 68 % (rarefacción) de las especies (Tabla 4.7; Figura 4.5D).

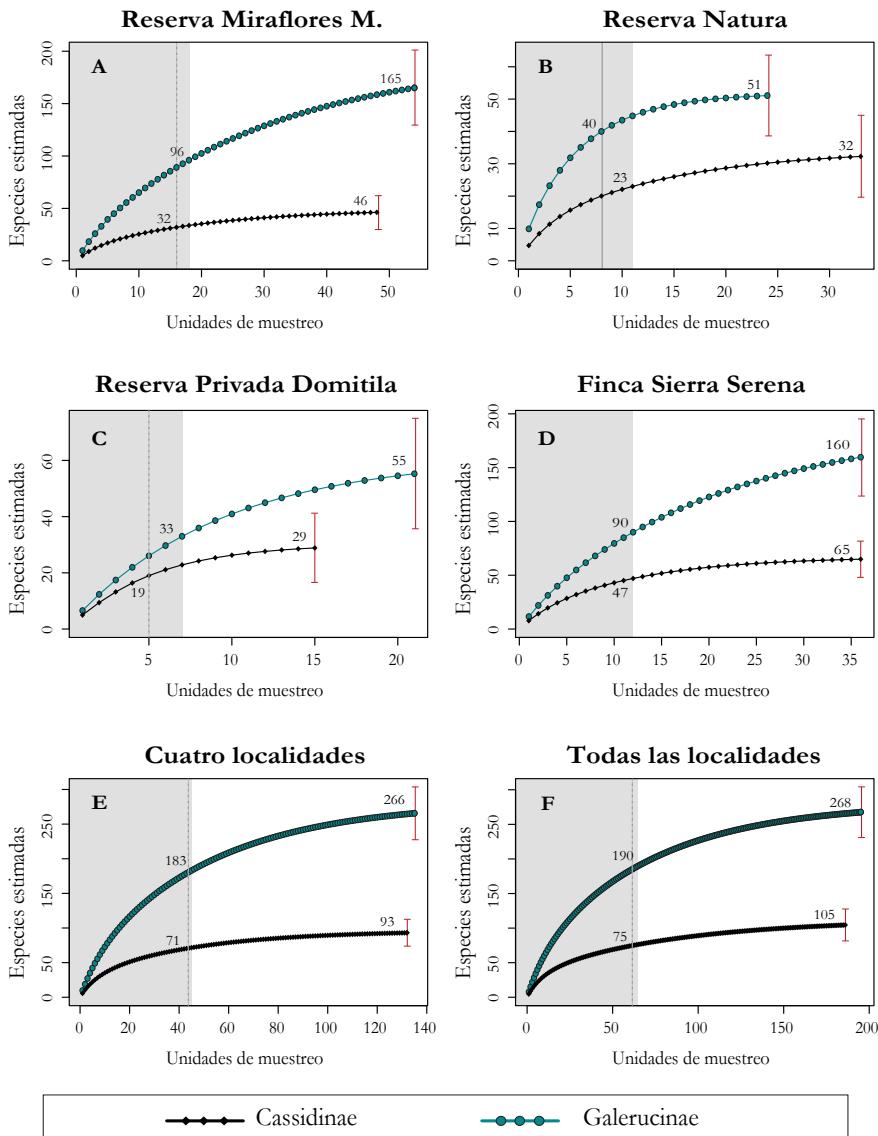


Figura 4.5 Análisis de rarefacción (factor 3x) del conjunto de especies de Cassidinae y Galerucinae s. l. en las cuatro localidades principales del estudio, en su conjunto y para el total del muestreo realizado en localidades de bosque seco tropical en Nicaragua. Los resultados mostrados son los correspondientes a todas las especies resultantes de la integración de datos moleculares y morfológicos (ver Tabla 4.7). La zona gris corresponde a las unidades de muestreo y los números dentro de esta zona indican el número de especies observadas. El número de unidades de muestreo para Cassidinae fue menor que para Galerucinae s. l. (excepto en Finca Sierra Serena y Reserva Natura) y se indica con una línea vertical discontinua. La estima final de riqueza se muestra como los valores promedio y su correspondiente intervalo de confianza.

Tabla 4.7 Estimaciones de la riqueza de crisomélidos por localidad, en su conjunto y para el total del muestreo al considerar morfoespecies (Mspp), especies con datos moleculares ( $E_{mol}$ ) y especies resultantes de la integración de datos moleculares y morfológicos ( $E_{m&m}$ ). Se detalla el número de unidades de muestreo (um), los individuos capturados (n) y las especies observadas ( $E_{obs}$ ), así como especies que se encontraron una única vez (U) o que se encontraron sólo dos veces (D). Para cada estimador se dan las especies esperadas ( $E_{est}$ ) y su desviación estándar (DE) o intervalos de confianza (IC).

Localidad	um	n	$E_{obs}$	U	D	ICE $E_{est}$	Chao 2 $E_{est}$		Jackknife 1 DE $E_{est}$		Jack-knife 1 DE $E_{est}$		Rarefacción $E_{est}$ IC (95%)	
							Jackknife 1 DE $E_{est}$	Jackknife 2 DE $E_{est}$	Jack-knife 1 DE $E_{est}$	Jack-knife 2 DE $E_{est}$	Rarefacción $E_{est}$ IC (95%)			
Reserva Miraflores	Mspp	18	448	128	74	27	267,8	223,8	30,5	197,9	16	241,1	202,7	166,3 - 239,1
	$E_{mol}$	18	382	123	73	25	258,2	223,7	32,58	191,9	17,1	235,9	199,4	162,4 - 236,4
	$E_{m&m}$	18	421	128	76	24	268,3	241,7	36,49	199,8	17,0	247,3	211,1	172,3 - 249,9
R. Natura	Mspp	13	205	60	25	16	82,4	76,3	8,67	83,1	6,9	91,8	76,7	61,0 - 92,5
	$E_{mol}$	13	193	62	28	16	88,52	82,5	10,31	87,9	8,0	99,1	82,5	64,7 - 100,3
	$E_{m&m}$	13	201	63	28	16	89,55	83,5	10,31	88,9	8,1	100,1	83,5	65,7 - 101,3
R. Domitila	Mspp	7	147	49	31	16	90,56	72,5	11,28	75,6	14,3	88,2	72,0	53,2 - 90,7
	$E_{mol}$	7	126	51	36	13	117,9	89,6	17,53	81,9	16,5	99,8	85,0	60,9 - 109,1
	$E_{m&m}$	7	146	52	36	14	114,5	88	16,27	82,9	15,8	100,2	84	61,2 - 107,8
R. S. Serena	Mspp	13	330	131	72	33	225,1	200,4	21,9	197,5	20,7	232,8	192,8	160,7 - 224,9
	$E_{mol}$	13	297	132	83	30	264,3	233,3	30,4	208,6	21,5	255,6	214,8	176,6 - 253,0
	$E_{m&m}$	13	322	137	84	29	273,2	244,3	32,1	214,5	23,5	263,1	223,0	183,9 - 262,2
Cuatro localidades	Mspp	51	1.130	240	107	44	376,2	367,6	33,3	344,9	23,8	406,3	343,4	300,7 - 386,1
	$E_{mol}$	51	998	251	117	55	408,7	373,0	30,0	365,7	24,4	426,3	355,0	312,64 - 366,9
	$E_{m&m}$	51	1.090	254	116	53	407,9	378,5	30,8	367,7	24,9	429,3	358,8	316,3 - 401,3
Total	Mspp	77	1.318	251	110	45	392,7	383,7	34,1	359,6	24,4	423,5	358,2	314,6 - 401,8
	$E_{mol}$	75	1.172	262	117	55	416,3	384,8	30,2	377,4	24,9	438,5	366,3	324,0 - 408,6
	$E_{m&m}$	76	1.270	265	117	53	415,6	392,4	31,5	380,5	25,5	443,5	371,9	328,9 - 414,9

En términos generales, entre las cuatro localidades se discriminaron 240 morfoespecies (1.130 individuos), y que podrían ascender a 254 según los datos moleculares. Estos valores suponen que en los muestreos se habría registrado hasta el 71 % de las especies (rarefacción; Fig. 4.5E). En el muestreo completo, considerando también las ocho localidades suplementarias, se registraron once morfoespecies adicionales, distinguiéndose un total de 251 morfoespecies y hasta 265 especies según los datos moleculares (Tabla 4.7). En conjunto habríamos muestreado entre un 59 (Jackknife 2) y un 72 % (rarefacción; Fig. 4.5F) de las especies de Cassidinae y Galerucinae s. l. del bosque seco de Nicaragua (las localidades adicionales aportarían únicamente hasta un 1,5 % de riqueza añadida).

A partir de las estimaciones basadas en índices paramétricos y no paramétricos, podemos observar que el nivel de eficiencia de los muestreos no fue similar en las cuatro localidades y según los estimadores, la localidad con mejor muestreo fue Reserva Natura. Por el contrario, la localidad con menor éxito de muestreo fue la R. Domitila, en la que se habría recolectado entre la mitad y una tercera parte de la diversidad esperada de especies.

## 4.4 Diferencias entre localidades: patrones de diversidad beta

Se analizaron las diferencias en la composición de especies resultantes de la integración de datos moleculares y morfológicos ( $E_{m\&m}$ ; Tabla 4.7) de Cassidinae y Galerucinae *s. l.* entre las cuatro localidades principales del estudio, así como una estima considerando las diferencias entre estas localidades en conjunto. En la Figura 4.6 se muestra una síntesis de los resultados obtenidos acerca del número de especies observadas en cada localidad (diversidad alfa) y las especies compartidas y no compartidas entre localidades (diversidad beta) para el total de la comunidad de crisomélidos de bosque seco en Nicaragua. El conjunto de las cuatro localidades compartió 11 especies (Figura 4.6). La Reserva Miraflores-Moropotente y la Finca Sierra Serena muestran el mayor número de especies compartidas ( $Esp_{com} = 40$ ), mientras que encontramos menor número de especies compartidas ( $Esp_{com} = 25$ ) entre Reserva Domitila y la Reserva Miraflores-Moropotente (Figura 4.6, Tabla 4.8).

### 4.4.1 Estimas de diversidad beta

Los resultados del índice de disimilitud total de Sørensen (Tabla 4.8; Figura 4.7-1A) para Cassidinae, Galerucinae *s. l.* y el conjunto de crisomélidos, indicaron que Cassidinae presentó menor diversidad beta ( $\beta_{sor} = 0,68$ ), mientras que la comunidad más diferente en composición de especies fue la de Galerucinae *s. l.* ( $\beta_{sor} = 0,78$ ). Al comparar las comunidades dos a dos, la mayor similitud de composición en comunidades de crisomélidos se dio siempre entre la Reserva Domitila y Reserva Natura. El mismo patrón se encontró al analizar las comunidades de Cassidinae y Galerucinae *s. l.* por separado (Tabla 4.8). Encontramos que las localidades más distintas fueron las Reservas de Domitila y Miraflores, y en el caso de las comunidades de Galerucinae *s. l.*, la mayor heterogeneidad se observó entre la Finca Sierra Serena y la Reserva Domitila (Tabla 4.8).

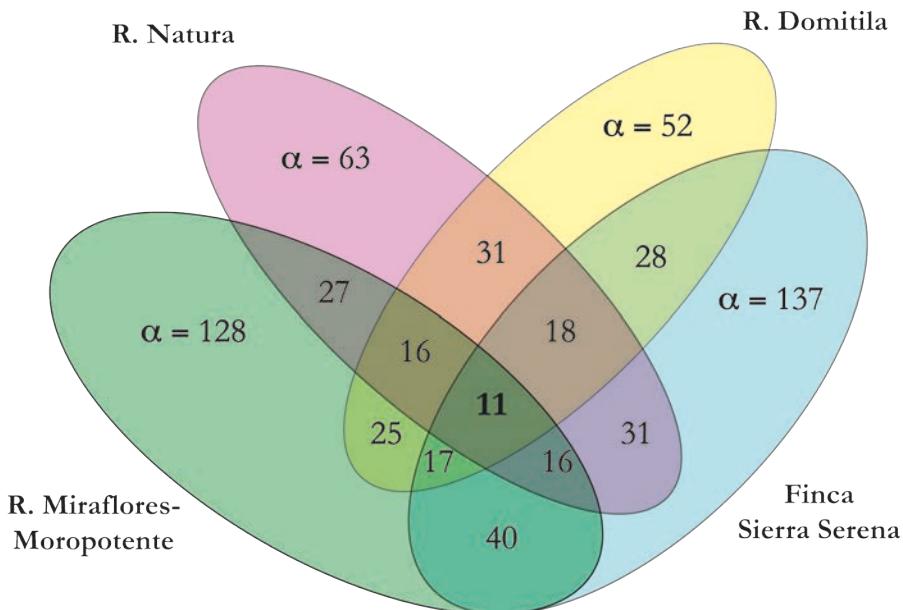


Figura 4.6 Diagrama de Venn que sintetiza la distribución de las especies de crisomélidos del bosque seco de Nicaragua en las cuatro localidades del estudio. En cada componente se muestra la diversidad alfa estimada, y en cada intersección el número de especies compartidas entre localidades. En negrita se destaca el número total de especies compartidas entre las cuatro localidades.

Tabla 4.8 Diversidad beta de las comunidades de Cassidinae y Galerucinae s. l., así como para el total de los crisomélidos en las cuatro localidades estudiadas. La parte inferior de la diagonal muestra el número de especies compartidas ( $\text{Esp}_{\text{com}}$ ) entre cada par de localidades, y en la parte superior se muestran los valores obtenidos de disimilitud total en composición de especies ( $\beta_{\text{sor}}$ ). En negrita se muestra la mayor similitud entre localidades, y en cursivas las mayores diferencias entre comunidades, según el coeficiente de Sørensen.

	Crisomélidos general $\beta_{\text{sor}} = 0,75$				Cassidinae $\beta_{\text{sor}} = 0,68$				Galerucinae s. l. $\beta_{\text{sor}} = 0,78$			
	R. Miraflores	R. Natura	R. Domitila	F. S. Serena	R. Miraflores	R. Natura	R. Domitila	F. S. Serena	R. Miraflores	R. Natura	R. Domitila	F. S. Serena
R. Miraflores	-	0,72	0,72	0,69	-	0,64	0,65	0,59	-	0,75	0,75	0,74
R. Natura	27	-	<b>0,46</b>	0,69	10	-	<b>0,43</b>	0,57	17	-	<b>0,48</b>	0,75
R. Domitila	25	31	-	0,70	9	12	-	0,61	16	19	-	0,76
F. S. Serena	40	31	28	-	16	15	13	-	24	16	15	-

#### 4.4.2 Reemplazamiento de especies a nivel general y por localidades

Al descomponer la diversidad beta de Sørensen en su componente de reemplazamiento ( $\beta_{\text{sim}}$ ) para el conjunto de especies de crisomélidos, así como para las comunidades de Cassidinae y Galerucinae s. l. (Figura 4.7-1B), Galerucinae s. l. presentó el valor más alto ( $\beta_{\text{sim}} = 0,68$ ), similar a la estima del conjunto de datos. Los agrupamientos de localidades según el reemplazamiento de especies (Figura 4.7-2) reveló resultados similares para Galerucinae s. l. y el total de la comunidad de crisomélidos, de modo que las localidades menos diversas según este criterio fueron la Reserva Domitila y la Reserva Natura, y la que contribuyó más diversidad beta por reemplazamiento fue la Finca Sierra Serena. Sin embargo, en el caso de la comunidad de Cassidinae (Figura 4.7-2), las localidades más semejantes fueron la Reserva Domitila y Finca Sierra Serena, siendo la más distintiva la Reserva Miraflores.

#### 4.4.3 Anidamiento de especies a nivel general y por localidades

De forma general, el componente de anidamiento de especies ( $\beta_{\text{sne}}$ ) indicó que las diferencias en la composición de las comunidades de Cassidinae son mayores ( $\beta_{\text{sne}} = 0,13$ ; Figura 4.7-1C) que en las comunidades de Galerucinae s. l. o en todas las especies de crisomélidos de estos grupos en las cuatro comunidades. En todos los casos, la contribución del anidamiento de especies a la diversidad beta global fue notablemente inferior a la debida a reemplazamiento. Al agrupar las comunidades de escarabajos según sus patrones de diversidad por anidamiento de especies en cada localidad (Figura 4.7-3), en general se reflejó una menor diversidad entre Finca Sierra Serena y Miraflores para Galerucinae s. l., F. Sierra Serena y Reserva Natura para el conjunto de los crisomélidos, o entre las Reservas Natura y de Domitila para Cassidinae.

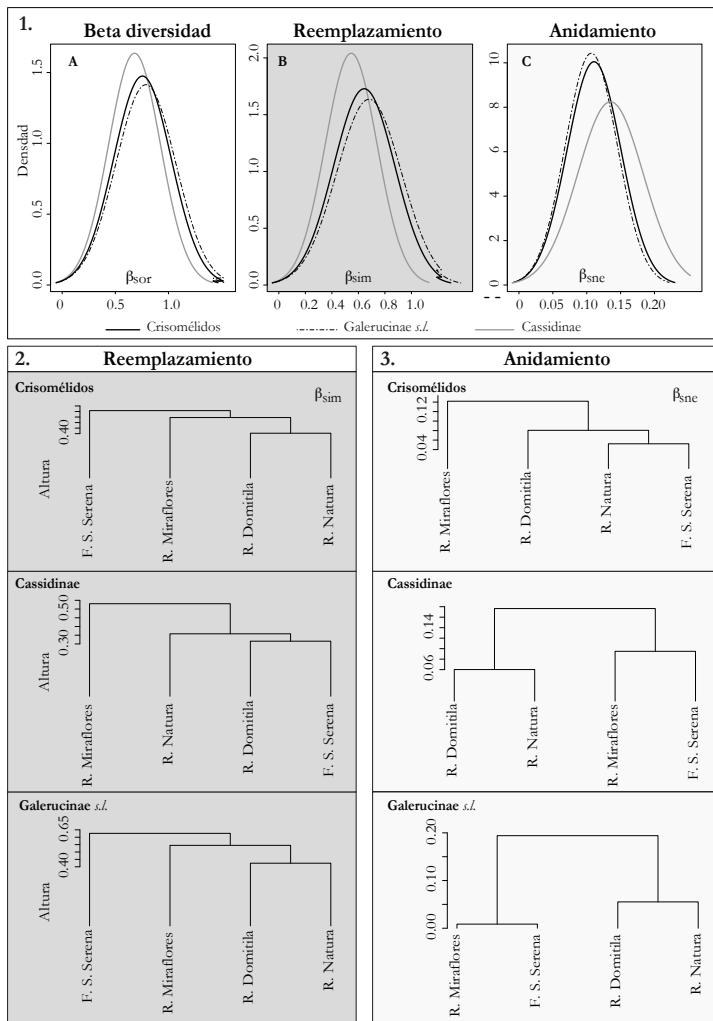


Figura 4.7 Patrones de diversidad beta y sus componentes de reemplazamiento y anidamiento de especies, para el conjunto de crisomélidos, y las comunidades de Cassidinae y Galerucinae s. l. en el bosque seco de Nicaragua. Se detallan los resultados de (1) disimilitud total para el conjunto de localidades, así como los patrones de (2) reemplazamiento ( $\beta_{sim}$ ) y de (3) anidamiento ( $\beta_{sne}$ ) de especies entre localidades.

## 4.5 Ecología molecular: detección de patrones de interacción entre crisomélidos y plantas en el bosque seco

### 4.5.1 Asignación taxonómica de secuencias *psbA-trnH*

El análisis de 872 ejemplares de Chrysomelidae mediante cebadores para el espaciador intergénico *psbA-trnH* generó 1.138 fragmentos cloroplásticos, los cuales oscilaron entre 92 y 798 pb de longitud, tras su edición y eliminación de zonas de lectura conflictiva en algunos casos. En cinco casos, los análisis preliminares de los datos permitieron reconocer que las secuencias provenían de gimnospermas, que fueron descartadas debido a que la base de datos de referencia para la identificación de las secuencias iba a contener sólo datos de angiospermas (Magnoliophyta). Así, el resto de análisis y resultados se basaron en 1.133 fragmentos de *psbA-trnH*. En la Tabla 4.9 y en el Apéndice IV se detalla el tipo de amplificación y el total de secuencias para cada grupo de especies. En total, se recuperaron 425 secuencias de Cassidinae y 708 de Galerucinae *s. l.*

Tabla 4.9 Número de secuencias cloroplásticas obtenidas, diferenciando aquéllas que fueron recuperadas por amplificación directa (incluidas las que requirieron cebadores internos) y a través de bandas múltiples cortadas en gel de agarosa. *n* representa al número de individuos para los cuales se pudo recuperar secuencias *psbA-trnH*, supuestamente de su contenido estomacal.

Grupo	<i>n</i>	Tipo de amplificación		Total
		directa	bandas	
Cassidinae	314	136	289	425
cassidinos	220	94	209	303
hispinos	94	42	80	122
Galerucinae <i>s. l.</i>	555	307	401	708
alticinos	394	257	231	488
galerucinos	161	50	170	220
Total	869	443	690	1.133

La asignación taxonómica de estas secuencias se realizó de forma automática y mediante el procedimiento BAGpipe (Papadopoulou *et al.*, 2015). Para generar la base de datos de referencia que requiere el proceso, se descargaron 107 ficheros de GenBank con 3.111.160 secuencias, que se

filtraron según los criterios de orientación, tamaño y de redundancia taxonómica y de secuencia para obtener un total de 38.711 secuencias cloroplásticas de *psbA-trnH* anotadas según la taxonomía asociada a cada una de ellas.

Siguiendo el procedimiento de BAGpipe, y utilizando un límite de identidad entre secuencias del 90 % (valor inicial de búsqueda, ajustado por defecto en el programa), las 1.133 secuencias cloroplásticas obtenidas a partir de los crisomélidos de bosque seco fueron agrupadas en 118 grupos con diferente número de secuencias homólogas. Para doce de estos grupos (con una o varias dietas potenciales), el número de secuencias de referencia abarcó entre 541-2.941 secuencias. Estos incluían a las familias Arecaceae, Asteraceae, Bignoniaceae, Fabaceae, Heliconiaceae, Malvaceae, Musaceae, Poaceae y Solanaceae, bastante bien representadas en GenBank. Para reducir la demanda computacional de posteriores análisis, estos subconjuntos de datos fueron reanalizados tras ajustar el límite de identidad entre un 91-99 %, con el fin de recuperar un número de secuencias de referencia inferior a 500 en cada caso. La estrategia opuesta se utilizó con 31 grupos para los cuales se obtuvieron entre diez y ninguna secuencia homóloga de la base de datos de referencia. En estos grupos, se ajustó el límite de identidad entre un 83-89 %, y se consiguió que 21 de los grupos incluyeran entre 11 y 44 secuencias *psbA-trnH* homólogas. Para diez de los grupos se siguió recuperando un número insuficiente de secuencias como para hacer inferencias taxonómicas útiles, y con ellos se aplicó una estrategia alternativa. En concreto, se añadieron a la base de datos de referencia fragmentos más cortos de *psbA-trnH*, de hasta 150 pb, de los ajustados por defecto en BAGpipe (200 pb). Después de incluir estas nuevas secuencias a la base de datos de referencia, y modificando el límite de identidad entre 80-87 %, se obtuvieron entre 11 y 30 secuencias homólogas para estos diez grupos.

Cuando todos los grupos contaron con un número adecuado de secuencias y diversidad taxonómica relevante para inferir árboles filogenéticos útiles en la identificación de secuencias problema, se procedió a realizar la parte del análisis para esta identificación taxonómica y usando los parámetros por defecto de BAGpipe. Se obtuvieron resultados para todas las secuencias analizadas, los cuales cubrieron un amplio rango taxonómico, entre especie y orden. La relación completa de inferencias fenéticas y filogenéticas se detalla en el Apéndice IV, y abarca ~ 55 familias botánicas, con diferente resolución taxonómica según el método utilizado (Tabla 4.10). Específicamente, usando los criterios más conservadores (criterio filogenético estricto en BAGpipe), obtuvimos un 5 % de asignaciones en el rango de especie, un 15 % en el de género, un 4

% en rangos supragenéricos por debajo de familia, un 68 % en el de familia y un 8 % en el de orden botánico (Tabla 4.10).

Tabla 4.10 Grado de resolución taxonómica en la identificación de fragmentos cloroplásticos *psbA-trnH* obtenidos a partir de extracciones de ADN total de Chrysomelidae y aplicando el método de BAGpipe.

Método	Orden	Familia	Tribu	Género	Especie
Mejor coincidencia	1	265	0	155	712
Distancia al 4%*	59	441	61	291	113
Criterio Liberal	12	592	12	223	294
Criterio Estricto	91	771	46	170	55

\* Según este criterio no siempre se consiguió alguna inferencia por no haber ninguna secuencia en GenBank con menos del 4% de divergencia, con lo que sólo se presentan resultados para las secuencias (965) que sí produjeron resultados.

#### 4.5.2 Evaluación crítica sobre el origen de las secuencias *psbA-trnH*

Un análisis preliminar de la diversidad de especies de planta inferidas como dieta de las especies de crisomélido para las que disponíamos de varios ejemplares secuenciados y, sobre todo, la divergencia entre supuestas plantas hospederas para una misma especie, planteó la posibilidad de que el origen de estas secuencias no fuera siempre la dieta. Por lo tanto, se realizaron varios experimentos para contrastar la coincidencia entre especie de dieta inferida y la esperada según datos de captura y/o datos conocidos sobre ecología trófica del coleóptero, así como experimentos en los que la probabilidad de contaminación externa se excluyó mediante descontaminación de superficies y estudio específico del contenido gástrico. Los resultados de este estudio de hecho se han publicado ya como un artículo en la revista *Insect Science* (De la Cadena *et al.*; Apéndice V).

Para un total de 261 individuos analizados en estos experimentos (72 % de los ensayados), se obtuvieron un total de 316 secuencias cloroplásticas de *psbA-trnH*. De éstas, 194 secuencias resultaron de secuenciación directa, bien por la amplificación del fragmento completo (57), bien por una reamplificación con cebadores internos (137). Las restantes 122 secuencias se obtuvieron con un paso adicional intermedio al co-amplificarse varios productos de PCR, que requirió corte de esas bandas y su posterior reamplificación. En la Tabla 4.11 se detalla la cantidad de muestras amplificadas exitosamente para cada grupo experimental.

Tabla 4.11 Secuencias *psbA-trnH* recuperadas para diferentes grupos experimentales, y de acuerdo con la forma de obtención de las mismas, detallándose el número de individuos analizados (n).

Grupo experimental	n	Secuenciación directa	Bandas	Total
<i>Ischnocodia annulus</i>	20	7	23	30
Alticinae sin tratamiento	57	36	39	75
Alticinae esterilizados	147	122	48	170
<i>Physonota alutacea</i> sin tratamiento	9	3	8	11
Estómagos <i>Physonota alutacea</i>	28	26	4	30
<b>Total</b>	<b>261</b>	<b>194</b>	<b>122</b>	<b>316</b>

#### 4.5.2.1 Asociaciones insecto-planta

La asignación taxonómica de las secuencias *psbA-trnH* mediante BAGpipe generó identificaciones compatibles con 77 especies vegetales de 31 familias botánicas. Como se advirtió anteriormente, el grado de resolución taxonómica varió dependiendo del criterio aplicado, y en la Tabla 4.12 se muestran las diferencias en la resolución taxonómica obtenida dependiendo del criterio utilizado. Así, por ejemplo, mientras que según el criterio filogenético estricto de BAGpipe se obtuvieron seis resultados con rango de especie, según los resultados de mejor coincidencia, las asignaciones en este mismo rango taxonómico representaron el 77 % de los resultados obtenidos. Estos valores oscilaron entre un 25 % o un 33 % al considerarse otros criterios implementados en BAGpipe (Tabla 4.12).

Las identificaciones precisas de las inferencias para los alticinos y *Physonota alutacea* se muestran en la Figura 4.8 y para *Ischnocodia annulus* en la Tabla 4.13. La Tabla 4.14 resume esta información según el procedimiento de obtención de secuencias y los tratamientos experimentales a que se sometieron las muestras (ver apartado 3.4.2.2). Según estos resultados, *Alagoasa decemguttata* estaría asociada a 20 especies de plantas de once familias botánicas, siendo Verbenaceae y Bignoniaceae las dominantes, pero la mayor diversidad de dietas se infirió para los individuos sin tratamiento de descontaminación y a partir de la escisión de bandas en gel. En el caso de *Blepharida suturalis* se infirieron cinco especies de plantas (de cuatro familias), con la mayoría de secuencias pertenecientes a la familia Burseraceae, y aunque las diferencias fueron mínimas, hubo más diversidad de inferencias a partir de bandas cortadas de gel, pero también en los ejemplares descontaminados de ADN externo.

Resultados

---

Tabla 4.12 Precisión taxonómica de identificaciones de plantas basadas en secuencias *psbA-trnH* de ocho especies de escarabajos según el método de BAGpipe. Se detalla el número de especímenes (*n*) por especie, y el número de asignaciones taxonómicas por criterio de identificación, según se hayan asignado a especie (E), género (G), tribu u otro nivel supragenérico (T) o familia (F).

Especie	<i>n</i>	Mejor coincidencia				Distancia al 1%*				Criterio Liberal				Criterio Estricto			
		E	G	T	F	E	G	T	F	E	G	T	F	E	G	T	F
<i>Alagoasa</i>	25	17	8	0	0	7	2	2	1	9	3	9	4	0	3	9	13
<i>Blepharida</i>	47	18	29	0	0	4	43	0	0	4	42	0	1	0	5	0	42
<i>Glenidion</i>	40	26	14	0	0	11	22	2	0	13	15	5	7	0	13	6	21
<i>Ischnocodia</i>	30	27	2	1	0	6	3	0	1	10	5	11	4	0	7	18	5
<i>Omophoita</i>	28	26	2	0	0	7	18	0	0	24	3	0	1	0	19	2	7
<i>Physonota</i>	41	32	9	0	0	7	32	0	1	8	31	0	2	5	2	0	34
<i>Syphrea</i>	25	22	2	0	1	12	5	2	1	14	4	3	4	1	15	4	5
<i>Walterianella</i>	80	76	4	0	0	24	44	0	0	23	6	8	43	0	15	10	55
<b>Total</b>	<b>316</b>	<b>244</b>	<b>70</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>78</b>	<b>169</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>105</b>	<b>109</b>	<b>36</b>	<b>66</b>	<b>6</b>	<b>79</b>	<b>49</b>	<b>182</b>

\* El menor número de secuencias se debe a que se contabilizaron solo aquellos casos en que la inferencia obtenida se asignó a algún rango taxonómico.

En el caso de *Glenidion sp.*, se infirieron 17 especies de nueve familias, con Fabaceae y Lamiaceae como las más abundantes; los resultados fueron similares entre tratamientos y procedimientos de obtención de secuencias, aunque se obtuvo menor diversidad de inferencias a partir de bandas cortadas de gel de individuos descontaminados. Los datos de *Omophoita octomaculata* indicaron asociaciones con once especies de siete familias, siendo la principal fuente la familia Verbenaceae, y se obtuvo igual cantidad de inferencias cuando los especímenes fueron previamente descontaminados. En el caso de *Syphrea sp.*, se identificaron 13 especies de once familias, siendo la inferencia más abundante *Acalypha* (Euphorbiaceae), y con una marcada diversidad de inferencias a partir del corte de bandas de gel utilizando ejemplares descontaminados. Para *Walterianella venustula*, se obtuvieron 19 especies de 14 familias, principalmente de la familia Lamiaceae, con números de inferencias parecidos, independientemente del procedimiento y tratamiento aplicado. En el caso de *P. alutacea* se encontraron asociaciones con ocho especies de seis familias botánicas, la mayoría pertenecientes al género *Cordia* (Boraginaceae), obteniendo menor diversidad de inferencias cuando el fragmento cloroplástico se caracterizó directamente a partir de ejemplares descontaminados.

Tabla 4.13 Inferencias taxonómicas basadas en datos de *psbA-trnH* para muestras de especímenes de *Ischnocodia annulus* (N) colectados sobre diferentes especies vegetales.

Inferencia	N	Proveniencia de los especímenes				
		Moraceae: <i>Trophis racemosa</i>	Myrtaceae: <i>Eugenia acapulcensis</i>	Primulaceae: <i>Ardisia revoluta</i>	Rhamnaceae: <i>Gouania lupuloides</i>	Rubiaceae: <i>Chiococca alba</i>
Acanthaceae	1					1
Boraginaceae	1			1		
Cucurbitaceae	2					2
Fabaceae	2	2	2			
Malvaceae	2		1, 1	2		1, 1
Myrtaceae	1		1*			
Poaceae	1			1		
Polygonaceae	2			2		
Rubiaceae	3		4, 1	3	1	3*
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>2</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>1</b>	<b>8</b>

Nota: La fuente en negrita indica los datos obtenidos por secuenciación directa de productos de PCR, mientras que los otros datos son aquéllos que provienen de cortar y reamplificar múltiples bandas en gel de agarosa. Los asteriscos (\*) resaltan las coincidencias entre la planta donde los insectos fueron capturados y la asociación inferida.

Tabla 4.14 Diversidad de especies inferidas según el procedimiento de amplificación del fragmento cloroplástico *psbA-trnH* y el tipo de tratamiento aplicado. Se muestran los resultados del número de asignaciones taxonómicas y entre paréntesis se indica el número de familias botánicas a las que pertenecen dichas asignaciones.

Especies	Sin Tratamiento		Con tratamiento		Total	
	Directo	Bandas	Directo	Bandas	Directo	Bandas
<i>Alagoasa</i>	7 (2)	9 (7)	1 (1)	5 (4)	7 (2)	14 (10)
<i>Blepharida</i>	1 (1)	3 (3)	2 (2)	3 (3)	2 (2)	5 (4)
<i>Glenidion</i>	7 (4)	6 (3)	7 (4)	5 (5)	12 (5)	11 (8)
<i>Omophoita</i>	2 (2)	2 (2)	5 (3)	5 (5)	6 (4)	7 (6)
<i>Physonota</i>	1 (1)	5 (4)	4 (3)	1 (1)	4 (3)	6 (5)
<i>Syphrea</i>	1 (1)	4 (4)	3 (3)	8 (7)	3 (3)	12 (11)
<i>Walterianella</i>	7 (5)	6 (5)	7 (6)	6 (6)	11 (8)	12 (10)

Por su parte, los 20 ejemplares de *Ischnocodia annulus* colectados sobre cinco especies vegetales produjeron datos consistentes con 15 especies de plantas de nueve familias botánicas, y únicamente en dos casos coincidieron las observaciones de campo y las inferencias derivadas a partir de las secuencias (Tabla 4.13).

En general, para todos los grupos de coleópteros se obtuvo mayor diversidad de inferencias a partir de bandas cortadas de gel, y excepto en algún caso, las inferencias obtenidas de forma directa fueron un subconjunto de las obtenidas a partir de bandas cortadas del gel.

#### 4.5.2.2 Evaluación estadística de los tratamientos aplicados

Para evaluar si las inferencias de plantas diferían significativamente al aplicar un determinado protocolo de laboratorio, se buscó la existencia de una posible relación mediante el método multivariante CCA. Se elaboraron matrices de respuesta con datos binarios, en las que tanto (i) la especie, (ii) el procedimiento de obtención de bandas, y (iii) el tratamiento experimental de las muestras se consideraron variables explicativas, y las inferencias de dieta fueron consideradas la variable de respuesta (ver apartado 3.4.2.4). Utilizando el análisis CCA, se contrastó la hipótesis nula de que el patrón de inferencias no estaba condicionado por ninguna de estas variables explicativas. Los resultados del análisis CCA mostraron que hay diferencias significativas entre muestras sin tratamiento preliminar y aquéllas derivadas del protocolo de esterilización de especímenes ( $\chi^2 = 1,2321$  [3 grados de libertad],  $P = 0,001$ ), atribuyendo a las variables explicativas el 6,08 % de la variación no aleatoria (inercia). Los tres primeros ejes canónicos fueron significativos ( $P_{CCA1, CCA2} = 0,001$ ,  $P_{CCA3} = 0,007$ ) y explicaron el 57,8 %, el 27,3 % y 14,9 % de la variación total, respectivamente. En la Figura 4.9 se ilustran los resultados del CCA, según los que la mayor variación en el primer eje correspondió fundamentalmente a la variable especie, mientras que los otros dos ejes acumularon la variación introducida por los procedimientos de laboratorio, tanto del tipo de tratamiento utilizado como las características de la PCR.

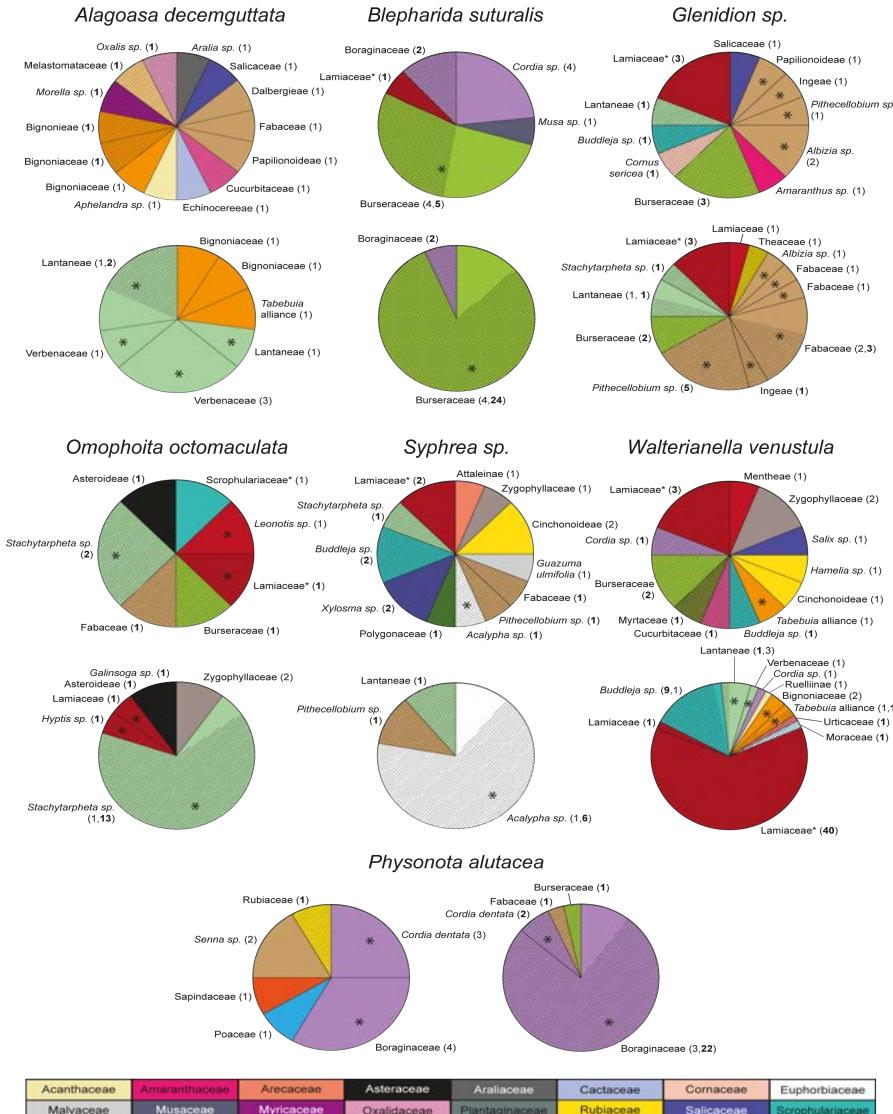


Figura 4.8 Identificación taxonómica y diversidad de secuencias cloroplásticas *psbA-trnH* amplificadas a partir del ADN total de seis especies de Chrysomelidae. Los diagramas superiores (en el caso de Alticinae) o el de la izquierda (en el caso de *P. alutacea*) muestran los datos obtenidos a partir de la re-amplificación de bandas cortadas. Los diagramas inferiores (Alticinae) o el de la derecha (*P. alutacea*) muestran aquellos resultados de secuenciación directa. Las inferencias obtenidas tras la descontaminación de los especímenes se muestran en sombreado. Se reporta el número de secuencias obtenidas para cada asignación taxonómica, sea al aplicar el protocolo de esterilización (resaltado en negrita) o sin tratamiento previo. Con un asterisco se señalan las familias de plantas reconocidas en la bibliografía como hospederas de las respectivas especies de crisomélido. Las inferencias etiquetadas como “Lamiaceae\*” corresponden al grupo *Vitex spp.*, pero la inferencia según el criterio estricto de BAGpipe falló en la asignación taxonómica. Se utilizaron diferentes colores para identificar las familias botánicas, y aquéllas que no están mencionadas en alguno de los diagramas se muestran en la leyenda.

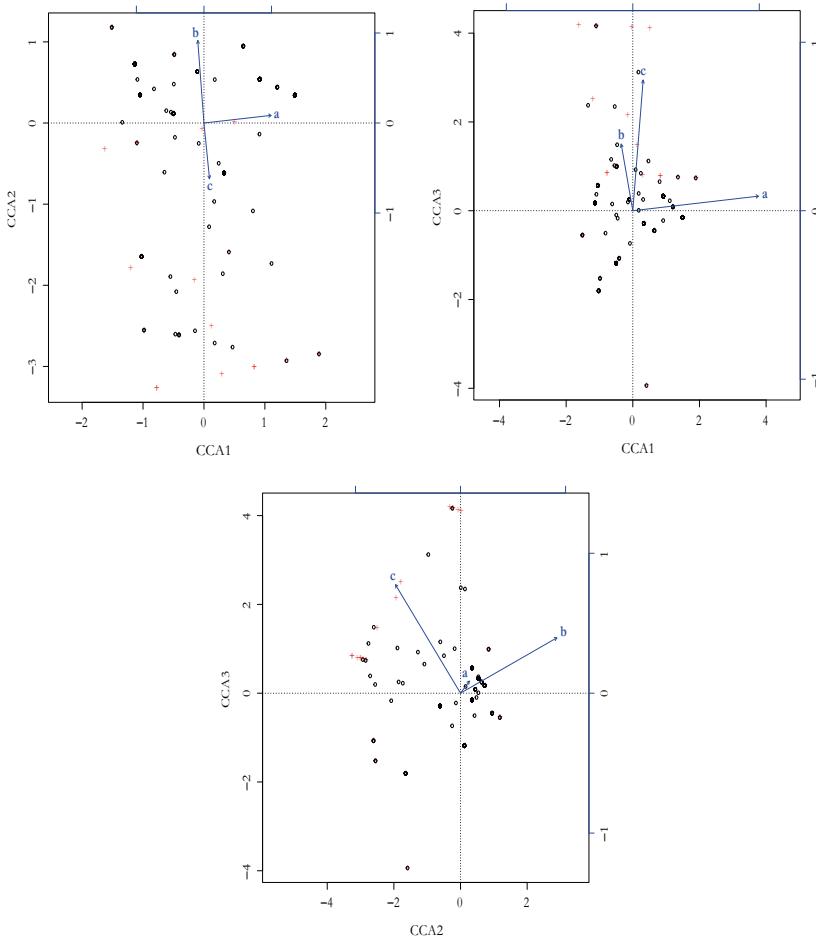


Figura 4.9 Gráficas bi-dimensionales del análisis de correspondencia canónico de acuerdo a los tres primeros ejes de ordenación de los datos de inferencia de dietas de ocho especies de crisomélido. Se proyectan las variables explicativas consideradas en el estudio: (a) especie, (b) tratamiento aplicado en laboratorio (muestras nativas o descontaminadas), y (c) tipo de amplificación de los fragmentos cloroplásticos (directa o con re-amplificación). Las cruces rojas muestran las coordenadas de la variable de respuesta (*species scores* en CCA) y los círculos representan los promedios ponderados de los individuos (*site scores* en CCA). Resultados basados en 999 permutaciones y escalamiento 1.

#### 4.5.3 Descripción de las interacciones insecto–planta

Los resultados descritos en el apartado anterior recomendaron cautela en el traslado de determinaciones hechas a partir de secuencias *psbA-trnH* en el laboratorio a su consideración como descriptores de dieta. Así, para una

interpretación ecológica de la asociación trófica entre crisomélidos y las plantas que les sirven de alimento, adoptamos una postura conservativa, aplicando las conclusiones de los anteriores ensayos experimentales. De todas las inferencias de dieta descritas en el apartado 4.4.1, las redes tróficas se establecieron sólo con aquéllas que cumplieron los siguientes requisitos: (i) todas las obtenidas a partir de la amplificación y secuenciación directa de productos de PCR; (ii) aquéllas que coincidieron en rango taxonómico de familia o inferior para más de un ejemplar ensayado, independientemente de si provenían de bandas o amplificación directa; y (iii) todas las obtenidas para especies de escarabajo representadas por un único ejemplar, independiente del procedimiento de obtención de las secuencias *psbA-trnH*. Este filtrado redujo las 1.133 inferencias disponibles a 861 inferencias para un total de 257 especies de crisomélido. Los resultados de identificación taxonómica para cada una de estas secuencias aplicando criterios fenéticos y filogenéticos se muestran en el Apéndice IV. En la Tabla 4.15 se muestra de forma resumida la precisión taxonómica con el criterio de identificación más fiable, el criterio filogenético estricto, obtenida para el total de las interacciones insecto-planta de cada localidad y el número de especies de coleópteros implicadas en estas interacciones.

Tabla 4.15 Resumen de la identificación taxonómica de 861 secuencias cloroplásticas *psbA-trnH* obtenidas en 12 localidades, según el criterio filogenético estricto implementado en BAGpipe. Se detalla el número de especies de escarabajos y el número de interacciones insecto-planta (*n*) recuperadas en total y para cada localidad, así como la precisión taxonómica a nivel de especie (E), género (G), tribu (T), o familia (F).

Localidades	Especies	<i>n</i>	Criterio Estricto			
			E	G	T <sup>b</sup>	F
<b>Localidades Principales</b>						
1. Estelí, Miraflores-Moropotente	119	294	7	54	66	167
2. Managua, Reserva Natura	42	98	2	6	24	66
3. Granada, Reserva Privada Domitila	38	112	4	20	18	70
4. Rivas, Finca Sierra Serena	114	235	21	28	34	152
<b>Localidades Complementarias</b>						
5. Chinandega, Res. Nat. San Cristóbal-Casita	2	2	0	0	0	2
6. León, Jardín Botánico	11	29	0	4	5	20
7. León, Cerro Negro	11	12	0	3	1	8
8. León, Reserva Natural Isla de Juan Venado	1	1	0	0	0	1
9. León, La Paz	9	15	0	4	1	10
10. Masaya, Cruz Negra	2	3	0	0	1	2
11. Masaya, Las Flores	2	43	0	1	42	0
12. Rivas, Finca Escamequita	16	17	1	2	2	12
<b>Total</b>	<b>257</b>	<b>861</b>	<b>35</b>	<b>122</b>	<b>194</b>	<b>510</b>

<sup>b</sup> Tribu o rango taxonómico superior

#### 4.5.3.1 Reserva Miraflores-Moropotente

En esta localidad se obtuvo información para un total de 119 especies de coleópteros y 294 asociaciones con plantas pertenecientes a 88 especies agrupadas en 31 familias botánicas (o rangos superiores). Para Cassidinae, 20 especies se relacionaron con 28 especies de plantas y 11 hispinos con 16 (Figura 4.10), mientras que en la subfamilia Galerucinae s. l. se obtuvieron interacciones de 58 especies de alticinos con 49 especies de plantas, y 30 especies de galerucinos con 26 especies de plantas (Figura 4.11). Las especies vegetales con mayor número de interacciones en alticinos fueron *Guaiacum sp.* (Zygophyllaceae) y Rubiaceae nº1 (*Mitragyna parvifolia*, según la mejor coincidencia en GenBank, aunque no tiene por qué ser esa especie, y lo mismo aplica a los siguientes casos citados en paréntesis), la última siendo también la interacción más extendida en el caso de los galerucinos; Convolvulaceae nº5 (*Ipomoea sp.*) lo fue en el caso de cassidinos, y Poaceae nº5 (*Lasiacis ruscifolia*) y Malvoideae nº1 (*Sida spinosa*) en el de hispinos. En esta localidad, las plantas consumidas exclusivamente por Cassidinae pertenecieron a las familias Cordiaceae, Ehretiaceae, Myrtaceae y Sapindaceae. En el caso de Galerucinae s. l., fueron Anacardiaceae, Bignoniaceae, Burseraceae, Cleomaceae, Euphorbiaceae, Onagraceae, Rhamnaceae, Rutaceae y Verbenaceae, así como las asignadas a rangos superiores: Lamiales, Pentapetalae y Zingiberales. En general, para esta localidad, la comunidad de alticinos, cassidinos, galerucinos e hispinos compartieron especies vegetales de 14 familias botánicas.

#### 4.5.3.2 Reserva Natura

En esta localidad se encontraron 98 interacciones (Figura 4.12) entre 42 especies de escarabajos y 44 especies vegetales de 19 familias botánicas (u orden). Con respecto a Cassidinae, se encontraron doce especies de cassidinos asociados a 18 especies de plantas, y siete de hispinos relacionados con nueve especies vegetales. Las interacciones más frecuentes en estos casos fueron Convolvulaceae nº2 (*Ipomoea nil*, según la mejor coincidencia en GenBank, aunque no tiene por qué ser esa especie, y lo mismo aplica a los siguientes casos) para los primeros y Malvaceae nº2 (*Sida rhombifolia*) y Malvoideae nº2 (*Sida spinosa*) para los segundos. En el caso de Galerucinae s. l., se consideraron interacciones de 14 especies de alticinos con 19 especies de plantas y de nueve galerucinos con 14 especies de plantas. Las especies vegetales con mayor número de interacciones en alticinos fueron Malvaceae nº1 (*Bytneria aculeata*), Malvaceae nº2 (*Sida sp.*) y Rubiaceae nº1 (*Mitragyna parvifolia*); Fabaceae

nº15 (*Aeschynomene rufa*) y Fabaceae nº 16 (*Calopogonium mucunoides*) lo fueron en el caso de galerucinos. En esta localidad las plantas consumidas exclusivamente por Cassidinae pertenecieron a las familias Asteraceae, Cucurbitaceae, Poaceae y Sapindaceae, así como al orden Zingiberales. Y en el caso de Galerucinae s. l., las plantas consumidas exclusivamente por este grupo pertenecieron a las familias Amaranthaceae, Bignoniaceae, Malpighiaceae, Onagraceae, Piperaceae, Rubiaceae y Verbenaceae, además de aquellas asociadas al orden Lamiales. En esta comunidad de escarabajos, se compartieron inferencias de plantas en seis familias botánicas (u orden).

#### 4.5.3.3 Reserva Domitila

En esta localidad se obtuvieron 112 asociaciones entre 38 especies de coleópteros y 39 especies vegetales (Figura 4.13) pertenecientes a 18 familias botánicas (o rangos superiores). En la subfamilia Cassidinae se identificaron las interacciones de 14 especies de cassidinos con once especies de plantas, de las que las más representadas fueron *Cordia* nº2 (*Cordia dentata*, según la mejor coincidencia en GenBank, aunque no tiene por qué ser esa especie, y lo mismo aplica a los siguientes casos) y Convolvulaceae nº5 (*Ipomoea carnea*), y de tres especies de hispinos con cuatro especies vegetales. Igualmente, se registraron asociaciones de 17 especies de alticinos con 24 especies de plantas, siendo la interacción con *Cordia* nº2 la más frecuente; y cuatro especies de galerucinos con seis especies de plantas, siendo Cucurbitaceae nº5 (*Cayaponia attenuata*), la interacción más frecuente. Las especies vegetales asociadas exclusivamente con Cassidinae en esta comunidad pertenecieron a las familias Cannabaceae, Convolvulaceae y Solanaceae, así como las incluidas en las astéridas. Con respecto a Galerucinae s. l., se encontraron interacciones exclusivas con plantas pertenecientes a las familias Acanthaceae, Bignoniaceae, Burseraceae, Fabaceae, Lamiaceae, Theaceae y Verbenaceae, además de las asignadas al orden Lamiales. Los dos grupos de coleópteros de esta comunidad compartieron especies vegetales pertenecientes a seis familias botánicas.

## Resultados

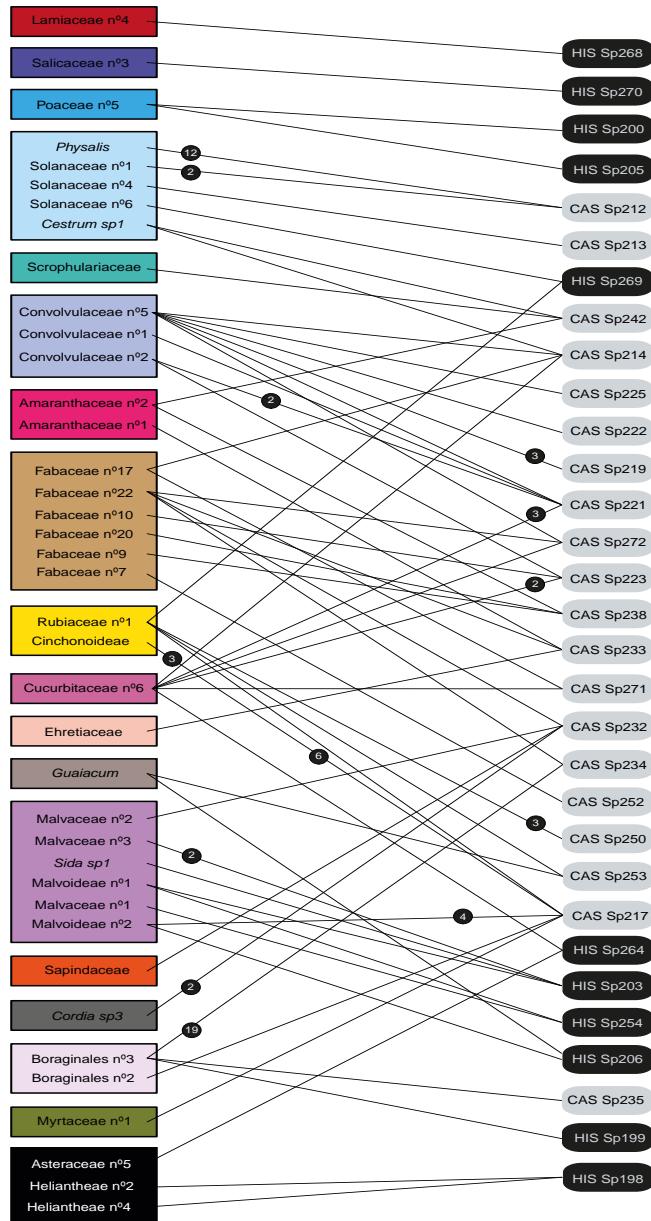


Figura 4.10 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Cassidinae (derecha) y su infusión de plantas hospederas (izquierda), agrupadas por familia botánica, en la Reserva Miraflores-Moropotente. Los hispínicos se representan en cajas negras y los cassidinos en gris y el número de especie es el mismo usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice VI.

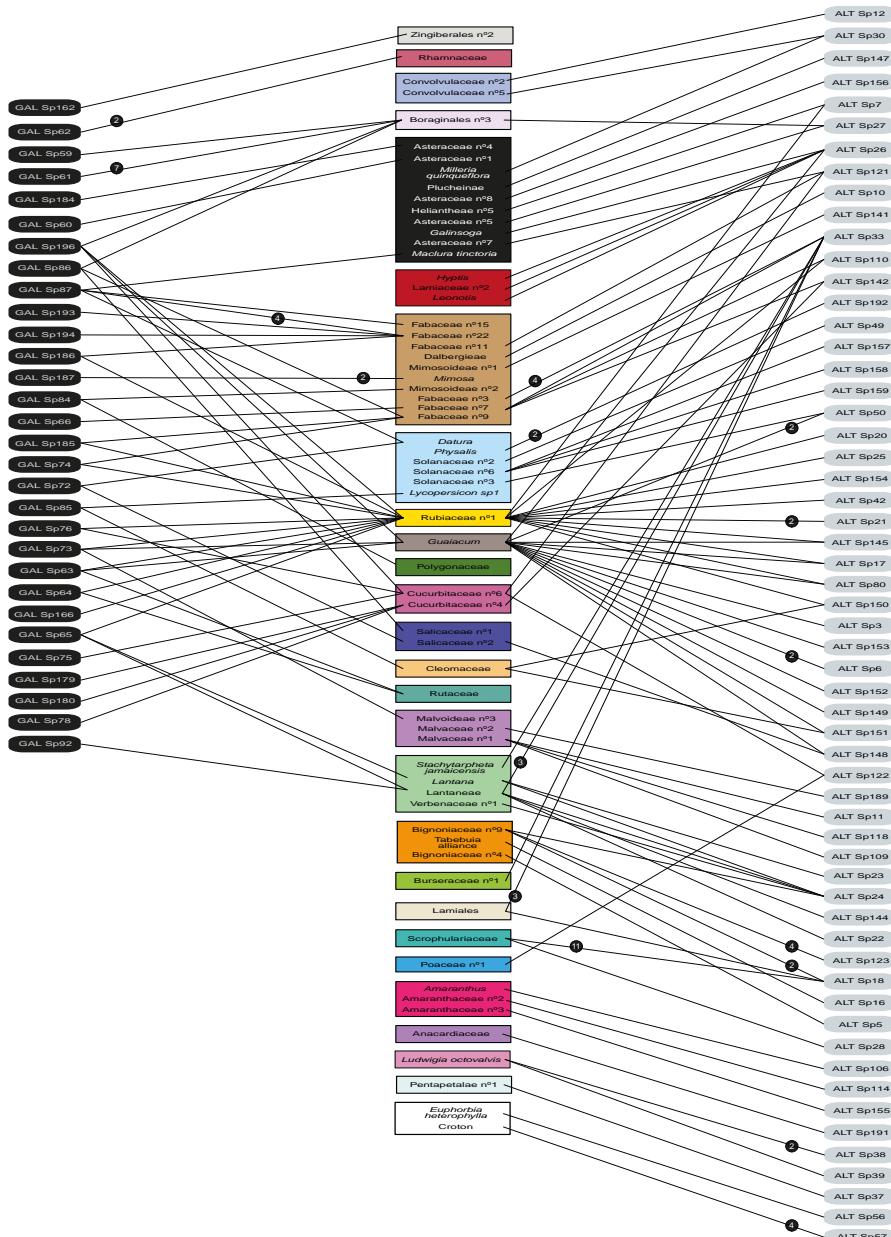


Figura 4.11 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Galerucinae s. l.: galerucinos (izquierda), alticinos (derecha) y su inferencia de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica en la Reserva Miraflores-Moropotente. Los galerucinos se representan en cajas negras y los alticinos en gris y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice VI.

## Resultados

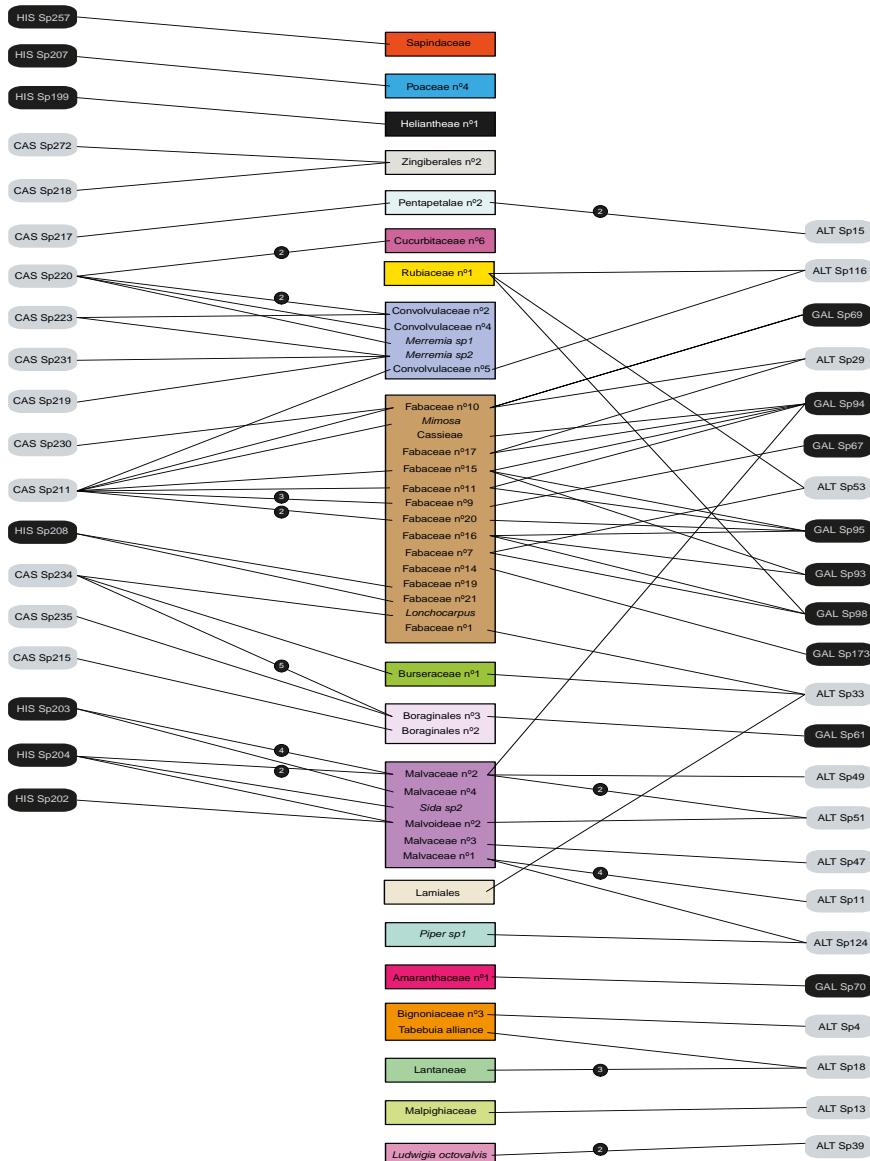


Figura 4.12 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Cassidinae (izquierda) y Galerucinae s. l. (derecha) y sus inferencias de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica en la Reserva Natura. Los hispínnos y galerucinos se representan en cajas negras y los alticinos y cassidinos en gris, y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice VI.

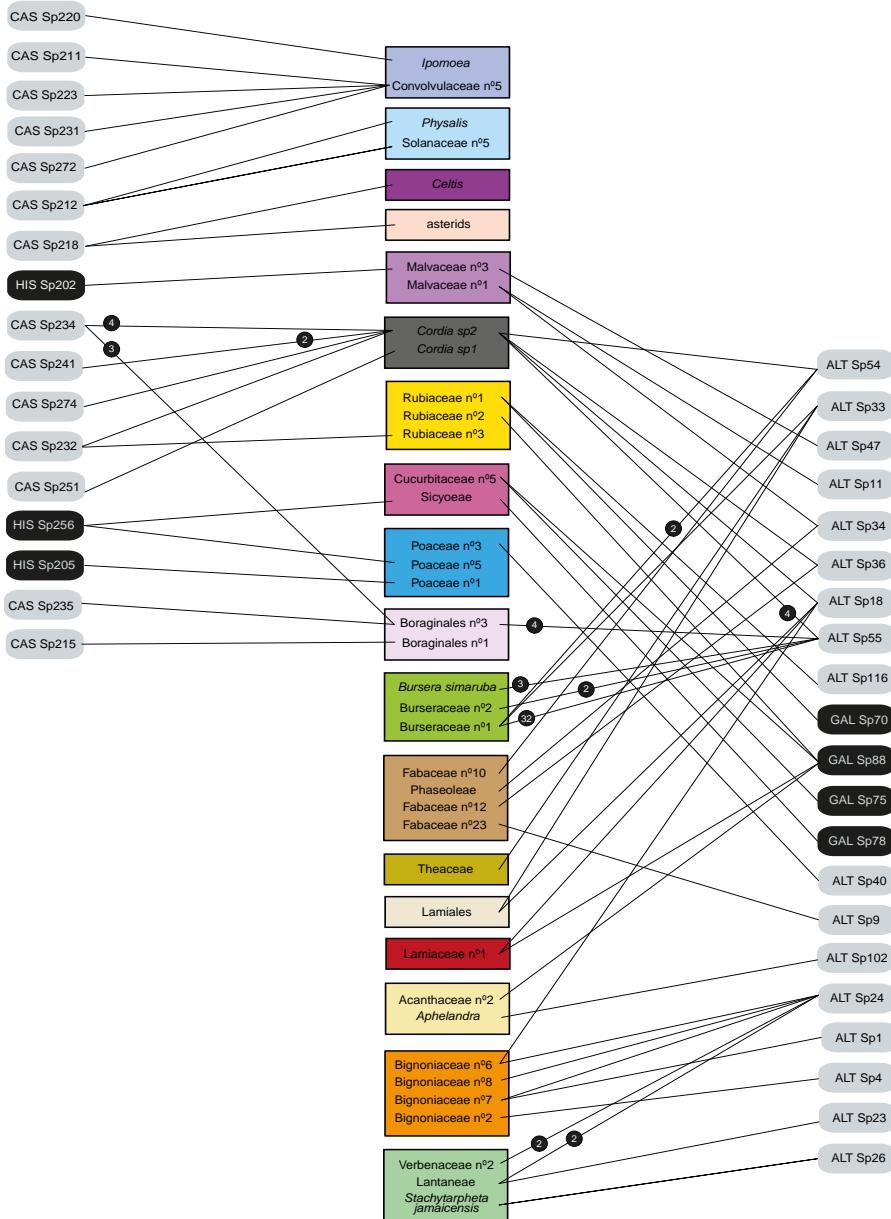


Figura 4.13 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Cassidinae (izquierda) y Galerucinae s. l. (derecha) y sus inferencias de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica en la Reserva Domitila. Los hispinos y galerucinos se representan en cajas negras y los alticinos y cassidinos en gris y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice VI.

## Resultados

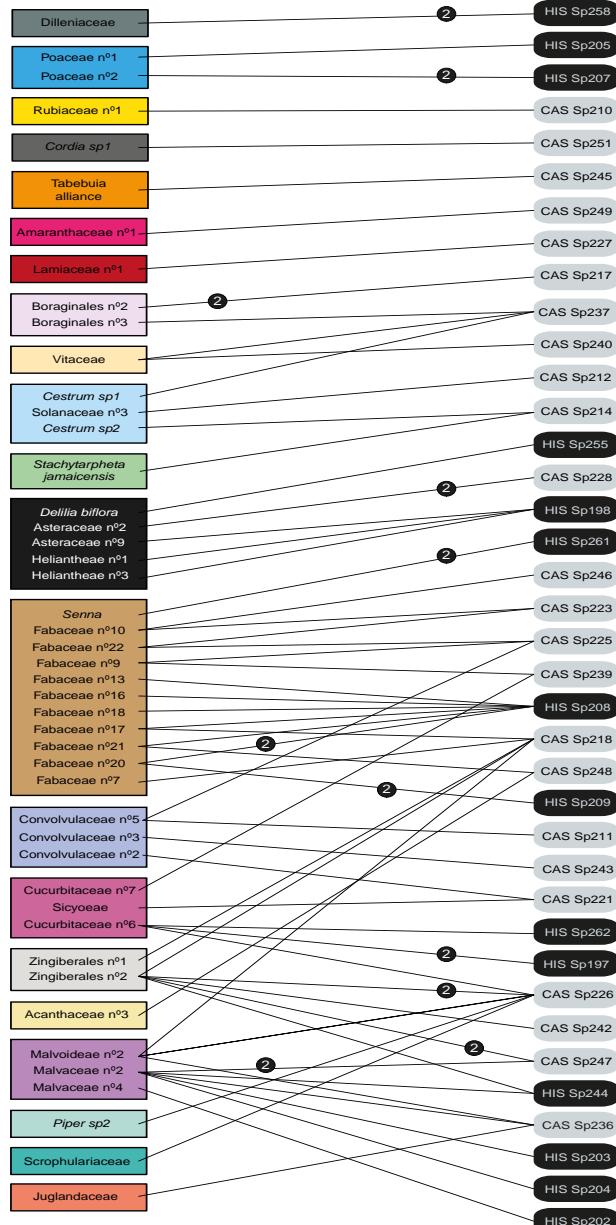


Figura 4.14 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Cassidinae (derecha) y su infusión de plantas hospederas (izquierda) agrupadas por familia botánica en la Finca Sierra Serena. Los hispíspinos se representan en cajas negras y los cassidinos en gris y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice VI.

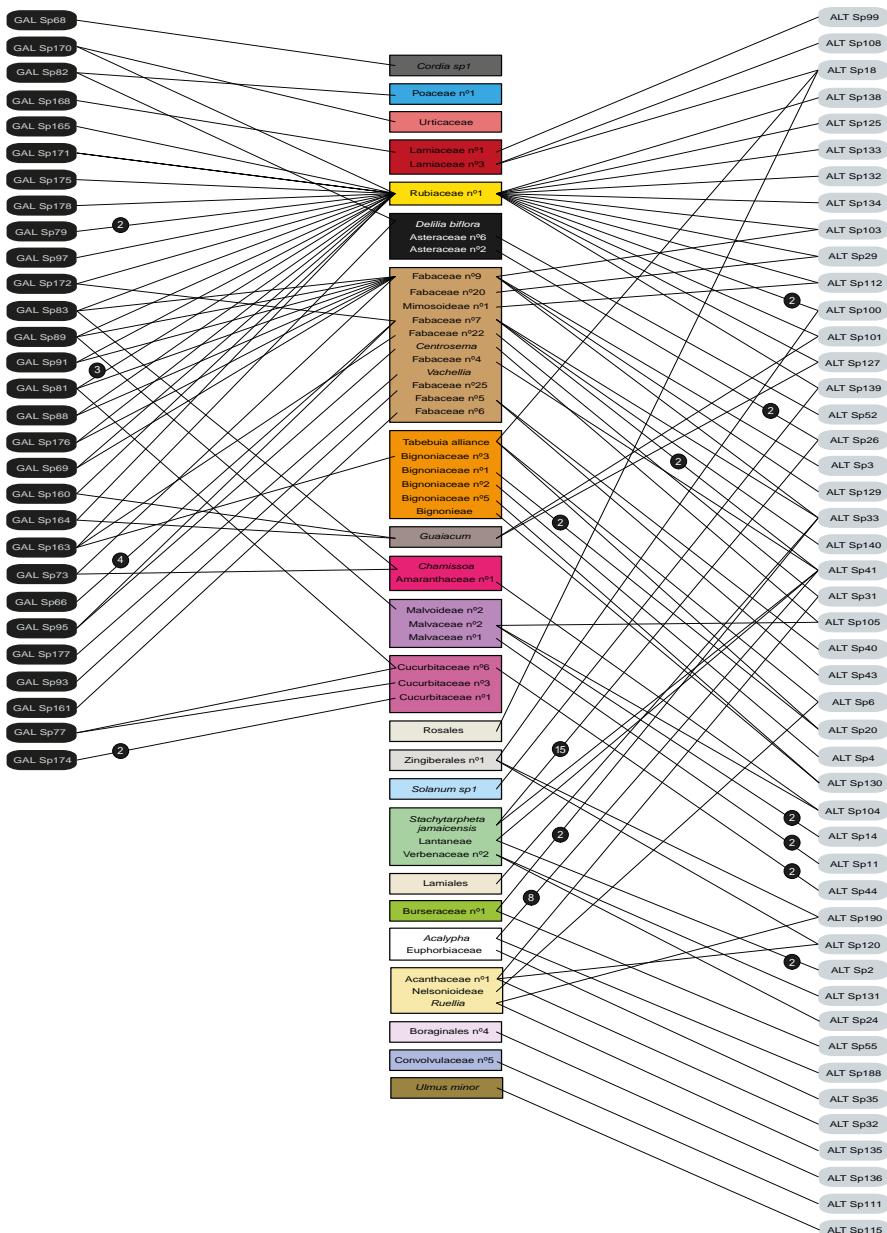


Figura 4.15 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Galerucinae s. l. y su inferencia de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica en la Finca Sierra Serena. Los galerucinos (izquierda) se representan en cajas negras y los alticinos (derecha) en gris, y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice VI.

#### 4.5.3.4 Finca Sierra Serena

Se registraron 235 interacciones entre 114 especies de coleópteros y 79 especies vegetales (Figuras 4.14 y 4.15) pertenecientes a 28 familias botánicas (u orden). Para la subfamilia Cassidinae se encontraron 24 especies de cassidino asociados a 33 especies de plantas y 14 especies de hispino relacionados con 18 especies vegetales (Figura 4.14). Entre estas interacciones, las más frecuentes fueron Zingiberales nº2 (*Heliconia nutans*, según la mejor coincidencia en GenBank, aunque no tiene por qué ser esa especie, y lo mismo aplica a los siguientes casos) en el caso de los cassidinos y Malvaceae nº2 (*Sida rhombifolia*) en el de los hispinos. Respecto a la subfamilia Galerucinae s. l., se obtuvieron 47 especies de alticinos asociados a 39 especies de plantas así como 29 galerucinos con 20 especies vegetales (Figura 4.15). Las plantas con mayor número de interacciones por grupo estudiado fueron Rubiaceae nº1 (*Mitragyna parvifolia*) tanto para los alticinos como para los galerucinos. Las interacciones exclusivas con Cassidinae en esta comunidad se obtuvieron para plantas pertenecientes a las familias Dilleniaceae, Juglandaceae, Piperaceae, Scrophulariaceae y Vitaceae. Y en el caso de Galerucinae s. l., pertenecientes a las familias Burseraceae, Euphorbiaceae, Ulmaceae, Urticaceae y Zygophyllaceae, además de las asignadas a los órdenes Lamiales y Rosales. En general, los dos grandes grupos de crisomélidos de esta comunidad compartieron dietas sobre especies vegetales de 16 familias botánicas.

#### 4.5.3.5 Localidades adicionales

En las restantes ocho localidades se registraron un total de 122 interacciones entre 43 especies de coleópteros y 47 especies de plantas pertenecientes a 22 familias botánicas (u orden). Para la subfamilia Cassidinae se identificaron siete especies de cassidinos asociados a nueve especies de plantas y once especies de hispinos vinculados a doce especies vegetales. Con respecto a la subfamilia Galerucinae s. l., doce especies de alticinos se relacionaron con 25 especies vegetales y 13 galerucinos con once especies vegetales. La especie vegetal con mayor número de interacciones entre todas las localidades correspondió a un representante de Lamiales (*Vitex sp.* según la mejor coincidencia). En la Figura 4.16 se detallan los resultados para las localidades correspondientes a la Reserva Natural San Cristóbal-Casita, R. N. Isla de Juan Venado, Cruz Negra y Las Flores. Las asociaciones insecto-planta obtenidas en la localidad del Jardín Botánico de León se ilustran en la Figura 4.17., mientras que la Figura

4.18 se muestran las asociaciones tróficas en la localidad de Cerro Negro, en la Figura 4.19 las de La Paz, y en la Figura 4.20 las de Finca Escamequita.

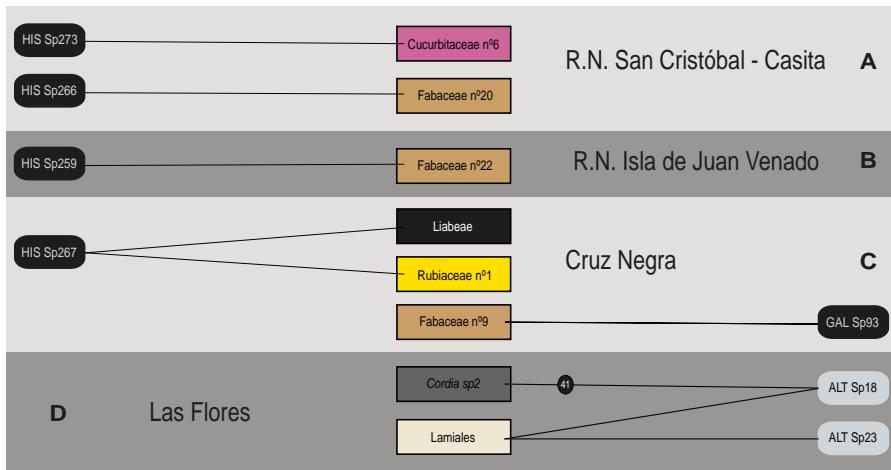


Figura 4.16 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros pertenecientes a la subfamilia Cassidinae (izquierda) y Galerucinae s. l. (derecha) y sus inferencias de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica. Se muestran las asociaciones insecto-planta para las localidades: (A) Reserva Natural San Cristóbal-Casita, (B) Reserva Natural Isla de Juan Venado, (C) Cruz Negra, y (D) Las Flores. Los hispinos y galerucinos se representan en cajas negras y los alticinos en gris, y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice VI.

## Resultados

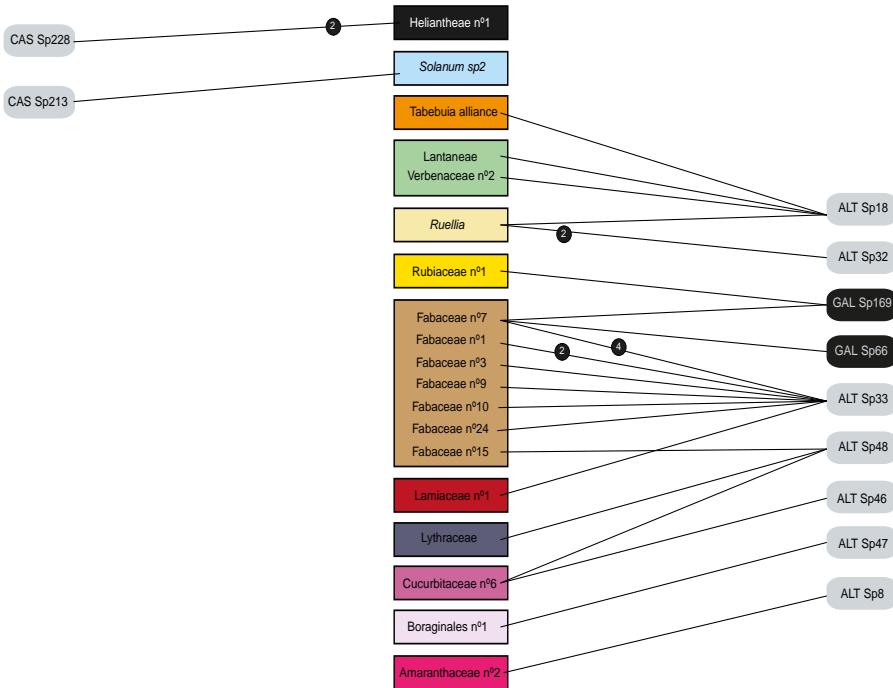


Figura 4.17 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre cassidinos (izquierda) y Galerucinae s. l. (derecha) y sus inferencias de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica en el Jardín Botánico de León. Los galerucinos se representan en cajas negras y los alticinos y cassidinos en gris, y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice VI.

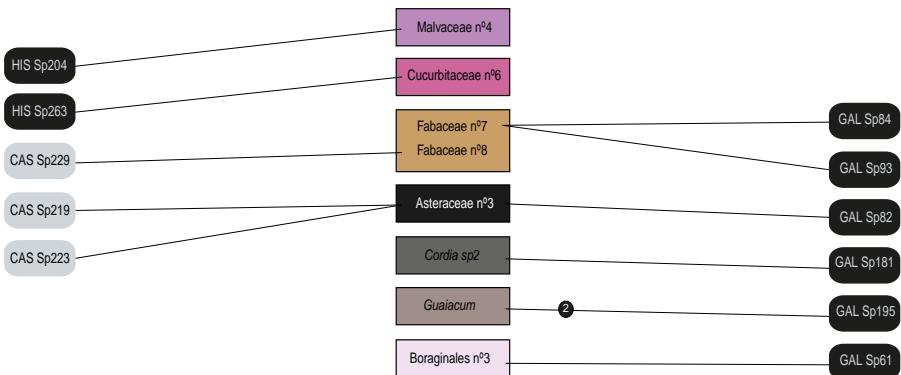


Figura 4.18 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Cassidinae (izquierda) y Galerucinae s. l. (derecha) y sus inferencias de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica en la localidad de Cerro Negro. Los galerucinos e hispinos se representan en cajas negras y los cassidinos en gris, y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice VI.

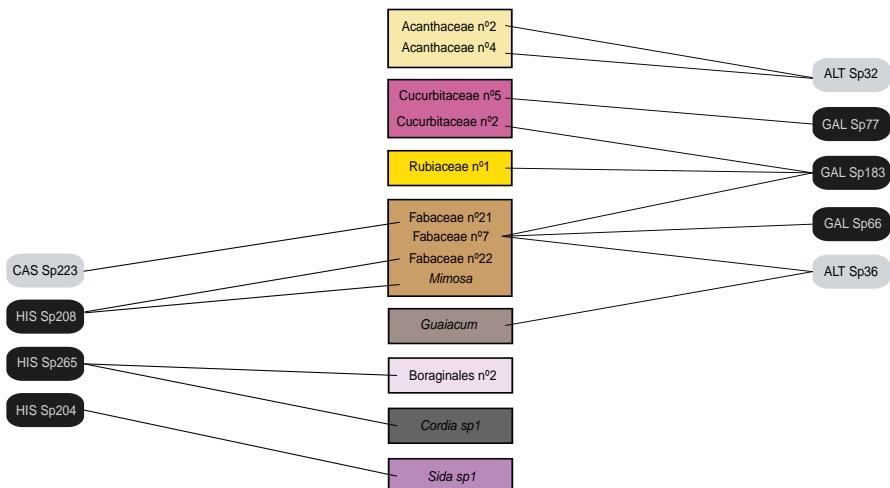


Figura 4.19 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Cassidinae (izquierda) y Galerucinae s. l. (derecha) y sus inferencias de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica en la localidad de La Paz. Los galerucinos e hispinos se representan en cajas negras y los cassidinos en gris, y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice VI.

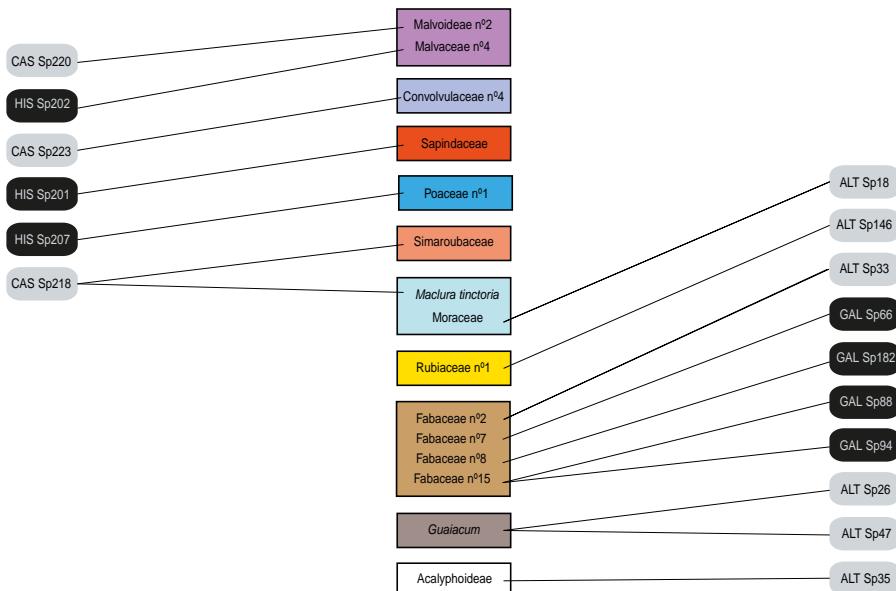


Figura 4.20 Representación gráfica de las interacciones identificadas entre escarabajos herbívoros de la subfamilia Cassidinae (izquierda) y Galerucinae s. l. (derecha) y sus inferencias de plantas hospederas (centro) agrupadas por familia botánica en la localidad de Finca Escamequita. Los galerucinos e hispínicos se representan en cajas negras y los cassídinos en gris, y el número de especie es el mismo que el usado en el Apéndice IV. Las líneas que unen insectos y plantas indican que la interacción se ha establecido para un único individuo de la especie; si son varios, se indica la frecuencia de la interacción en un círculo. Los resultados completos de asignación taxonómica de las dietas se encuentran en el Apéndice IV. La leyenda de colores de las familias botánicas se muestra en el Apéndice VI.

#### 4.5.3.6 Estructura general de las interacciones detectadas entre escarabajos y plantas del bosque seco de Nicaragua

Las relaciones tróficas encontradas para el total de 257 especies (especies resultantes de la integración de datos moleculares y taxonomía) de escarabajos del bosque seco de Nicaragua, indicaron que estas especies se asocian con 188 especies vegetales de al menos 43 familias botánicas. Las cinco especies vegetales que recibieron más interacciones con crisomélidos fueron: (i) Rubiaceae nº1 (*Mitragyna parvifolia*, según la mejor coincidencia en GenBank, aunque no tiene por qué ser esa especie, y lo mismo aplica a los siguientes casos), asociada a 63 especies de coleópteros; (ii) *Guaiacum* (Zygophyllaceae), relacionada con 24 especies; (iii) Cucurbitaceae nº6 (Cucurbitaceae sp. NPL0058) y (iv) Fabaceae nº9 (*Inga*

*sp.*), ambas con 21 especies de crisomélido; y (v) Fabaceae nº7 (*Pithecellobium sp.*), como alimento potencial de 17 especies. Al agrupar las inferencias de dieta según su familia botánica, se encontraron 12 registros de inferencias únicas para todo el muestreo, y que pertenecieron a las familias Anacardiaceae, Cannabaceae, Ehretiaceae, Juglandaceae, Lythraceae, Malpighiaceae, Myrtaceae, Polygonaceae, Simaroubaceae, Theaceae, Ulmaceae y Urticaceae. Por el contrario, las familias más consumidas por los crisomélidos de bosque seco pertenecieron a las familias Fabaceae y Rubiaceae (Tabla 4.16), seguidas por Cordiaceae, Malvaceae y Lamiaceae. Al analizar la riqueza de especies vegetales de una misma familia botánica que servían como potenciales hospederas de las dos comunidades de crisomélidos, se encontró que esta riqueza oscilaba en un rango de 1-33, siendo Fabaceae (33 especies), Asteraceae (19 especies), Solanaceae (13 especies) y Bignoniaceae (11 especies) las familias con mayor número de especies que potencialmente sustentaban a las 257 especies de coleópteros.

Tabla 4.16 Inferencias de dieta y riqueza de especies de acuerdo a la familia botánica. Se muestra la cantidad total de interacciones encontradas para cada familia, destacando en negrita las inferencias más abundantes, y en cursivas los registros más altos de riqueza de especies por familia botánica. Se muestran resultados para abundancias mayores a 25 por familia.

Familia	Inferencias de dieta	Total interacciones por familia
<b>Fabaceae</b>	<b>35</b>	<b>155</b>
Rubiaceae	4	81
Cordiaceae <sup>a</sup>	7	80
Malvaceae	9	63
Lamiaceae <sup>b</sup>	7	62
Burseraceae	3	46
Verbenaceae	5	46
Cucurbitaceae	8	43
Convolvulaceae	8	35
Solanaceae	13	35
Asteraceae	19	30
Bignoniaceae	11	28
Zygophyllaceae	1	28
Total	130	732*

<sup>a</sup> Incluye Boraginales

<sup>b</sup> Incluye Lamiales

\* Excluidas interacciones menores a 25 por familia

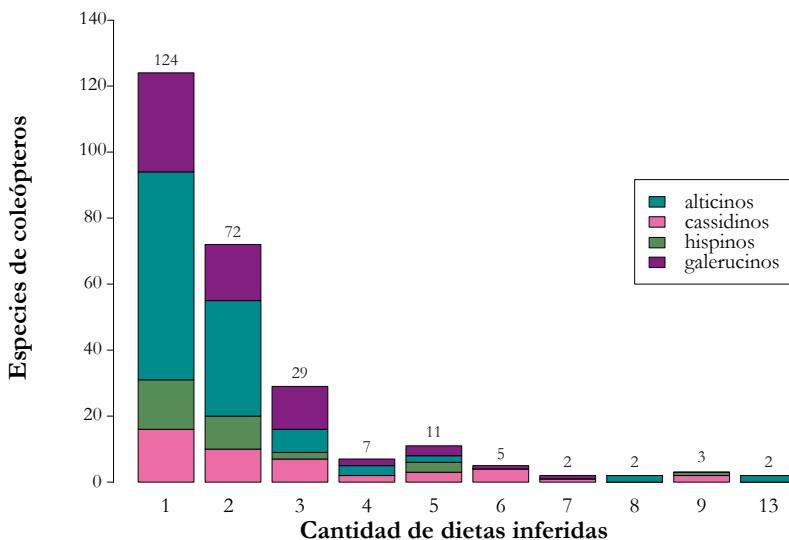


Figura 4.21 Inferencias de dieta (número de especies distintas según el criterio estricto de BAGpipe) observadas de 257 especies de coleópteros del bosque seco de Nicaragua. Se muestra la información de acuerdo a los grupos estudiados: alticinos, cassidinos, galerucinos e hispinos. Se indica el número total de especies de crisomélidos asociados al número de plantas que se han inferido como dieta para cada especie.

La amplitud de las dietas inferidas para las especies de crisomélido del bosque seco no fue homogénea. Así, se encontraron especies (la mayoría) que bien estaban asociadas a una única planta, y otras que, por el contrario, generaron más de una docena de inferencias. Esta visión debe ser modulada teniendo en cuenta que el 80 % de las observaciones de dietas únicas correspondían en realidad a especies representadas por un único ejemplar (*singletons*). Cuando se eliminaron estas observaciones, tan sólo el 23 % de las especies de crisomélido se asociaron a una única planta, el 28 % a dos especies vegetales y el 49 % a tres o más plantas (Figura 4.22). En cualquier caso, aunque existió una débil correlación entre el número de ejemplares estudiados por especie y el de dietas inferidas ( $R^2$  ajustada = 0,35;  $P < 0,001$ ), las especies asociadas a pocas plantas (oligófagas) fueron más comunes que las más generalistas (Figuras 4.21 y 4.22). Se destaca el caso de dos especies de alticinos, la morfoespecie 1 (*Walterianella venustula*) y la morfoespecie 54 (*Glenidion sp.*), que aparecieron relacionadas cada una con 13 especies vegetales, siendo los crisomélidos con mayor amplitud de dieta en toda la muestra, pero también dos de las especies para las que se analizaron más ejemplares: 72 y 33, respectivamente.

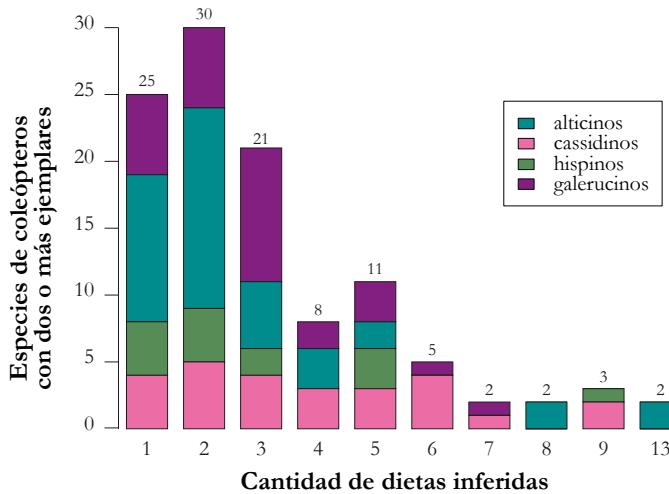


Figura 4.22 Inferencia de dietas (número de especies distintas según el criterio estricto de BAGpipe) observadas, tras eliminar las observaciones únicas, considerando únicamente las inferencias de dieta provenientes de especies con dos o más ejemplares estudiados.

#### 4.5.4 Estructura de la comunidad de escarabajos herbívoros

De forma preliminar, teniendo en cuenta que nuestra descripción de la comunidad de coleópteros es aún incompleta y la de sus interacciones con plantas aún más, se observaron algunas características de la estructura de cada comunidad de coleópteros que pueden servir como base para futuros estudios ecológicos y, sobre todo, para análisis comparativos con otros tipos de bosque y/o diferentes grados de conservación. Los resultados que se muestran a continuación describen las interacciones insecto-planta con los datos preliminares, sin constituir representaciones de redes tróficas completamente resueltas. Para las cuatro localidades principales se calcularon las principales medidas descriptoras cuantitativas (considerando la abundancia de especies y la intensidad de las interacciones) y cualitativas (basadas en presencia/ausencia de especies e interacciones) de la estructura de las redes tróficas observadas, para así obtener una mejor compresión de las interacciones entre consumidores y recursos: los crisomélidos y plantas hospederas del bosque seco de Nicaragua.

##### 4.5.4.1 Número de conexiones por especie

El número de conexiones por especies ( $N_c$ ) indicó que, de las cuatro localidades, en la Reserva Miraflores-Moropotente se encontraba la

comunidad de crisomélidos con mayor número de conexiones por especie ( $N_c = 0,986$ ), mientras que en la Reserva Domitila, las especies presentaron menor conexión ( $N_c = 0,818$ ) (Tabla 4.17).

#### 4.5.4.2 Conectancia

Este índice muestra la proporción de conexiones que realmente ocurren respecto al total de interacciones potenciales entre las comunidades, y oscila en un rango de 0 a 1. En nuestro caso, las comunidades con mayor conectancia fueron las Reservas Domitila y Natura, donde se manifestaba un 4 % de las interacciones teóricas (Tabla 4.17). En la Reserva Miraflores-Moropotente se registró el menor valor de conectancia ( $C_o = 0,0195$ ).

#### 4.5.4.3 Módulos

Los resultados revelaron que las especies de la Reserva Miraflores-Moropotente interactuaban dentro de 28 módulos, seguida de Finca Sierra Serena, con 27 módulos. Las otras dos localidades presentaron valores similarmente bajos (Tabla 4.17).

#### 4.5.4.4 Hospederos compartidos

Este índice muestra la co-ocurrencia de hospederos, esto es, la similitud en preferencias por los mismos. La localidad con valor promedio más alto de hospederos compartidos fue la Finca Sierra Serena ( $H_c = 0,103$ ), mientras que Reserva Natura fue la localidad con menor número de estos ( $H_c = 0,058$ ) (Tabla 4.17).

#### 4.5.4.5 Robustez de la red

Esta medida determina la resistencia de la red trófica a las extinciones, y las cuatro localidades respondieron de forma similar a la extinción de especies vegetales, aunque la comunidad que mayor resistencia presentaría frente a una extinción al azar de sus plantas hospederas fue Reserva Miraflores-Moropotente ( $R_o = 0,598$ ). Sin embargo, ante un escenario de extinción temprana de las plantas hospederas que más interacciones reciben, la robustez disminuyó en todas las localidades. En este escenario, el ecosistema que mejor soportaría la extinción sería la Reserva Natura ( $R_o = 0,478$ ) y la comunidad de crisomélidos de R. Miraflores-Moropotente sería la más vulnerable frente a este tipo de extinción (Tabla 4.17).

#### 4.5.4.6 Generalidad compensada

Este índice mostró que las especies de coleópteros representados en las cuatro localidades, en promedio se alimentaban de 2,31 especies de planta, obteniéndose el valor más alto de generalidad para la localidad de Reserva Natura ( $G_c = 2,552$ ) (Tabla 4.17). La Finca Sierra Serena presentó el valor más bajo de generalidad compensada ( $G_c = 2,079$ ), indicando un mayor grado de especificidad de hospederos.

Tabla 4.17 Medidas descriptoras cualitativas y cuantitativas de la topología de las redes alimenticias de crisomélidos del bosque seco tropical de Nicaragua, en las cuatro localidades principales de estudio. Se destaca en negrita el valor máximo obtenidos para cada medida, y en cursivas el valor más bajo. La medida de robustez de la red trófica fue calculada siguiendo (a) un escenario de extinción de especies vegetales al azar, y (b) un escenario en que la extinción se inicia a partir de las plantas que reciben más interacciones.

<b>Medidas</b>	<b>R. Miraflores</b>	<b>R. Natura</b>	<b>R. Domitila</b>	<b>F. S. Serena</b>
<i>Medidas cualitativas</i>				
Conexiones por especie	<b>0,986</b>	0,884	<b>0,818</b>	0,969
Conectancia	<i>0,019</i>	0,041	<b>0,043</b>	0,021
Número de compartimentos	<b>28</b>	18	<b>17</b>	27
Hospederos compartidos	0,092	<i>0,058</i>	0,071	<b>0,103</b>
Robustez	<b>0,598<sup>a</sup></b> <i>0,335<sup>b</sup></i>	0,596 <sup>a</sup> <b>0,478<sup>b</sup></b>	<b>0,576<sup>a</sup></b> 0,439 <sup>b</sup>	0,586 <sup>a</sup> 0,349 <sup>b</sup>
<i>Medidas cuantitativas</i>				
Generalidad compensada	2,199	<b>2,552</b>	2,415	2,079
Solapamiento de Nicho	0,050	<i>0,027</i>	0,035	<b>0,061</b>
Especialización	0,527	<i>0,379</i>	<b>0,624</b>	0,407
Especies de coleópteros	119	42	38	114
Especies de plantas	88	44	39	79

<sup>a</sup> Hipótesis de extinción al azar de especies vegetales

<sup>b</sup> Hipótesis de extinción que empieza por las especies vegetales con mayor número de interacciones.

#### 4.5.4.7 Solapamiento de Nicho

El índice de solapamiento de nicho mostró el menor grado de solapamiento en Reserva Natura ( $S_n = 0,027$ ) (Tabla 4.17), lo que reflejaría delimitaciones más claras de hábitat. En el extremo opuesto, Finca Sierra Serena produjo el valor de solapamiento más alto,  $S_n = 0,061$ , indicando que de las cuatro localidades analizadas, es donde se encontraría la comunidad de coleópteros con más solapamiento de nichos y mayor probabilidad de competencia de recursos.

#### 4.5.4.8 Especialización

Este índice indica la especialización global en la red y encontramos que los la comunidad de crisomélidos de Reserva Domitila estaría asociada en general a un mayor índice de especialización ( $E = 0,624$ ), mientras que la red de interacciones de Reserva Natura representaría el menor grado de especialización ( $E = 0,379$ ) (Tabla 4.17).

## 4.6 Correlaciones ecológicas de la diversidad de crisomélidos

### 4.6.1 Matrices de disimilitud de variables ecológicas

#### 4.6.1.1 Distancias geográficas

La distancia geográfica calculada entre localidades, y expresada en grados geográficos sexagesimales, se muestra en la Tabla 4.18. Las localidades más próximas fueron Reserva Natura y Reserva Domitila ( $d_{\text{geográfica}} = 0,571$ ), y las más alejadas Reserva Miraflores y Finca Sierra Serena ( $d_{\text{geográfica}} = 2,096$ ).

Tabla 4.18 Distancias geográficas entre localidades de muestreo, expresadas en grados sexagesimales. La distancia de los sitios más próximos se muestra en cursivas, mientras que la de los sitios más lejanos se muestra en negrita.

Distancia Geográfica			
	R. Natura	R. Domitila	F. S. Serena
R. Miraflores	1,334	1,524	<b>2,096</b>
R. Natura	-	<i>0,571</i>	1,137
R. Domitila	-	-	0,617

#### 4.6.1.2 Distancias florísticas

Los catálogos florísticos de los cuatro sitios de muestreo (Apéndice VII) mostraron distinto número de especies registradas por localidad. Así, en la Reserva Miraflores-Moropotente se registraron 97 especies, 309 en R. Natura, 207 en R. Domitila, y en F. Sierra Serena se contabilizaron 122. En total, entre las cuatro localidades se obtuvieron 524 especies. Estos listados, aunque preliminares, permitieron calcular la disimilitud en la composición florística entre cada par de localidades según una estima basada en el coeficiente de diversidad beta de Sørensen (Tabla 4.19). Según estos datos, las localidades más semejantes en cuanto a vegetación serían Reserva Natura y Reserva Domitila ( $d_{\text{flora}} = 0,535$ ), mientras que las más divergentes en composición florística serían las Reservas de Miraflores y Domitila ( $d_{\text{flora}} = 0,921$ ).

Tabla 4.19 Matriz de distancias florísticas según el coeficiente de disimilitud de Sørensen. La mayor diferencia florística entre sitios se muestra en negrita, mientras que la composición florística más semejante se muestra en cursivas.

<i>Disimilitud beta de composición florística</i>			
	R. Natura	R. Domitila	F. S. Serena
R. Miraflores	0,872	<b>0,921</b>	0,918
R. Natura	-	<i>0,535</i>	0,796
R. Domitila	-	-	0,739

#### 4.6.1.3 Distancias basadas en características ambientales

##### 4.6.1.3.1 Ordenación de las variables ambientales y el efecto puro sobre la composición de comunidades de crisomélidos

La ordenación de las 24 variables analizadas usando PCA sobre la matriz de correlación de las variables ambientales indicó que los componentes PC1, PC2 y PC3 explicaban el 61,33 %, 20,11 % y 8,24 % de la varianza de los datos, respectivamente, reteniendo en conjunto el 89,68 % de varianza (Figura 4.23A). A través de la visualización de la distribución de los eigenvalores, se identificó que los tres primeros componentes además produjeron valores mayores a la media general, siendo un criterio complementario para la selección de los tres primeros componentes en los siguientes análisis de correlación (Figura 4.23B). El análisis de los dos primeros componentes, que explican el 81,4 % de la varianza de las variables incluidas en este estudio, incluyó como variables más influyentes (Figura 4.23C) la aridez ambiental, la precipitación anual (Bio12), la precipitación del mes más seco (Bio14), la precipitación estacional (Bio15), y la precipitación del cuatrimestre más seco (Bio17).

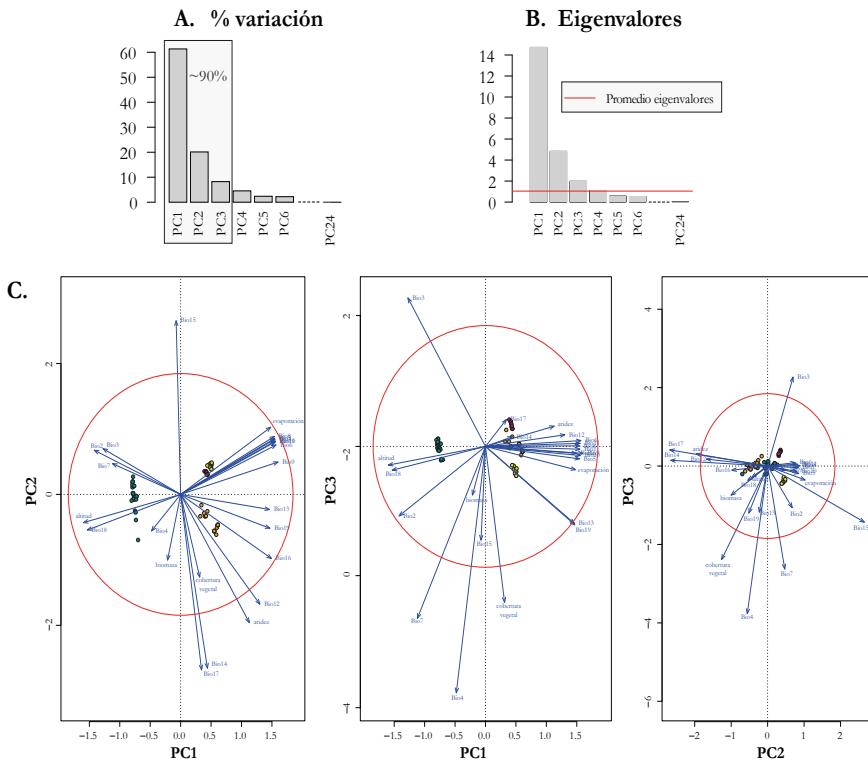


Figura 4.23 Análisis de componentes principales (PCA) de datos de correlación de 24 variables ambientales. (A) Varianza explicada por los seis primeros componentes (PC1-PC6). (B) Valor acumulado de los eigenvalores por cada componente. (C) Resultados de PCA para las combinaciones de componentes PCA1, PCA2 y PCA3. Los vectores que sobrepasan el círculo de equilibrio corresponden a las variables que más contribuyen a la varianza. Códigos de color de localidades: turquesa = R. Miraflores-Moropotente; amarillo = R. Natura; rosado = R. Domitila; anaranjado = F. Sierra Serena. Variables de temperatura (Ta): Bio1 = Ta media anual; Bio2 = rango medio diurno; Bio3 = isothermalidad; Bio4 = Ta estacional; Bio5 = Ta máxima del mes más cálido; Bio6 = Ta mínima del mes más frío; Bio7 = rango anual; Bio8 = Ta media cuatrimestre más húmedo; Bio9 = Ta media cuatrimestre más seco; Bio10 = Ta media cuatrimestre más cálido; y Bio11 = Ta media cuatrimestre más frío. Variables de precipitación (Pr): Bio12 = Pr anual; Bio13 = Pr mes más húmedo; Bio14 = Pr mes más seco; Bio15 = Pr estacional; Bio16 = Pr cuatrimestre más húmedo; Bio17 = Pr cuatrimestre más seco; Bio18 = Pr cuatrimestre más cálido; y Bio19 = Pr cuatrimestre más frío.

De forma adicional, a través de CCA se identificó el *efecto puro* de las variables, agrupadas en tres categorías: (i) atributos abióticos (precipitación, temperatura y aridez ambiental); (ii) atributos ecosistémicos (biomasa, evapotranspiración potencial e índice de cobertura vegetal) y (iii) altitud sobre el nivel del mar. En la Tabla 4.20 se especifican los valores obtenidos del análisis de correspondencia canónico.

## Resultados

Tabla 4.20 Variables ambientales incluidas en el análisis CCA, agrupadas según atributos abióticos, ecosistémicos y altitud. Se detallan los resultados de ANOVA y en negrita se destacan aquellas variables que resultaron significativas.

Variables	Chi-cuadrado	F	Pr > F
<i>Atributos abióticos</i>	6,87	1,0861	0,901
Precipitación			
anual	0,6436	1,9483	<b>0,001***</b>
mes más húmedo	0,4042	1,2238	0,521
mes más seco	0,4071	1,2323	0,515
estacional	0,315	0,9537	0,877
cuatrimestre más húmedo	0,3819	1,156	0,546
cuatrimestre más seco	0,5307	1,6067	<b>0,017*</b>
cuatrimestre más cálido	0,3974	1,2031	0,364
cuatrimestre más frío	0,2735	0,8278	0,904
Temperatura*			
media anual	0,5724	1,7292	<b>0,004**</b>
rango medio diurno	0,4248	1,2831	0,461
isotermalidad	0,3954	1,1945	0,638
estacional	0,4268	1,2894	0,376
máxima del mes más cálido	0,3693	1,1155	0,644
mínima del mes más frío	0,3947	1,1923	0,492
media del cuatrimestre más húmedo	0,39	1,1782	0,509
media del cuatrimestre más seco	0,3161	0,955	0,598
media del cuatrimestre más cálido	0,2973	0,898	0,6
media del cuatrimestre más frío	0,3894	1,1763	0,505
Aridez	0,6359	1,8882	<b>0,001***</b>
<i>Atributos ecosistémicos</i>	1,5012	1,5	<b>0,006**</b>
biomasa	0,4172	1,2262	0,492
cobertura vegetal	0,5221	1,5422	<b>0,029*</b>
evapotranspiración	0,5631	1,6664	<b>0,002**</b>
Altitud	0,5925	1,7557	<b>0,001***</b>

\* No incluye valores de rango de temperatura anual

### *Atributos abióticos*

Al analizar los atributos abióticos, las 20 variables en conjunto explicaron el 31,44 % de la varianza de los datos ( $P = 0,898$ ) y los ocho primeros ejes fueron significativos ( $P_{CCA1} = 0,001$ ;  $P_{CCA2} = 0,016$ ;  $P_{CCA3} = 0,004$ ;  $P_{CCA4} = 0,003$ ;  $P_{CCA5} = 0,005$ ;  $P_{CCA6} = 0,012$ ;  $P_{CCA7} = 0,041$ ;  $P_{CCA8} = 0,032$ ), explicando el 19,74 % de la variación total. Considerando sólo las variables de precipitación, las ocho variables implicadas explicaron el 15,35 % de la varianza de los datos ( $P = 0,147$ ), siendo la *precipitación anual*

y la *precipitación del cuatrimestre más seco*, las variables con influencia significativa respecto a la composición de las comunidades de crisomélidos en las cuatro localidades de bosque seco (Tabla 4.20). Los cuatro primeros ejes canónicos fueron significativos ( $P_{CCA1,CCA2} = 0,001$ ;  $P_{CCA3} = 0,002$ ;  $P_{CCA4} = 0,003$ ), explicando el 10,49 % de la variación total. En el caso de la temperatura, las once variables explicaron el 18,2 % de la varianza de los datos ( $P = 0,849$ ), siendo la *temperatura media anual* la variable que mostró asociación con las comunidades de crisomélidos de bosque seco ( $P = 0,004$ ). Los cuatro primeros ejes canónicos fueron significativos ( $P_{CCA1,CCA2} = 0,001$ ;  $P_{CCA3} = 0,002$ ;  $P_{CCA4} = 0,006$ ) y explicaron el 10,21 % de la variación total. Finalmente, la aridez ambiental explicó el 2,91 % de la varianza y fue significativa respecto a la composición de las comunidades de crisomélidos ( $P = 0,001$ ) (Tabla 4.20).

#### *Atributos ecosistémicos*

Los atributos ecosistémicos analizados—biomasa, cobertura vegetal, y evapotranspiración potencial—explicaron el 6,87 % de la varianza de los datos, siendo altamente significativos para explicar la composición de las comunidades de crisomélidos (*chi-cuadrado* = 1,5012 [3 grados de libertad];  $P = 0,006$ ) (Tabla 4.20). Los dos primeros ejes fueron significativos ( $P_{CCA1} = 0,001$ ;  $P_{CCA2} = 0,015$ ) y explicaron el 4,98 % de la variación total. La varianza explicada exclusivamente por la biomasa fue del 1,91 % de la varianza total, mientras que la varianza explicada expresamente por la cobertura vegetal fue del 2,39 % y además significativa (*chi-cuadrado* = 0,5221 [1 grado de libertad];  $P = 0,029$ ). Por último, la evapotranspiración potencial explicó el 2,58 % de la varianza de los datos, siendo altamente significativa para la matriz de respuesta (*chi-cuadrado* = 0,5631 [1 grado de libertad];  $P = 0,004$ ).

#### *Altitud*

El muestreo se realizó en relictos de bosque seco a diferente altitud, tanto en zona montañosa como a nivel del mar, y el análisis CCA mostró que la varianza explicada por esta variable fue del 2,71 %, siendo altamente significativa para explicar la composición de las comunidades de crisomélidos en las cuatro localidades (*chi-cuadrado* = 0,5925 [1 grado de libertad];  $P = 0,001$ ).

#### 4.6.1.3.2 Cálculo de distancia ambiental de localidades de bosque seco

Previamente se identificó que necesitábamos tres componentes para explicar el 90 % de la varianza de los datos de diversidad ambiental en los puntos de muestreo. Al proyectar los eigenvalores de los tres primeros componentes en un espacio tridimensional definido por estos tres componentes, las cuatro localidades ocuparon zonas del espacio bien diferenciadas (Figura 4.24A). Las Reservas Natura y Domitila quedaron proyectadas en una zona más restringida del espacio, mientras que los puntos que correspondían a R. Miraflores-Moropotente y a Finca Sierra Serena aparecieron más dispersos. Los centroides (Figura 4.24B) permitieron calcular la distancia ambiental en el espacio entre cada par de localidades, produciendo estimas de distancia consistentes con la percepción de diferencias entre localidades. Así, las localidades más diferentes en cuanto a precipitación, temperatura, cobertura vegetal, altitud, evapotranspiración, aridez ambiental y biomasa fueron Reserva Miraflores y Reserva Natura ( $d_{\text{ecológica}} = 1,38$ ). Por el contrario, y como era esperable, las localidades más semejantes ecológicamente, Reserva Natura y Reserva Domitila, resultaron en la distancia ambiental más reducida ( $d_{\text{ecológica}} = 0,72$ ). La Tabla 4.21 detalla las distancias ambientales obtenidas para cada par de localidades.

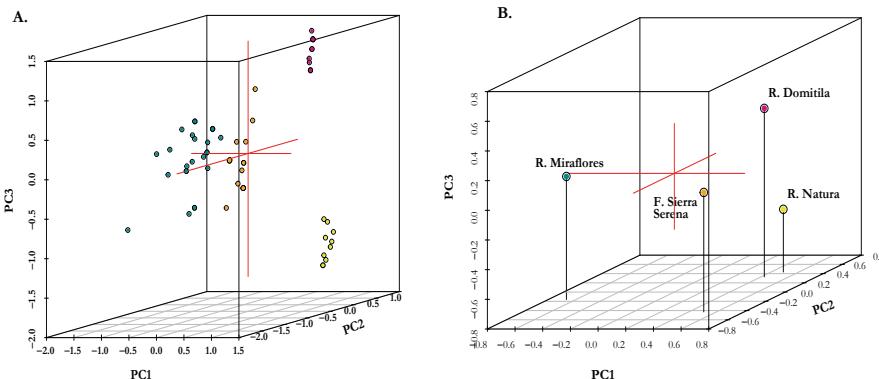


Figura 4.24 Proyección en tres dimensiones de los eigenvalores de los tres primeros componentes principales resultantes del PCA de variables ambientales de las cuatro localidades de bosque seco de Nicaragua analizadas en este estudio. (A) Posición de los 65 puntos georeferenciados de las cuatro localidades. (B) Posición de los centroides (puntos medios) de cada localidad. Las distancias entre centroides en el espacio definido por las componentes principales sirvieron para calcular las distancias ambientales entre localidades. Códigos de color de las localidades: turquesa = R. Miraflores-Moropotente; amarillo = R. Natura; rosado = R. Domitila; anaranjado = F. Sierra Serena.

Tabla 4.21 Distancias ambientales, calculadas a partir de análisis de componentes principales (PCA) utilizando información de precipitación, temperatura, porcentaje de cobertura vegetal, altitud, evapotranspiración anual, aridez media anual y biomasa. La distancia de los sitios más semejantes según este criterio se muestra en cursivas, mientras que la de los sitios más divergentes se muestra en negrita.

<i>Distancia Ambiental</i>			
	R. Natura	R. Domitila	F. S. Serena
R. Miraflores	<b>1,3824147</b>	1,2878885	1,3375449
R. Natura	-	<i>0,7240666</i>	0,9457855
R. Domitila	-	-	0,831883

#### 4.6.2 Efecto de los procesos ecológicos sobre la estructura de la comunidad

Para cada localidad se obtuvo información sobre diferencias en su posición geográfica, en composición florística, así como en sus características ambientales, y en esta sección se analizó si estos factores tenían alguna influencia sobre la composición de las comunidades de crisomélidos en el bosque seco de Nicaragua. Los resultados del análisis MRM (Tabla 4.22), testando las cuatro hipótesis propuestas (sección 3.5.3), resaltó que el modelo general con todas las variables explicaría el 92,15 % de la variación, correspondiendo el aporte más significativo a las diferencias en composición florística ( $P = 0,0288$ ) entre localidades (Tabla 4.22). El modelo anidado 1 explicó casi la misma cantidad de varianza ( $R^2$  ajustada = 0,9168), a pesar de la exclusión de la distancia ambiental, y con un aporte muy significativo de las diferencias de composición florística entre localidades ( $P = 0,0082$ ). El modelo anidado 2, que considera la interacción entre distancias geográfica y ambiental, tuvo bajo poder explicativo (7,71 % de la varianza) y no fue significativo (Tabla 4.22). Finalmente, el modelo 3, que analiza la interacción de la composición florística y los atributos ambientales de las localidades, explicó el 81,95 % de la varianza, de nuevo con un aporte significativo debido a diferencias en la comunidad de plantas ( $P = 0,0387$ ).

---

Resultados

---

Tabla 4.22 Análisis de regresión múltiple sobre matrices de distancia, evaluando la influencia de variables individuales sobre las diferencias en la composición de las comunidades de crisomélidos en el bosque seco de Nicaragua. Se reportan los coeficientes, error estándar, *P*, así como R<sup>2</sup> y R<sup>2</sup> ajustada de los modelos. Variables con un efecto condicional significativo se destacan en negrita.

Modelo	Variables	Coeficientes	Error estándar	<i>P</i>	R <sup>2</sup> Modelo	R <sup>2</sup> ajustada Modelo
Modelo completo = D <sub>insectos</sub> ~ D <sub>geográfica</sub> + D <sub>florística</sub> + D <sub>ambiental</sub>					0,9686	0,9215
	D <sub>geográfica</sub>	-0,1027	0,0464	0,1573		
	D <sub>florística</sub>	1,1681	0,2025	<b>0,0288*</b>		
	D <sub>ambiental</sub>	-0,1225	0,1128	0,3909		
	Intercept	-0,0080	0,0909	0,9377		
Modelo anidado 1 = D <sub>insectos</sub> ~ D <sub>geográfica</sub> + D <sub>florística</sub>					0,9501	0,9168
	D <sub>geográfica</sub>	-0,1265	0,0421	0,0573		
	D <sub>florística</sub>	1,0341	0,1653	<b>0,0082**</b>		
	Intercept	-0,0051	0,0935	0,9596		
Modelo anidado 2 = D <sub>insectos</sub> ~ D <sub>geográfica</sub> + D <sub>ambiental</sub>					0,4462	0,0771
	D <sub>geográfica</sub>	-0,0222	0,1517	0,8930		
	D <sub>ambiental</sub>	0,2739	0,3066	0,4370		
	Intercept	0,3951	0,1993	0,1420		
Modelo anidado 3 = D <sub>insectos</sub> ~ D <sub>florística</sub> + D <sub>ambiental</sub>					0,8917	0,8195
	D <sub>florística</sub>	1,0333	0,2929	<b>0,0387*</b>		
	D <sub>ambiental</sub>	-0,2407	0,1506	0,2082		
	Intercept	0,1031	0,1149	0,4355		



# **DISCUSIÓN**



## 5.1 Eliminación del impedimento taxonómico en estudios de biodiversidad a gran escala

El reto más grande de los estudios de diversidad en áreas tropicales es, considerando la enorme diversidad de organismos que allí viven, identificarlas y catalogarlas en su medio natural. Esta dificultad además se incrementa teniendo en cuenta la creciente escasez de taxónomos, así como la falta de literatura especializada, ocasionando que una gran cantidad de grupos de organismos, especialmente aquéllos de zonas megadiversas, permanezcan aún prácticamente desconocidos para la Ciencia. Estos obstáculos son aún más acuciantes al intentar estimar la diversidad de interacciones entre especies (Gómez-Zurita *et al.* 2016). Existen varias alternativas que se han propuesto para superar aspectos de esta problemática y así acelerar el conocimiento y catalogación de las especies, como por ejemplo la utilización de los códigos de barra de ADN (Hebert *et al.* 2003). Sin embargo todas presentan limitaciones, especialmente en el contexto de estudios en áreas tropicales, donde una aplicación como el *barcoding* está comprometida por el incompleto conocimiento de la diversidad y por la casi total inexistencia de bases de datos de referencia para realizar identificaciones. Para superar algunas de estas limitaciones, en nuestro trabajo en Nicaragua seguimos una metodología para evaluar de forma rápida la diversidad biológica (*sensu* Oliver & Beattie, 1996), que utiliza herramientas moleculares y métodos filogenéticos, tanto para estimar la riqueza de especies como para inferir sus interacciones (Gómez-Zurita *et al.* 2016). Con una aproximación de este tipo, en relativamente poco tiempo, logramos documentar la diversidad de las comunidades de crisomélidos y de sus plantas hospederas en el bosque seco tropical estacional de Nicaragua. Pero además, el enfoque simultáneo sobre el inventario de crisomélidos y sus interacciones ha permitido conocer no sólo la cantidad de especies involucradas en ambos niveles tróficos, sino también obtener una visión más amplia sobre la relación que mantienen los coleópteros con sus plantas hospederas en este bioma.

### 5.1.1 Aportación de los métodos moleculares a la estimación de especies en un grupo megadiverso en los trópicos

En nuestro estudio, aprovechamos varias ventajas de la utilización de herramientas moleculares para delimitar especies, concretamente con los métodos GMYC y PTP. De forma destacada, estos métodos no necesitaron ningún conocimiento previo sobre la taxonomía de Cassidinae y Galerucinae *s. l.*, ni fueron necesarias hipótesis previas de agrupación de individuos, como es el caso de otros métodos como BP&P (Rannala & Yang 2003; Yang & Rannala 2010). Tampoco fue necesario fijar un umbral de divergencia, como en el caso de métodos que analizan discontinuidades a partir de distancias genéticas (*barcoding gap*; Puillandre *et al.*, 2012). Por lo tanto, GMYC y PTP son ideales para grupos taxonómicos poco conocidos, especialmente en estudios a gran escala de biodiversidad tropical o cuando se trata de grupos con especies muy similares morfológicamente (Pons *et al.* 2006; Monaghan *et al.* 2009; Tänzler *et al.* 2012). Otra ventaja práctica de estos métodos, es que no dependen de datos de múltiples *loci*, particularmente marcadores nucleares. Estos son difíciles de implementar en estudios a gran escala, especialmente por la falta de cebadores que amplifiquen de forma consistente en especies taxonómicamente divergentes, así como por problemas relacionados con intrones y parálogos. Con un enfoque simple y robusto, como la adquisición de secuencias del gen mitocondrial *cox1*, se pudo avanzar una propuesta sólida de especies, con una inversión de tiempo y recursos compatible con la idea de rapidez que queríamos trasladar a este estudio. Además, al contar con una evaluación independiente de las especies putativas presentes en nuestra muestra a partir de las morfoespecies, pudimos comparar de algún modo el desempeño de los métodos de delimitación de especies (Papadopoulou *et al.* 2013), así como explotar su utilidad para asociar formas juveniles con individuos adultos (Ahrens *et al.* 2007). En cualquier caso, los resultados a partir de un único *locus* deben ser considerados siempre como hipótesis y el estatus taxonómico de las muestras debería corroborarse con datos adicionales, tales como (i) genes del genoma nuclear (Moore 1995) y (ii) análisis de caracteres morfológicos, complementados con (iii) datos de distribución geográfica.

La contribución fundamental de esta investigación al conocimiento de la diversidad de Chrysomelidae en el BSTE radica en dos aspectos muy importantes. Primero, el descubrimiento del alto número de especies que coexisten, a partir de un muestreo representativo de las localidades de

interés, confirma la importancia de este bioma en el mantenimiento de la biodiversidad. Nuestros resultados nos permiten afirmar que los remanentes de BSTE de Nicaragua poseen una alta diversidad de crisomélidos que en buena parte era desconocida. El segundo aporte de esta investigación es más bien metodológico. Nuestros resultados demostraron que los protocolos propuestos son eficientes para inventariar especies en biomas con alta biodiversidad a gran escala y en un tiempo reducido. La posibilidad de trasladar estos protocolos a cualquier otro bioma, estudiando cualquier grupo de organismos, supondría acelerar de forma considerable el conocimiento sobre la diversidad biológica de forma precisa y eficiente. Además, es importante destacar que la disponibilidad de apenas un conocimiento taxonómico básico sobre la diversidad de crisomélidos en Nicaragua, dio más relevancia a nuestra estrategia de extracción de ADN sin destruir los especímenes estudiados. Este procedimiento permitirá que, en un futuro, los ejemplares puedan ser identificados por taxónomos especialistas de cada grupo, y con certeza algunos representarán especies nuevas para la Ciencia.

#### 5.1.1.1 Consistencia entre hipótesis independientes de especies

La delimitación de especies con datos moleculares no siempre coincidió con la separación de los ejemplares en morfoespecies. La concordancia fue de un 83-87 % en el caso de Cassidinae y 86-93 % para Galerucinae *s. l.*. De los treinta casos de incongruencias observados para ambos, encontramos tan sólo dos casos en que los métodos moleculares agrupaban morfoespecies, mientras que el resto de incongruencias se debieron a separación de morfoespecies en dos o más especies putativas, dependiendo de la estrategia aplicada (Tablas 4.4 y 5.6). El método PTP fue más congruente respecto a la evaluación de morfoespecies en la mayoría de estos casos, aunque también se observaron algunas discrepancias idénticas a las observadas con GMYC (Figuras 4.3 y 4.4). Nuestro estudio no es el único en el que se han encontrado resultados mixtos de congruencias e inconsistencias entre morfoespecies y especies putativas GMYC/PTP, también entre Coleoptera y otros grupos de insectos, y se han planteado diferentes explicaciones a la falta de consenso entre métodos (Hendrich *et al.* 2010; Astrin *et al.* 2012; Papadopoulou *et al.* 2013; Talavera *et al.* 2013; Kekkonen *et al.* 2015; Toussaint *et al.* 2015; Nguyen & Gómez-Zurita 2016). Las causas para este tipo de discrepancias pueden ser múltiples, y no son excluyentes. Respecto a los casos en que se agruparon morfoespecies (uno en alticinos y uno en galerucinos) (Tabla 4.6), podría deberse a que se trate de especies jóvenes de divergencia

reciente, las cuales tienden a presentar límites difusos incluso para un marcador de evolución rápida debido a una segregación incompleta de haplotipos, o incluso a la posibilidad de flujo génico entre ellas (Maddison & Knowles 2006). Por otro lado, las incongruencias por separación de morfoespecies en más de una especie mitocondrial podrían deberse al hecho de que las entidades a delimitar no fueran monofiléticas para este marcador (Talavera *et al.* 2013), como sospechamos es el caso de uno de los cassidinos, identificado como *Charidotella sexpunctata* (Figura 4.3) y mencionado previamente en el apartado 4.2.2.1. Los árboles de genes no siempre reflejan el árbol de especies (Pamilo & Nei 1988; Doyle 1992), y el ADN mitocondrial puede presentar limitaciones para reflejar la monofilia de las especies, sobre todo en insectos, principalmente debido a transferencia horizontal, separación incompleta de linajes e introgresiones (Dowling & Secor 1997; Funk & Omland 2003), siendo necesario en estos casos corroborar los resultados, por ejemplo analizando algún gen nuclear.

Un 30 % de las incongruencias entre inferencias basadas en GMYC y delimitación previa en morfoespecies fueron casos que podrían relacionarse con alopatría, generalmente separando un grupo de haplotipos observados en localidades del norte o sur de Nicaragua respecto al resto de localidades (Tablas 4.4 y 4.6). De hecho, se ha descrito que GMYC puede separar entidades cuando existe fuerte estructura poblacional en una especie (Lohse 2009; aunque ver Papadopoulou *et al.* 2009). Por ejemplo, en el estudio de Hamilton *et al.* (2011), el método GMYC separó especies putativas de araña según su proveniencia geográfica, del norte o del sur de Texas en Estados Unidos, y esto se atribuyó a una fragmentación del hábitat durante el Pleistoceno sin repercusiones taxonómicas. La presencia de especies crípticas también podría determinar discrepancias de este tipo (Sites & Marshall 2004; Coston *et al.* 2011; Naciri & Linder 2015). Por ejemplo, no descartamos que éste fuera el caso de los alticinos identificados como *Disonycha sp2* (morfoespecie 18), que muestran una subestructura con soporte mayor al 82 % (Figura 4.4). Se ha demostrado que *cox1* es capaz de distinguir especies crípticas en diferentes taxones, como arañas (Hamilton *et al.* 2011); avispas (Gebiola *et al.* 2012); colémbolos (Katz *et al.* 2015); galerucinos (Hambäck *et al.* 2013); mariposas (Hebert *et al.* 2004; Dincă *et al.* 2011); moluscos (Modica *et al.* 2014); o rotíferos (Birky *et al.* 2011). En algunos casos, el uso de múltiples líneas de evidencia en un enfoque taxonómico integrativo, ha confirmado que estas potenciales especies crípticas son diferentes especies y se ha propuesto que se les asigne el estatus de especie (por ejemplo: Birky *et al.* 2011; Dincă *et al.* 2011).

Es interesante destacar que el 77 % de las incongruencias entre morfoespecies y las especies putativas delimitadas a partir de *cox1* en nuestro conjunto de datos, se debieron a la presencia de un haplotipo divergente (de los cuales el 83 % fueron observados en un solo individuo). En estos casos, uno o más de los métodos de delimitación de especies aplicados los consideraron suficientemente divergentes como para separar una morfoespecie en dos o más especies putativas. Este resultado es llamativo en tanto que estos haplotipos presentaron una divergencia (esto es, una longitud de rama) suficientemente alta como para situarse tras el umbral de transición entre especiación y coalescencia del modelo GMYC, mientras que en PTP el desbalance del número de individuos por especie pudo influir en su identificación como una especie distinta (Zhang *et al.* 2013). Por otro lado, en vista de que GMYC y PTP mostraron el mismo desempeño en 15 de estos casos de haplotipos divergentes, y considerando que cada método se fundamenta en suposiciones teóricas distintas, existe la posibilidad de que algunas de las incongruencias encontradas no estén relacionadas exclusivamente con el desempeño de los modelos, sino que correspondan a casos de especies crípticas. Sin embargo, somos más de la opinión de que estos haplotipos divergentes pueden representar en realidad casos de separación incompleta de linajes respecto a especies emparentadas, ausentes en la muestra. Esta circunstancia permanecería indetectable en un estudio de faunas regionales como el presentado aquí, al no incluir necesariamente las especies hermanas, distribuidas en otra región. En otros estudios similares, a nivel local o regional, se observó el mismo patrón, como por ejemplo en el caso del análisis de la diversidad de crisomélidos en una localidad del sur de Vietnam (Nguyen & Gómez-Zurita 2016). Por otro lado, este patrón no se observó en el caso de los Eumolpinae de Nueva Caledonia (Papadopoulou *et al.* 2013), siendo también un análisis regional y a escala muy parecida a éste, pero donde, a diferencia del estudio en bosque seco de Nicaragua, sí que se incluían todas las especies del clado, al tratarse de una o varias radiaciones *in situ* en la isla (Papadopoulou *et al.* 2013).

Tomando en cuenta estos efectos que podrían causar separación o agrupamiento de especies putativas, y considerando que el marcador utilizado ofrecería suficiente resolución incluso para la detección de especies crípticas (Hebert *et al.* 2004), nuestros resultados basados en la delimitación objetiva de especies en principio no subestimarián la diversidad. No obstante, es necesario considerar los factores mencionados previamente (y otros) que en realidad sobreestimarían el número de especies. Sin embargo, aunque el número de especies putativas delimitadas con *cox1* siempre fue mayor a las morfoespecies en ambas subfamilias

estudiadas, considerando la marcada coherencia entre estimas independientes del número de especies, también la congruencia entre métodos objetivos de delimitación de especies utilizando criterios filogenéticos, y la posibilidad de explicar algunas discrepancias a favor de la inferencia molecular, creemos que nuestras estimas de diversidad son altamente defendibles.

### 5.1.1.2 Errores metodológicos en la delimitación de especies

Hasta ahora hemos considerado que las inconsistencias entre especies delimitadas a partir de *cox1* y la diversidad morfológica observada en la muestra podrían deberse a procesos biológicos. Pero eso no descarta que algunas potenciales causas de discrepancias en la delimitación de especies se deban a errores metodológicos, en particular relacionados con la propia inferencia filogenética. De hecho, varios estudios ya han manifestado que cualquier método, sea basado en distancias genéticas o en árboles filogenéticos, es susceptible de introducir potenciales sesgos, sea por los supuestos en que se basan los métodos, o por los parámetros que se utilizan en su aplicación (ver la revisión de Carstens *et al.* 2013). En el caso de GMYC, se ha demostrado tanto con ejemplos empíricos (Talavera *et al.* 2013) como con simulaciones (Fujisawa & Barraclough 2013), que su rendimiento en general es robusto a una amplia gama de algoritmos y prácticas para la inferencia filogenética, siendo esto consistente con la congruencia de resultados observada al analizar las diferentes estrategias utilizadas en Cassidinae y Galerucinae s. l. (Tablas 4.3 y 4.5). Sin embargo, la precisión de la delimitación puede verse afectada por algunas características intrínsecas del conjunto de datos o de las especies de interés, por ejemplo debido al tamaño efectivo poblacional promedio en relación con el tiempo de divergencia entre especies (Fujisawa & Barraclough 2013) o por aspectos relacionados con la tasa de especiación (Esselstyn *et al.* 2012). Aunque se haya sugerido que, a la hora de interpretar los resultados de GMYC, deberían considerarse los tamaños efectivos poblacionales (Esselstyn *et al.* 2012), no es factible aplicar esta idea a estudios de biodiversidad a gran escala. En cualquier caso, estos sesgos intrínsecos del método inciden sobre la importancia de comparar aproximaciones alternativas para establecer hipótesis de especies, como hicimos en nuestro estudio. De igual forma, en el caso de PTP se ha manifestado que puede ser sensible a diferencias en diversidad genética intraespecífica a lo largo de la filogenia (Kapli *et al.* 2016), observándose inclusive entre especies hermanas, tanto por diferencias reales en demografía o estructura genética, como por la heterogeneidad del muestreo (Zhang *et al.* 2013).

Un factor importante que puede afectar a la delimitación de especies en el caso de GMYC, pero no en PTP, es la imposición de trabajar con árboles ultramétricos. La corrección de la heterogeneidad de las tasas para producir árboles ultramétricos, puede introducir sesgos en la estima de especies si la longitud de las ramas varía notablemente al hacer dicha corrección (Tang *et al.* 2014). En nuestro caso, como la congruencia entre GMYC (que requiere árboles ultramétricos) y PTP (que no los requiere) es elevada, y considerando que los resultados de GMYC han sido consistentes utilizando diferentes estrategias para obtener árboles ultramétricos (Tablas 4.3 y 4.5), la transformación analítica de los árboles no resulta en principio tan preocupante. En buena parte, esta congruencia podría explicarse porque los datos de *cox1* en el rango taxonómico evaluado (subfamilia) y para Chrysomelidae, probablemente se desvían poco del reloj molecular, o que esta variación, en caso de producirse, ocurre en zonas del árbol que no afectan a la distorsión analítica de las ramas en la zona próxima al umbral que determina los procesos de coalescencia. En todo caso, la alta congruencia entre los dos métodos, que aplicamos precisamente porque diferentes estrategias podrían generar diferentes resultados, sugiere que nuestras estimas de especies putativas no se vieron afectadas por los sesgos relacionados con la inferencia filogenética. Sin embargo, esto no impide que existan potenciales sesgos relacionados con los procesos biológicos de las especies, así como las limitaciones al usar ADN mitocondrial, expuestos previamente.

### 5.1.2 Contribución de las herramientas moleculares para desvelar interacciones insecto-planta en los trópicos

La extraordinaria riqueza de especies de insectos que se alimentan de plantas es una característica distintiva de la biodiversidad terrestre. Sin embargo, la dificultad y potenciales sesgos para establecer asociaciones precisas entre insectos y plantas por métodos tradicionales, han retardado el conocimiento de la forma en que estas especies interactúan. Para el estudio de estas interacciones, nosotros seguimos la aproximación de Jurado-Rivera *et al.* (2009), pero en esta ocasión, aplicando un procedimiento automático para asignar la taxonomía a secuencias de dieta problema, logrando analizar grandes cantidades de datos de forma automática y simultaneando algunos procesos. Además, a diferencia de la mayoría de estudios realizados hasta la fecha, disponíamos de una base de datos de flora de las mismas zonas de muestreo (Papadopoulou *et al.*

2015), lo que constituía *a priori* una circunstancia deseable para mejorar la precisión de las asignaciones.

Hasta hace relativamente poco tiempo, la detección molecular de plantas hospederas ha sido empleada en un número limitado de estudios, y el más extenso publicado hasta el momento, específicamente con crisomélidos, incluye 76 especies de Chrysomelinae asociadas con 13 familias botánicas en Australia (Jurado-Rivera *et al.* 2009). En nuestro caso, obtuvimos una cantidad de datos sin precedentes (1.133 fragmentos cloroplásticos, ó 861 adoptando los criterios más conservadores explicados en el apartado 4.5.3) y conseguimos relacionar 257 especies putativas de crisomélidos con 188 especies vegetales. Pensamos que este estudio refleja la utilidad de los métodos moleculares para obtener inferencias de plantas hospederas en coleópteros herbívoros a gran escala, al permitir que de forma relativamente rápida se pueda describir la estructura de las interacciones tróficas en las localidades estudiadas, y simplificadas en las Figuras 4.10-4.20.

Otra contribución importante de nuestra investigación es que nos permitió solventar en parte el problema de la falta de información básica de la estructura de las comunidades de insectos herbívoros en un bioma tan amenazado como es el BSTE. El hecho de conocer, y de forma simultánea, las especies de insectos herbívoros y los recursos vegetales imprescindibles para su subsistencia, sin duda abre todo un nuevo abanico de posibilidades para estudiar relaciones tróficas a gran escala en los trópicos (Gómez-Zurita *et al.* 2016). Este apoyo a la investigación de la biodiversidad en los trópicos se puede ver aún más reforzado si se aceleran algunos procesos que en nuestro caso aún aplicamos de forma individualizada para cada muestra, por ejemplo, mediante protocolos de *metabarcoding* (Yu *et al.* 2012; Ji *et al.* 2013; Kajtoch 2014; Beng *et al.* 2016). Algunos campos de la Ecología y también de la biología de la conservación se benefician del conocimiento de la estructura de las redes tróficas y los potenciales efectos cuando son alteradas (especialmente por influencia humana). Por ejemplo, las medidas de conservación y protección de áreas naturales estarían mejor sustentadas si se comprende la verdadera dimensión de las redes, su funcionamiento y los factores que influyen en su equilibrio.

### 5.1.2.1 La importancia de las bases de datos de referencia

Uno de los objetivos de la taxonomía molecular es poder asignar un nombre a un organismo a partir de secuencias de ADN y por comparación con una referencia que vincule información de secuencia y

taxonomía. Factores importantes que afectan a la exactitud y precisión de dicha asignación respecto a esa referencia son (i) la representatividad taxonómica de las regiones genómicas de interés en repositorios públicos como GenBank o BOLD (Jinbo *et al.* 2011), y (ii) el control de la calidad de las anotaciones taxonómicas. Si la representatividad de los taxones no es exhaustiva, probablemente los fragmentos a comparar recibirán una identificación imprecisa o errónea (en el caso de la utilización de métodos fenéticos), condicionada por lo que esté disponible para esa comparación y seleccionando lo más parecido. Esto es algo altamente probable en el caso de estudios en ambientes tropicales donde mucha de la biodiversidad es desconocida y dependen de la representatividad de taxones en los repositorios públicos, generalmente de otras zonas geográficas. Algunos estudios previos sobre interacciones insecto-planta usando métodos moleculares, compararon los fragmentos cloroplásticos contra los repositorios de GenBank (Jurado-Rivera *et al.* 2009; Gómez-Zurita *et al.* 2010; Pinzón Navarro *et al.* 2010; Klimaszewski *et al.* 2013; Montelongo & Gómez-Zurita 2013; Gómez-Zurita & Cardoso 2014), y sus resultados se basaron en la posición filogenética obtenida para esos fragmentos, dependiendo completamente de la representatividad taxonómica en dichos repositorios. En nuestro caso, disponíamos de una base de datos de referencia a partir de secuencias de plantas colectadas en las mismas localidades que nuestros especímenes en Nicaragua, y que están incorporadas actualmente a la base de datos de GenBank (Papadopoulou *et al.* 2015). La Flora de Nicaragua, respaldada por material de herbarios, tiene más de 6.500 especies de plantas vasculares, agrupadas en más de 1.800 géneros de 261 familias, de las cuales más de 78 especies son endémicas (Indiana Coronado, Univ. Nacional Autónoma de Nicaragua, León, comunicación personal). Esta flora tan diversa está actualmente muy mal representada en GenBank, y por ejemplo en el caso de la región *psbA-trnH*, al excluir las 611 secuencias generadas en nuestro laboratorio, a 4 de setiembre de 2016 encontramos que, con origen geográfico en Nicaragua, sólo estarían disponibles 21 secuencias de *psbA-trnH*, representando nueve géneros de siete familias (aunque es muy posible que sí estén representadas algunas de estas especies vegetales, pero recolectadas en otros países). Esta baja representatividad de la vegetación de Nicaragua en las bases de datos de referencia podría ser en parte responsable de la baja resolución en muchas de nuestras asignaciones taxonómicas según los criterios filogenéticos. Específicamente, usando los criterios más conservadores (criterio filogenético estricto en BAGpipe), obtuvimos un 5 % de asignaciones en el rango de especie, el 15 % en el de género, el 4 % a rangos supragénéricos, el 68 % a familia y el 8 % a orden botánico (Tabla 4.10). Estas diferencias de resolución podrían ser por la

dependencia de la cobertura taxonómica en la base de datos de referencia, aunque el criterio estricto aseguró que las asignaciones fueran correctas a rangos taxonómicos altos (por ejemplo familia). Otras razones que podrían causar diferencias en el rango taxonómico de las asignaciones, serían: (i) inconsistencias de nomenclatura, o (ii) la capacidad del marcador para discriminar relaciones entre taxones vegetales. Por otro lado, al analizar los resultados de los criterios basados en distancias genéticas, el efecto fue el contrario: la proporción de identificaciones con el rango de especie fue muy elevada, pero podrían corresponder a falsos positivos, como se ha demostrado en casos de bases de referencia incompletas (Ross *et al.* 2008). En resumen, estas observaciones nos dan una visión de la imperante necesidad de completar las bases de datos públicas, especialmente de áreas tropicales, con el fin de mejorar la representatividad de especies y de variabilidad intraespecífica para obtener asignaciones taxonómicas fiables.

Otro problema muy importante asociado a las bases de datos de referencia es la existencia de entradas con taxonomía errónea. Si éstas no se detectan, las inferencias taxonómicas basadas en etiquetados erróneos serán necesariamente erróneas también. Análisis preliminares de nuestros resultados nos ayudaron a detectar anotaciones erróneas de fragmentos de *psbA-trnH* que estaban depositados en GenBank. En nuestro estudio, identificamos hasta 33 casos indiscutibles de anotaciones erróneas (Apéndice I), que se eliminaron de nuestra base de datos de referencia para repetir los análisis sin las secuencias comprometidas. Los errores asociados a identificaciones/anotaciones erróneas en los repositorios públicos, en GenBank y en otros como BOLD (Lis *et al.* 2016), tienen un alto impacto negativo en los estudios que dependen de una identificación veraz, poniendo en peligro las inferencias y conclusiones que derivan de dichos resultados. Por lo tanto, mientras no exista un mecanismo para verificar las anotaciones de las secuencias en las bases de datos, es recomendable ser crítico respecto a los resultados obtenidos, sobre todo al automatizar el proceso de identificación (Papadopoulou *et al.* 2015).

### 5.1.2.2 Superación de limitaciones asociadas al marcador cloroplástico

Mientras que *cox1* se utiliza ampliamente como código de barras para identificar especies en el caso de animales, en el caso de las plantas no ha sido tan fácil establecer un consenso respecto al marcador o marcadores a utilizar. En 2009, el CBOL Plant Working Group propuso *rbcL* + *matK* como códigos de barras de ADN, y *psbA-trnH* como siguiente opción. En nuestro estudio optamos por trabajar únicamente con *psbA-trnH*, debido a

que (i) es uno de los espaciadores intergénicos cloroplásticos más variable y fácil de amplificar (Shaw *et al.* 2005); (ii) es de longitud variable (Kress & Erickson 2007), lo que permite reconocer múltiples fragmentos a través de una sencilla electroforesis (en caso de que se coamplifique a partir de varias especies de planta); (iii) tiene elevado poder filogenético para poner en contexto los códigos de barra con respecto a otras secuencias a distintos niveles jerárquicos (Kress *et al.* 2009), y (iv) se ha demostrado empíricamente su buen desempeño para el estudio de floras en bosques tropicales (Gonzalez *et al.* 2009; Kress *et al.* 2009; Costion *et al.* 2011; Parmentier *et al.* 2013; Tripathi *et al.* 2013; Papadopoulou *et al.* 2015). Sin embargo, es cierto que las diferencias en la longitud y la alta variabilidad de las secuencias determinan potenciales problemas de alineamiento, y que se ven exacerbados por la existencia de inversiones polimórficas en algunas especies (Whitlock *et al.* 2010). Por otro lado, es un marcador que puede presentar repeticiones mononucleotídicas, lo que en algunos casos afecta a la calidad de los cromatogramas en su secuenciación (Štorková & Olson 2007; Whitlock *et al.* 2010; aunque ver Fazekas *et al.* 2010). Algunos de estos problemas, en particular los asociados con el alineamiento por alta variabilidad de longitud de las secuencias, se solucionaron aplicando criterios implementados en la herramienta de asignación taxonómica que usamos en este estudio, BAGpipe (ver métodos y Papadopoulou *et al.* 2015).

#### 5.1.2.3 Fiabilidad de las inferencias de dieta por métodos moleculares

El número de inferencias de dieta para la mayoría de las especies estudiadas resultó muy alto, siendo éste un patrón generalmente observado en otros estudios de determinación molecular de dietas (Kitson *et al.* 2013; Klimaszewski *et al.* 2013; Schmidt *et al.* 2016). Este patrón se obtuvo incluso para algunas especies conocidas y supuestamente con dietas restringidas. En estos casos, en general la(s) dieta(s) conocida(s) también se obtenía(n), pero junto a otras inesperadas. Considerando los potenciales sesgos de las observaciones de campo mencionadas previamente (apartado 1.2.2), inicialmente no cabría dudar de las asociaciones tróficas obtenidas por métodos moleculares. Sin embargo, como la mayoría de estas estrategias se basa en el uso de la PCR, no se puede obviar que este método, por su elevada sensibilidad, podría introducir sesgos al amplificarse ADN de fuentes distintas al alimento, confundiendo los resultados (King *et al.* 2008; Ji *et al.* 2013; Zhou *et al.* 2013; Symondson & Harwood 2014; Ficetola *et al.* 2015). Una forma de evitar estos sesgos, podría ser mediante la modificación de los protocolos

de laboratorio, a través de la aplicación de (i) técnicas de enriquecimiento de la PCR (O'Rorke *et al.* 2012); (ii) secuenciación masiva usando NGS (Piñol *et al.* 2014); (iii) replicación de la PCR (Ficetola *et al.* 2015), o (iv) directamente evitando usar la PCR (Zhou *et al.* 2013; Paula *et al.* 2015). Sin embargo, ninguna de las estrategias es efectiva si, por ejemplo, nos enfrentamos a un problema de contaminación ambiental o cualquier otra fuente de ADN que no sea el alimento. Aún bajo condiciones experimentales, se ha demostrado que utilizando protocolos de descontaminación externa de las muestras, no se pueden descartar por completo los efectos de esta contaminación ambiental (Greenstone *et al.* 2012).

Nuestros propios ensayos de descontaminación de individuos o el análisis directo de contenidos estomacales igualmente generaron una alta diversidad de inferencias de dieta, en ocasiones diferentes a las obtenidas con el protocolo estándar, y en principio sin relación con el número de individuos analizados (Figura 4.8). Nuestros resultados sugieren, por tanto, que estos amplios espectros de dieta podrían representar asociaciones reales. Particularmente ilustrativo en nuestro estudio, fue el caso de *Physonota alutacea*, para la que se usó ADN extraído exclusivamente del contenido del tubo digestivo y después de haber descontaminado cada ejemplar externamente. Esta especie, según la bibliografía, se alimenta de plantas del género *Cordia* (Cordiaceae) (Flowers & Janzen 1997) y, según nuestros resultados moleculares, se alimentaría de plantas pertenecientes a tres familias botánicas, aunque la inferencia más frecuente fue efectivamente sobre *Cordia* (Figura 4.8). En éste y otros casos de especies consideradas especialistas, la inferencia de potenciales dietas inesperadas y normalmente resultantes de coamplificación de múltiples bandas en la PCR, mantuvieron dudas sobre el origen de estas secuencias y el hecho de que no representasen evidencia de la alimentación de los insectos. Esta impresión se reforzó estadísticamente al detectarse diferencias respecto a las inferencias de dieta según los tratamientos utilizados (Figura 4.9). Los resultados de los análisis estadísticos, que identificaron diferencias entre inferencias según tratamiento y proceso de obtención de resultados, recomendaron una cierta cautela en la interpretación de estas inferencias como evidencia de dieta. Expresamos esta cautela seleccionando como hipótesis más fiables sólo aquéllas que cumplieran una serie de requisitos (apartado 4.5.3) para disminuir la posibilidad de asociaciones tróficas potencialmente falsas. No obstante, tampoco se puede descartar la posibilidad de que, aquellas especies para las que se recuperó un rango amplio de inferencias no tuvieran en verdad un espectro de dieta más amplio de lo que se supone a partir del conocimiento disponible. Por ejemplo, como ya se ha mencionado, dos asociaciones para las que es

poco probable que sean erróneas, porque se obtuvieron al amplificar directamente sobre restos contenidos en el tubo digestivo de *Physonota alutacea* (cassidino), son las correspondientes a *Lonchocarpus* (Fabaceae) y Burseraceae nº1. Según el criterio de mejor coincidencia, en el primer caso, podría tratarse de *Lonchocarpus heptaphyllus* o *L. phlebophyllus*, ambas especies presentes en Nicaragua (Stevens *et al.* 2001). En el segundo caso, podría ser *Bursera ovalifolia* o *B. simaruba*, ambas especies conocidas para el país, además de otras cuatro registradas en la Flora de Nicaragua (Stevens *et al.* 2001). Sea como fuere, creemos que en los estudios de dieta usando herramientas moleculares, el riesgo de contaminación e incluso sesgos metodológicos, como los que afectan a la PCR, están de algún modo siempre presentes. Así, es recomendable establecer medidas para mitigar estos posibles artefactos, además de proyectar los estudios a partir de múltiples individuos, con el fin de corroborar las hipótesis de asociación trófica. En nuestro caso, utilizar múltiples individuos de la misma especie, permitió asegurar la inferencia trófica obtenida independientemente del método de amplificación utilizado, como fue el caso del alticino *Disonycha* sp. 10 (morfoespecie 26; Figura 4.4), cuyos ocho individuos de cuatro localidades (Apéndice II) están asociado a Malvaceae nº1 (*Byttneria aculeata* según el criterio de mejor coincidencia), y coincide con los registros bibliográficos obtenidos para el género *Disonycha* (Apéndice VIII). En este mismo contexto, para 16 individuos de dos localidades identificados como *Omophoita octomaculata* (morfoespecie 10; Figura 4.4), inferimos asociaciones con *Stachytarpheta jamaicensis* (Verbenaceae), planta registrada en la Flora de Nicaragua (Stevens *et al.* 2001). Igualmente, en el caso de ocho individuos de la morfoespecie 142 (Figura 4.4) encontrados en cinco localidades, obtuvimos una asociación con la Fabaceae nº7 (*Pithecellobium oblongum* según el criterio de mejor coincidencia, siendo *Pithecellobium* un género con cinco especies en el país; Stevens *et al.* 2001).

#### 5.1.2.4 Consideraciones finales

Cualquier estrategia de evaluación de la diversidad de especies y de asociaciones tróficas a gran escala por métodos moleculares tiene que enfrentar dos retos: (i) producir hipótesis robustas de especies y sus asociaciones tróficas, y (ii) acelerar el ritmo de identificación (o descripción, cuando sea posible) de las especies en el contexto de la magnitud de biodiversidad desconocida y el ritmo apremiante de las tasas de extinción de la diversidad biológica. En este estudio hemos dado el primer paso para una fauna relativamente poco conocida y en un bioma altamente amenazado, proponiendo hipótesis objetivas de especies para más de 1.300 ejemplares de crisomélidos del bosque seco tropical

estacional de Nicaragua, apoyando la importancia de combinar información genética y morfológica. También hemos discutido algunos retos respecto a la obtención de inferencias fiables de dieta en estudios de biodiversidad a gran escala en ambientes tropicales, y la forma en que tratamos de superarlos. En conjunto, hemos aportado una metodología que aprovecha las técnicas moleculares para explorar y complementar el estudio de insectos herbívoros y sus plantas hospederas, acelerando la evaluación de la biodiversidad. El conocimiento generado, contribuye a comprender la biodiversidad del BSTE en Nicaragua, y es el punto de partida para promover y/o respaldar medidas de conservación útiles para proteger este bioma. Creemos que aplicando estas metodologías de forma objetiva a otros grupos de estudio, también será posible mejorar el ritmo y la solidez de los inventarios de biodiversidad a gran escala, permitiendo solventar en algo los actuales impedimentos taxonómicos y ecológicos.

## 5.2 La comunidad de Chrysomelidae y los condicionantes de su diversidad en el bosque seco tropical estacional de Nicaragua

La mayoría de las especies multicelulares actuales son artrópodos tropicales asociados a plantas (Lewinsohn & Roslin 2008), y consecuentemente la cantidad de interacciones insecto-planta en la biosfera es muy considerable. El primer paso para comprender cómo se relacionan e interactúan las especies en su ambiente es describir de forma explícita y precisa dichas interacciones, algo especialmente complejo en el caso de faunas y floras tropicales. Las redes tróficas proporcionan los medios para investigar potenciales factores que estructuran y mantienen la diversidad (Lewis *et al.* 2002), y en este proyecto dimos un primer paso en esa dirección aplicando métodos moleculares para inferir las potenciales plantas hospederas de Cassidinae y Galerucinae s. l. Con la metodología propuesta conseguimos identificar la riqueza de especies de crisomélidos, así como patrones de diversidad beta entre localidades, y los protocolos permitieron inferir interacciones entre ambos grupos, contribuyendo a cubrir parcialmente el vacío de conocimiento existente respecto a la ecología de este grupo taxonómico en los trópicos. Además, la información generada en este estudio nos permitió explorar potenciales factores capaces de explicar las diferencias en la composición de especies de coleópteros en estas comunidades en el BSTE de Nicaragua.

### 5.2.1 Diversidad local y regional de los crisomélidos del bosque seco tropical estacional de Nicaragua

#### 5.2.1.1 Composición de la comunidad de crisomélidos

Nuestros datos fueron consistentes con 265 especies putativas de Chrysomelidae en el BSTE de Nicaragua, que representan según nuestras estimaciones alrededor de un 64 % de la diversidad presente en la región (Tabla 4.7; Figura 4.5). Según esta perspectiva, con un tercio de las especies no detectadas en nuestro muestreo, podría argumentarse que éste ha sido deficiente. Sin embargo, parece que el hecho de no conseguir muestrear por completo una determinada comunidad es muy común en estudios de

insectos tropicales, tal y como lo demuestran, por ejemplo, estudios similares realizados en Costa Rica (Furth *et al.* 2003), Ecuador (Erwin & Geraci 2009) y México (Sánchez-Reyes *et al.* 2014), en los que a pesar de capturar miles de coleópteros de centenares de especies, las estimas de riqueza revelaron siempre un éxito parcial, muy similar al obtenido por nosotros.

En nuestro estudio, que se basa en un subconjunto de la diversidad real de Cassidinae y Galerucinae *s. l.* en el BSTE de Nicaragua, la falta de éxito en conseguir una mayor proporción de especies posiblemente se explique por la existencia de una proporción alta de especies raras, las cuales influyen en las estimas de la diversidad no detectada (Gotelli & Chao 2013). Tal vez un estudio que ilustra el hecho de que colectas muy intensivas no implican llegar a muestrear toda la diversidad esperada de especies de escarabajos, corresponde a la investigación de Ødegaard (2006), donde se capturaron más de 65.000 individuos de 2.462 especies en tres grupos de coleópteros herbívoros, incluyendo Chrysomelidae, sumamente ricos en especies de dosel forestal en Panamá. A pesar de este muestreo, un análisis a partir de curvas de acumulación seguía sin alcanzar la predicción máxima de especies. Las observaciones de especies representadas únicamente por uno (*singletons*) o dos (*doubletons*) individuos en las muestras del BSTE en Nicaragua constituyen una importante fracción de nuestros datos, concretamente entre el 63-69 % de las especies entre las cuatro localidades estudiadas, o el 62-66 % al considerar además las localidades con capturas ocasionales. Las observaciones únicas son muy comunes en los muestreos de diversidad (Stork 1993) y de hecho se ha sugerido que aproximadamente entre el 30-50 % de las especies en muestreos de artrópodos tropicales están representadas por sólo un individuo (Novotny & Basset 2000; Coddington *et al.* 2009). Además del estudio ya mencionado de Ødegaard (2006), varios estudios en el Neotrópico enfocados en Coleoptera, incluyendo Curculionidae y Staphylinidae (Anderson & Ashe 2000), Cerambycidae (Noguera *et al.* 2002) o Chrysomelidae (Sánchez-Reyes *et al.* 2014), también encontraron una cantidad significativa de observaciones únicas en sus muestreos. Todos estos estudios detectaron las especies raras a partir de caracteres morfológicos, pero es de esperar que al utilizar datos moleculares probablemente estas estimas se vieran incrementadas.

Nuestro estudio aumentó de forma notable la diversidad conocida de especies de crisomélidos en Nicaragua, tanto para cada localidad como en el conjunto de las mismas: los 1.320 individuos de las subfamilias Cassidinae y Galerucinae *s. l.* estudiados en esta tesis pertenecen al menos a 251 morfoespecies, casi la misma cantidad de especies actualmente

conocidas de manera formal para todos los biomas existentes en este país (Maes & Gómez-Zurita 2016; Maes *et al.* 2016a, 2016b). Dado que casi la totalidad de esta riqueza proviene de colectas sistemáticas en cuatro localidades (~96 %), especies adicionales podrían ser descubiertas si se aplica esa intensidad de muestreo en otras zonas de BSTE de Nicaragua, utilizando nuestros métodos de colecta y otros que no se contemplaron en esta tesis. Por ejemplo, se podría utilizar la técnica de fumigación, un método que muestrea de forma indiscriminada a los artrópodos del dosel, que en el caso del bosque húmedo tropical es considerado un estrato vegetal muy diverso (Erwin 1982) y con la mayor riqueza de coleópteros herbívoros (Charles & Basset 2005), por lo que esperaríamos que al aplicar esta técnica en el BSTE también se incrementasen las estimas de diversidad.

### 5.2.1.2 Variación regional de las comunidades de crisomélidos

La diversidad beta, con sus componentes de anidamiento y reemplazamiento (Baselga 2010), es un parámetro crítico para evaluar la magnitud y la estructuración de la diversidad de especies entre regiones o localidades y puede constituir un punto de partida para poder elucidar los patrones que la promueven (Legendre *et al.* 2005; Anderson *et al.* 2011; Szava-Kovats & Pärtel 2014). En nuestro estudio, únicamente el 4 % de las especies putativas estuvieron presentes en las cuatro localidades estudiadas (Figura 4.6), pero incluso en la comparación de localidades dos a dos, tanto en Cassidinae como en Galerucinae s. l., y en el conjunto de ambas subfamilias, la diversidad beta resultó elevada ( $\beta_{\text{soR}} > 0,681$ ). Además, en todos los casos esta elevada diversidad fue contribuida fundamentalmente por reemplazamiento de especies (Figura 4.7). Existen numerosas causas que pueden explicar la diferencias en composición entre comunidades, y habitualmente se tiene en cuenta que estos factores puedan ser ambientales (p. ej., diferencias climáticas), ecológicos (p. ej., relaciones mutualistas o antagónicas entre especies), o históricos (p. ej., dispersión), o la interacción entre ellos (Whittaker 1960; Hubbell 2001; Condit *et al.* 2003; Tuomisto *et al.* 2003; Ricklefs 2004; Baselga 2010).

Diferentes estudios han abordado el tema de los patrones de diversidad beta de Coleoptera en otras zonas tropicales. Novotny *et al.* (2007) estudiaron las comunidades de insectos, incluyendo coleópteros, en 75.000 km<sup>2</sup> de bosque tropical de tierras bajas en Papua Nueva Guinea, y obtuvieron estimas relativamente bajas de diversidad beta (índice de similaridad Chao-Sørensen = 0,79) entre localidades. Sin embargo, los

estudios sobre estas comunidades en los trópicos generalmente encuentran baja similitud en la composición de sus comunidades, coincidiendo con nuestros resultados. Por ejemplo, en el estudio de García-López *et al.* (2013) se evaluó la composición de comunidades de coleópteros coprófagos en Costa Rica, encontrando que la similitud entre las comunidades en seis localidades de bosque húmedo premontano oscilaba entre 21-46 %. De igual forma, Nguyen & Gómez-Zurita (2016) evaluaron las diferencias en la composición de comunidades de Chrysomelidae en un gradiente altitudinal de casi 500 m, mediante transectos que cruzaron de bosque seco a húmedo tropical en Vietnam. En este estudio, diseñado en una escala espacial de ámbito local, se estimó una disimilitud entre sitios de muestreo y entre los tipos de bosque del 54-71 %. Estos estudios y muchos otros contribuyen a un debate que ha de permitir establecer teorías e hipótesis sobre los factores y efectos que promueven la diversidad en zonas tropicales. Sin embargo, los patrones de diversidad beta y sus conclusiones también podrían estar influenciados por decisiones metodológicas o características de los datos que deberían modularse para poder realizar comparaciones directas entre resultados de diferentes estudios. Por ejemplo, la alta proporción de observaciones únicas, que como se dijo caracterizan los estudios de diversidad en los trópicos, podría sobreestimar los cálculos de beta diversidad (Chao *et al.* 2005), afectando especialmente a las estimas de reemplazamiento faunístico entre localidades.

## 5.2.2 Contribución al conocimiento general de interacciones insecto-planta del bosque seco tropical estacional de Nicaragua

### 5.2.2.1 Alimentación de Chrysomelidae en el BSTE de Nicaragua

La delimitación de especies putativas de crisomélidos fue el primer paso para relacionar sin ambigüedades cada uno de los ejemplares con la planta que presumiblemente habían ingerido, algo importante al no estar la taxonomía del grupo clarificada. Nuestras inferencias revelaron que Cassidinae y Galerucinae *s. l.* se alimentan de una gran cantidad de angiospermas, concordando con lo que se conoce sobre relaciones tróficas para ambos grupos (Jolivet & Hawkeswood 1995), aunque también se descubrieron algunas inferencias nuevas de asociaciones tróficas para varias especies (Apéndice VIII). El conjunto de inferencias

de dieta incluye al menos 43 familias de 23 órdenes botánicos, en general las más representativas de la flora del BSTE de Nicaragua (Indiana Coronado, Univ. Nacional Autónoma Nicaragua, León, comunicación personal), abundando entre nuestras inferencias aquéllas sobre Acanthaceae, Amaranthaceae, Asteraceae, Bignoniaceae, Boraginaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Malvaceae, Poaceae, Rubiaceae y Solanaceae. Un aspecto interesante de nuestras inferencias de asociaciones tróficas es que el 76 % de los crisomélidos (o 50 % al eliminar observaciones únicas) podrían estar asociados a una o dos especies vegetales, y a menudo de órdenes diferentes en este último caso (Figuras 4.21 y 4.22). Algunos estudios que han analizado asociaciones tróficas mediante herramientas moleculares han encontrado que, cuando una especie de crisomélido se alimenta de varias plantas, éstas son cercanas filogenéticamente, como sería el caso de *Cephaloleia* y *Chelobasis* (Cassidinae) con Zingiberales (García-Robledo *et al.* 2013) o alticinos del género *Arripoda* con Ericales (Gómez-Zurita *et al.* 2010), y cuando encontraron inferencias filogenéticamente divergentes las atribuyeron a contaminaciones (por ejemplo García-Robledo *et al.* 2013). Los estudios a mayor escala, en cambio, han encontrado de forma más consistente que los coleópteros herbívoros, tanto los considerados *a priori* especialistas como los generalistas, se alimentarían de más plantas que las conocidas, de familias altamente divergentes (Jurado-Rivera *et al.* 2009; Pinzón Navarro *et al.* 2010; Kitson *et al.* 2013; Gómez-Zurita & Cardoso 2014; Papadopoulou *et al.* 2015; De la Cadena *et al.* 2016), concordando con el patrón observado para Cassidinae y Galerucinae *s. l.* del BSTE de Nicaragua.

El estudio de las interacciones insecto-planta, un aspecto básico de la ecología de estas especies, no resulta sencillo debido a la falta de información para establecer asociaciones de forma precisa y sin ambigüedades, especialmente en los trópicos. Pero esta circunstancia hace que las herramientas moleculares constituyan una aproximación muy válida para avanzar en este conocimiento. A partir de los resultados obtenidos de las inferencias de dieta, observamos que las especies de Cassidinae usaron recursos alimenticios de un menor número de familias botánicas (Figuras 4.10, 4.12-4.14 y 4.16-4.20; Apéndice IV), al compararlos con los Galerucinae *s. l.* (Figuras 4.11-4.13 y 4.15-4.20; Apéndice IV). Esta apreciación concuerda con estudios generales sobre la ecología de estos crisomélidos, en los que se ha observado que Galerucinae *s. l.* (mucho más diversos) se alimentarían de hasta 100 familias botánicas, mientras que Cassidinae interaccionaría con algo más de 30 familias de gimnospermas y angiospermas (Jolivet & Petitpierre 1981). De los cuatro grupos de crisomélidos estudiados, algunas especies

de hispinos han sido mejor estudiadas en el Neotrópico, sobre todo aquellas especies asociadas con *Heliconia* (Heliconiaceae) y otras familias del orden Zingiberales (Seifert 1982; Staines 2002, 2011; Santiago-Blay 2004; Descampe *et al.* 2008; García-Robledo *et al.* 2010, 2013; Schmitt & Frank 2013; Staines & García-Robledo 2014). Las asociaciones tróficas inferidas para los hispinos del BSTE de Nicaragua concuerdan con algunos de los registros bibliográficos encontrados, sea en los rangos de familia o género (Apéndice VIII), aunque también obtuvimos asociaciones a plantas hospederas previamente desconocidas, como la potencial alimentación sobre *Chiococca* (Rubiaceae) en el caso de *Brachycoryna pumila*, o *Sapranthus* (Annonaceae) para *Heterispa vinula* (Papadopoulou *et al.* 2015). Algunas inferencias para especies con ecología más o menos bien conocida entre los cassidinos, también coincidieron. Este sería el caso, por ejemplo, de los cassidinos *Ischnocodia annulus* y *Physonota alutacea* con Cordiaceae, de *Parorectis rugosa* con *Physalis* (Solanaceae) (Papadopoulou *et al.* 2015; De la Cadena *et al.* 2016), de *Agroiconota propinqua* con Convolvulaceae, de *Charidotella sexpunctata* con *Merremia* (Convolvulaceae) (y una asociación única con la familia Amaranthaceae para un ejemplar genéticamente divergente), de *Coptocycla leprosa* con Cordiaceae o de *Omocerus caeruleopunctatus* con *Cordia* (Cordiaceae) (Apéndice VIII).

Como se mencionó previamente, las inferencias de dieta utilizando el criterio estricto de BAGpipe fueron asignadas a diferentes rangos taxonómicos, correspondiendo la gran mayoría a familia y orden (76 %), mientras que el 20 % fueron asignadas a géneros y especies (Tabla 4.15). Estos resultados han limitado hasta cierto punto su utilidad en los análisis de las redes tróficas, ya que restringieron el grado de resolución de las conexiones entre insectos y plantas. Sin embargo, una de las virtudes de BAGpipe es que ofrece diferentes criterios para la asignación taxonómica de las secuencias (Papadopoulou *et al.* 2015), que pueden resultar muy útiles para refinar la resolución taxonómica. Por ejemplo, aunque el criterio de mejor coincidencia es propenso a la asignación de falsos positivos cuando la base de datos de referencia es incompleta, en algunos casos nos resultó útil para cotejar los resultados de ambos criterios, y comparar efectivamente la presencia de la planta con los registros de la Flora de Nicaragua. Por ejemplo, *Ruellia*, Acanthaceae (*Ruellia blechum* según la mejor coincidencia y registrada para Nicaragua) está asociada a cuatro especies putativas de alticinos (Figuras 4.15 y 4.17), es el único género conocido de la tribu Ruellinae (Tripp *et al.* 2013) y está presente a todo lo largo de la Costa Pacífica de Nicaragua (Stevens *et al.* 2001). La inferencia obtenida como *Leonotis*, Lamiaceae (*Leonotis nepetifolia* según la mejor coincidencia), asociada al alticino ALT Sp28 (Figura 4.12), correspondería precisamente a *Leonotis nepetifolia*, la única especie conocida

de este género para las zonas pacífica y del centro-norte de Nicaragua (Stevens *et al.* 2001). Sin embargo, también esta aproximación permite descartar asociaciones tróficas que son improbables, como la encontrada entre el alticino ALT Sp115 y *Ulmus minor* (Ulmaceae) (Figura 4.15), debido a que esta especie no se conoce para el país, donde este género está representado por una única especie, *Ulmus mexicana* (Stevens *et al.* 2001).

### 5.2.2.2 Características de las redes tróficas entre coleópteros y plantas del BSTE de Nicaragua

Las redes tróficas describen la estructura de las comunidades (Tylianakis *et al.* 2007), mostrando patrones de conectividad y dependencia entre especies, y son una herramienta muy apropiada para comprender el funcionamiento de las comunidades, por supuesto también las de áreas tropicales. Además, la arquitectura de las redes tróficas se utiliza como una aproximación para evaluar la estabilidad de las comunidades y la vulnerabilidad de las especies a la extinción (McCann 2000; Dunne *et al.* 2002; Thébault & Fontaine 2010). Sin embargo, a pesar de los esfuerzos por catalogar y clasificar la biodiversidad, aún se desconoce la forma en que las especies están enlazadas e interactúan con otras, como es el caso para muchos insectos herbívoros y sus plantas hospederas en los trópicos. Estas limitaciones en conocimiento, ponen aún más de relieve la importancia de aproximaciones de amplio espectro como la desarrollada aquí.

En el presente trabajo, hemos propuesto una serie de medidas informativas sobre la estructura de las redes tróficas de las cuatro localidades estudiadas. Sin embargo, es importante tener en cuenta que estas redes son preliminares, al no incluir todas las especies implicadas, no representar todas las relaciones posibles (por ejemplo, para especies de crisomélido con baja representatividad) y poder representar alguna interacción errónea (por artefactos de la identificación molecular de las dietas). A pesar de estas limitaciones, las medidas descriptoras de redes aplicadas nos ofrecieron algunas pautas sobre la forma en que se estructura la interacción de las comunidades de crisomélidos con sus plantas hospederas.

La Reserva Miraflores-Moropotente y la R. Domitila mostraron en general tendencias opuestas según algunas de las medidas descriptivas utilizadas. Así, en la primera localidad se encontró el mayor número de módulos y

conexiones por especie (Tabla 4.17), explicando la baja conectancia observada, y abriendo la posibilidad de que, de las comunidades estudiadas, sea la más sensible a una hipotética extinción de las especies vegetales con más asociaciones con los crisomélidos. Estas especies, en orden de importancia, serían Rubiaceae nº1, *Guaiacum* (Zygophyllaceae), Cucurbitaceae nº6, Fabaceae nº22, Boraginales nº3 y Convolvulaceae nº5. De ser éste el caso, ante eventos de deforestación u otras alteraciones del hábitat, especialmente las que afectaran específicamente a estas plantas, la integridad de la interacción entre esta comunidad de crisomélidos y las plantas que les sirven de alimento se vería seriamente amenazada, probablemente con efectos más negativos en comparación con las otras localidades. Por su parte, R. Domitila tiene la mayor conectancia de todas las redes, en relación con la menor cantidad de módulos en que están agrupadas las asociaciones tróficas. Sin embargo, mostró valores altos de especialización y de generalidad que podrían explicarse por la menor competencia de recursos observados. Si consideramos que la mayor diferencia en composición florística la obtuvimos entre estas dos localidades ( $D_{flora} = 0,921$ ), estas diferencias podrían tener un efecto sobre la manera en que los insectos utilizan las plantas o las especies que pueden establecerse en cada ambiente. Por otra parte, la especificidad de hospederos en R. Natura es aparentemente menor que en otras localidades, según reflejan parámetros asociados a un alto grado de generalidad y baja competencia de recursos. Por último, en la Finca Sierra Serena se observó una tendencia similar a la de R. Miraflores-Moropotente respecto a la conectancia de las especies: un alto número de compartimentos y conexión entre especies, aunque con un mayor grado de hospederos compartidos, lo que se interpretaría en parte como que aquí encontramos la comunidad que más compite por recursos alimenticios. Así, con los datos obtenidos, podemos concluir que ante un escenario de extinción de aquellas plantas que reciben más interacciones, la comunidad de crisomélidos en la R. Miraflores-Moropotente sería la más afectada. Entre los parámetros estudiados, destacamos la medida de robustez, muy ligada a la respuesta de las interacciones ante perturbaciones ambientales, y que podría constituir un buen indicador para predecir potenciales efectos sobre la comunidad de crisomélidos ante la destrucción o alteración de los remanentes de BSTE de Nicaragua, así como sobre el tipo de medidas de conservación que se podrían proponer.

Las diferencias observadas entre las redes tróficas, se explican y refuerzan por diferencias en composición florística entre las cuatro localidades. Las R. Miraflores-Moropotente y R. Domitila mostraron las mayores diferencias de composición florística, además de faunística, mientras que en R. Domitila y R. Natura se observaron las comunidades más similares

en flora y fauna (Tablas 4.8 y 4.19). Por lo tanto, es justificable sugerir que en el caso de coleópteros herbívoros, diferente vegetación seguramente promueve distintas comunidades de crisomélidos, y que la manera en que interactúan una y otros, es decir, la estructura y propiedades de las redes tróficas que los relacionan serán diferentes. Es interesante resaltar que si analizamos las diferencias entre localidades respecto a las inferencias de dieta según criterios de disimilitud, las dos localidades más diferentes en composición florística y faunística también mostraron los valores más altos de disimilitud en su interacción, aunque las diferencias en la composición de dietas fueron altas en todos los casos ( $\beta_{sor} > 0,6$ ) (Tabla 5.1).

Tabla 5.1 Diferencias en la selección trófica, medida a partir del índice de disimilitud Sørensen entre cuatro localidades de bosque seco tropical en Nicaragua. La mayor divergencia en inferencia de dietas entre comunidades se destaca en negrita y la más semejante en cursivas.

<i>Beta disimilitud de inferencias de dieta</i>			
	R. Natura	R. Domitila	F. S. Serena
R. Miraflores	0,606	<b>0,795</b>	0,665
R. Natura	-	0,783	<i>0,593</i>
R. Domitila		-	0,746

Las metodologías aplicadas en este estudio permitirán incorporar información sobre interacciones tróficas en los análisis de biodiversidad (Gómez-Zurita *et al.* 2016), con el fin último de promover programas de manejo ambiental, propuestas de conservación y restauración de ambientes degradados (Laliberté & Tylianakis 2010), que integren este componente, muy pocas veces considerado en este tipo de estudios.

### 5.2.3 ¿Qué condiciona la estructura de las comunidades de crisomélidos?

La presencia o ausencia de una especie en un hábitat determinado está condicionada por numerosos factores que operan a distintas escalas espaciales y temporales (Levin 1992). Sin considerar las alteraciones del ecosistema causadas por actividades humanas, algunos procesos y factores que determinarían la composición de las comunidades en una región determinada incluirían la disponibilidad de recursos, las condiciones

climáticas y físicas propicias para completar el ciclo vital de los organismos, la resiliencia a las alteraciones de hábitat, así como factores históricos, incluyendo la propia capacidad de dispersión de las especies (Pearson & Dawson 2003; Thuiller *et al.* 2004; Hartley *et al.* 2010; Soberón 2010), entre otros. Sin embargo, elucidar qué determina la estructura de una comunidad y cómo varía espacialmente, aún genera controversia, ya que estos factores están interrelacionados y no influyen de forma aislada (Levin 1992). Nosotros hemos analizado en este estudio, una serie de variables ambientales, ecológicas, florísticas y geográficas, con el objetivo de evaluar el grado de influencia que éstas podrían tener sobre la composición de las comunidades de crisomélidos en el BSTE de Nicaragua.

#### 5.2.3.1 El rol de la distancia geográfica

En Nicaragua, las cuatro localidades estudiadas proporcionaron una perspectiva espacial de la composición de las comunidades de coleópteros herbívoros. Según la posición geográfica, y teniendo en cuenta que estudiamos un único tipo de bioma en particular, podría esperarse que localidades más cercanas albergasen mayor similitud en la composición de especies (Nekola & White 1999). En efecto, las comunidades más similares en cuanto a composición de especies fueron las más próximas geográficamente, ubicadas en el centro del país (distancia entre Reserva Natura y R. Domitila = 63,6 km). Por otra parte, la mayor heterogeneidad entre comunidades no fue entre las localidades más distantes—R. Miraflores-Moropotente, al norte, y Finca Sierra Serena, al sur del país (distancia = 233,3 km)—sino entre alguna de éstas y la R. Domitila. La contribución a las diferencias entre comunidades de crisomélidos en estas localidades podrían reflejar también la interacción de otros factores más allá de la separación geográfica. Por ejemplo, la Finca Sierra Serena es una zona donde confluyen varios tipos de bosque (seco tropical estacional, húmedo istmeño-atlántico y húmedo estacional de Costa Rica), y por su parte, la Reserva Miraflores-Moropotente representa el gradiente altitudinal más amplio de nuestro muestreo, por lo cual se podrían anticipar diferencias en la composición de flora y fauna apenas por estos factores.

En relación con el efecto de la distancia geográfica, se han propuesto diferentes teorías para comprender cómo se distribuyen las especies según la escala espacial, donde a grandes rasgos, el clima y factores históricos serían factores limitantes para el rango de distribución de especies a gran escala (global o regional), mientras que condiciones ambientales locales ligadas al nicho ecológico fundamental serían más influyentes en una

escala local o de paisaje (Pearson & Dawson 2003; Thuiller *et al.* 2004). Sin embargo, como ya se vio y se discutirá a continuación en detalle, a pesar de la escala regional de nuestro estudio, el modelo que incluye como variables predictivas la posición geográfica y la composición florística explicaría el 92 % de la variación respecto a las diferencias en composición de comunidades de crisomélidos, con muy escasa contribución del componente climático (al menos según nuestra evaluación y la metodología aplicada, a partir de una distancia ambiental) (Tabla 4.21).

### 5.2.3.2 La influencia de la composición florística y las condiciones ambientales

Los coleópteros herbívoros se encuentran sólo donde existen las plantas de las que dependen: estas especies son un recurso indispensable en su ciclo biológico, sirviéndoles de alimento, refugio, lugar de cría, y en general cualquier aspecto vital de su existencia (Jolivet & Petitpierre 1981). Por lo tanto, es predecible que la composición de la vegetación sea uno de los factores que de forma predominante condicione la composición de las comunidades de estos insectos. El BSTE muestra extraordinarios niveles de diversidad beta en plantas (Pennington *et al.* 2009; Dirzo *et al.* 2011; Banda-R *et al.* 2016), y esta heterogeneidad podría determinar niveles igualmente elevados de diferencias en la composición de las comunidades de insectos herbívoros. En consonancia con esta idea, nuestro análisis sobre los factores que podrían influir en las diferencias de composición de las comunidades de crisomélidos demostraron que, de los componentes incluidos en nuestros análisis, la diversidad de plantas es en efecto el factor que las explica en mayor medida (Tabla 4.22). Este factor además se ve reforzado por los efectos de la distancia geográfica, y muy poco al considerar diferencias climáticas y ecológicas entre localidades. Con nuestra metodología, además pudimos incluir otro argumento sobre las diferencias de composición florística y su influencia sobre la composición de especies de crisomélidos, y se refiere a las inferencias de dieta obtenidas por métodos moleculares. Como se aprecia en la Tabla 5.1, aunque la disimilitud de las inferencias obtenidas se correlacionó débilmente con las diferencias de composición florística ( $R^2$  ajustada = 0,08;  $P$  = 0,699), en todos los casos estas diferencias fueron altas (>60 %).

La estrecha relación de la composición de la flora y los insectos asociados a ella, ha sido estudiada desde diferentes perspectivas, pero hasta la fecha sólo existen dos estudios, ambos a gran escala, que han investigado si la composición florística puede predecir la riqueza de especies de insectos en el bosque húmedo tropical (Basset *et al.* 2012; Zhang *et al.* 2016),

concluyendo que las estimas de diversidad florística se ajustan perfectamente bien a las curvas de acumulación de insectos, y que la composición de comunidades de plantas e insectos están altamente correlacionadas. Aunque nuestro estudio no analizó las comunidades desde esta perspectiva, sin embargo podría aportar un soporte adicional para la alta diversidad beta de crisomélidos y flora vascular asociada en el BSTE de Nicaragua, ya que ambas están correlacionadas ( $R^2$  ajustada = 0,75;  $P$  = 0,076).

Un aspecto ampliamente discutido en la actualidad, utilizando diferentes taxones y zonas biogeográficas, es la importancia del clima en la distribución de las especies. Debido a las alteraciones ecológicas provocadas por actividades antropogénicas, especialmente después de la época industrial, se han propuesto varias metodologías para estudiar la forma en que el cambio climático, a nivel regional o global, afecta y afectará a las especies. Especialmente en los últimos años, la generalización de los Sistemas de Información Geográfica y el desarrollo de técnicas estadísticas aplicadas, ha permitido la expansión de herramientas para el análisis de patrones espaciales de presencia y ausencia de especies, esto es, los modelos de distribución de especies (Mateo *et al.* 2011). La preocupación por la disminución de los ecosistemas tropicales, y sus consecuencias para un cambio climático a nivel global, impulsó los modelos de distribución de especies usando flora tropical (Blasco *et al.* 2000) para modelar el hábitat y predecir la forma y grado de afectación ante distintos escenarios de cambio climático. Desde entonces, muchos estudios han seguido esta práctica, en un amplio rango biogeográfico y usando todo tipo de grupos taxonómicos, incluyendo coleópteros (Fiaboe *et al.* 2012; Restrepo Correa *et al.* 2016). Nuestros análisis también utilizaron los datos climáticos más usados para este tipo de estudios, que consideran las 19 variables bioclimáticas de precipitación y temperatura, además de la altitud, aridez, biomasa, cobertura vegetal y evapotranspiración potencial. Uno de nuestros resultados más sorprendentes fue que, en contra de la mayoría de estudios que otorgan relevancia a estos parámetros para explicar y predecir la distribución de especies, el componente climático no aportó mayor poder explicativo al modelo, una vez estuvo incluido el componente florístico. Sin embargo, estos parámetros ambientales sí podrían estar condicionando la composición de la flora de BSTE, pues ambas variables, medidas como diferencias ambientales y de composición florística entre las cuatro localidades de BSTE en Nicaragua, sí estuvieron altamente correlacionadas ( $R^2$  ajustada = 0,75;  $P$  = 0,047). Aunque no fue posible acceder a datos de otras variables, como tipo y uso actual del suelo, carreteras, población en áreas circundantes, y otros factores que

probablemente influyan en los agrupamientos de especies, esto seguramente no disminuyó la relevancia de las variables incluidas en el componente ambiental y de los resultados obtenidos. Por lo tanto, nuestros resultados nos harían cuestionar el uso *indiscriminado* de variables ambientales para cualquier grupo de organismos y cualquier escala del muestreo, especialmente cuando la influencia de los factores bióticos es progresivamente más importante cuando disminuye la escala (Hortal *et al.* 2010). No obstante, también es necesario considerar que quizás la resolución de las variables climáticas ( $1 \text{ km}^2$ ) y/o la metodología utilizada para obtener las distancias ambientales, reduciendo la variabilidad de estas medidas en cada localidad (Figura 4.24A) a un único punto representativo, el centroide (Figura 4.24B), de alguna forma pudo disminuir la señal ambiental. Además hay que tomar en cuenta los posibles efectos de la multicolinealidad, ya que las tres variables explicativas están significativamente correlacionadas entre ellas, algo muy común en datos ecológicos (Graham 2003), lo cual pudo afectar a la parametrización de los modelos de regresión múltiple y, en consecuencia, nuestras conclusiones sobre la importancia relativa de los diferentes componentes analizados (Dormann *et al.* 2013). Sin embargo, nada de esto disminuye el impacto de la composición florística para explicar las diferencias en la composición de las comunidades de crisomélidos del BSTE de Nicaragua, ya que esta variable es la que mejor explica la composición de las comunidades incluso según una correlación simple ( $R^2$  ajustada = 0,749;  $P = 0,016$ ).

En todo caso, también consideramos la posibilidad de que nuestra percepción de que el clima no tenga efecto sobre la estructura de la diversidad pudiera variar si utilizáramos una escala de datos climáticos que reflejara variaciones a escalas menores. Este problema, el efecto de la resolución y de la escala de los mapas disponibles, ha sido estudiado en varias ocasiones, y por ejemplo Särkinen *et al.* (2011) demostraron que el modelado de predicción de especies vegetales del BSTE en América del Sur generaba diferentes resultados según el detalle de la escala, especialmente en el caso de zonas con alta heterogeneidad altitudinal. Otros estudios también han destacado los potenciales sesgos de depender exclusivamente de datos climáticos, así como de la escala a la que se aplica, sugiriendo que los resultados deberían interpretarse con cautela y considerar las circunstancias específicas en que los modelos son realmente útiles (Pearson & Dawson 2003; Araújo & Peterson 2012). Una forma de mejorar este tipo de estudios, especialmente si se trata de organismos de pequeño tamaño, quizás fuera modelar la distribución de las especies según el microclima de los lugares en que se encuentran las especies de

interés, pero ese tipo de datos no suelen estar disponibles y son difíciles de generar, especialmente para estudios de biodiversidad a gran escala. En cualquier caso, y a la vista de nuestros resultados, sugerimos que los estudios de comunidades de insectos herbívoros que incorporen variables climáticas, contemplen además incluir datos de vegetación para establecer una mejor aproximación del efecto de los distintos factores ecológicos a la distribución de las especies.

## 5.3 Conservación de la biodiversidad en el bosque seco tropical estacional de Nicaragua

Uno de los problemas ecológicos más urgentes por resolver ahora y en el futuro más próximo es el incremento de la tasa de extinción de especies y que ha derivado en la pérdida dramática de diversidad biológica en la Tierra (Barnosky *et al.* 2011; Newbold *et al.* 2015, 2016). El último informe sobre la actual crisis de biodiversidad, liderado por Newbold *et al.* (2016), manifiesta que de forma global el 58 % de la biodiversidad está comprometida debido a las alteraciones antropogénicas y cambio climático, y que en el caso de Mesoamérica, la pérdida de especies es más alta que el promedio. Esta problemática afecta especialmente al bosque seco tropical, hogar de miles de especies, y fuertemente presionado por explotación y degradación debido a actividades humanas. Esta presión ha causado tal grado de disminución de su distribución original, que actualmente sólo quedan unos pocos remanentes de lo que alguna vez fue uno de los biomas más extendidos en América Latina (Gillespie *et al.* 2000; Olson *et al.* 2001; Calvo-Alvarado *et al.* 2009).

En el caso de Nicaragua, la falta de protección de zonas de BSTE es preocupante, especialmente debido a que forma parte del *hotspot* de Mesoamérica, esto es, que son bosques que constituyen el hogar de multitud de especies únicas que soportan graves amenazas por la destrucción del hábitat y otras presiones antropogénicas. Los estudios sobre el BSTE han destacado la riqueza de especies y la diversidad de interacciones que ocurren en estos bosques, así como la necesidad de proteger este bioma, a través de políticas claras y planes de conservación eficientes. Estos planes deberían considerar además la alarmante tasa de deforestación en el país, cuya principal motivación es la conversión hacia tierras cultivables o para uso ganadero (Bullock 1995; González-Rivas *et al.* 2006). Este panorama ciertamente requiere medidas urgentes de protección, conservación y restauración. En esta investigación, hemos desvelado una alta riqueza de crisomélidos y de sus plantas hospederas en los remanentes de BSTE, así como una alta diversidad beta entre comunidades, siendo la composición florística el componente que mejor explicó la composición de estas comunidades. Si consideramos que en nuestro estudio, de las doce localidades muestreadas, cuatro no tienen ninguna categoría de protección y cuatro son protegidas por iniciativa privada, se pone de manifiesto que se requieren mayores esfuerzos para proteger esta diversidad, tanto por parte del estado como de la sociedad

civil. Como se mencionó previamente, una medida potencialmente útil para evaluar el impacto *a priori* al que se exponen las comunidades ante perturbaciones ambientales, es la robustez de las redes tróficas, siendo R. Miraflores-Moropotente potencialmente la más vulnerable. Además, observamos que esta localidad y R. Domitila, fueron las más distintivas en términos de composición de especies (y de inferencias de dieta), florística y ambiental. Como la composición florística explica mejor que otros factores las diferencias en composición de las comunidades de crisomélidos, éste debería ser un factor fundamental a considerar en planes de conservación de los remanentes de BSTE, no sólo en Nicaragua. En este sentido, la conservación de crisomélidos e insectos con ecologías similares podría beneficiarse por el hecho de que la gran mayoría de programas de conservación y restauración consideran la riqueza de especies vegetales como el criterio fundamental para establecer áreas protegidas. Nuestro énfasis sobre las interacciones como parte integral de un estudio de biodiversidad, destaca por tanto el valor de las actuaciones sobre un componente de la biodiversidad por los efectos que puedan tener sobre otros elementos del ecosistema.

Si la riqueza de especies es la forma más utilizada de medir la biodiversidad (Gotelli & Colwell 2011), se utiliza para identificar *hotspots* de diversidad biológica y juega un papel clave en planes de conservación, con la información generada sobre biodiversidad de crisomélidos y la de sus plantas hospederas en el BSTE de Nicaragua, aspiramos a resaltar la importancia y diversidad de este bioma, de tal forma que contribuya en planes de manejo y conservación. Por ejemplo, el simple hecho de encontrar sólo un 4 % especies comunes entre las localidades estudiadas, sugiere que probablemente otras zonas de BSTE también tienen tasas similares de reemplazamiento de especies. Esto tiene profundas implicaciones porque significa que estos remanentes de bosque mantienen núcleos únicos de especies e interacciones, y además el rango de las mismas podría ser comparable o superior al del bosque húmedo tropical (Charles & Basset 2005). Aunque Nicaragua presenta uno de los niveles más altos de fragmentación de BSTE en Centroamérica (Portillo-Quintero & Sánchez-Azofeifa 2010), es el país donde aún existe la mayor proporción de este tipo de bosque en la región. Otros países como Guatemala y Costa Rica mantienen entre un 0,3-0,4 %, y de forma muy fragmentada (Calvo-Alvarado *et al.* 2009; Portillo-Quintero & Sánchez-Azofeifa 2010). Por lo tanto, basándonos en el tipo de datos obtenidos a partir del estudio de una fracción de la biodiversidad asociada a este bosque, una propuesta de conservación que protegiese las zonas de bosque con los niveles más altos de diferenciación en su composición florística, promoverían la conservación de las comunidades, a su vez

características, que habitan en estos fragmentos de bosque. Considerando que muchas especies y géneros de plantas están restringidos al BSTE y reflejan historias evolutivas propias de este bioma (Pennington *et al.* 2009), las acciones destinadas a promover la conservación de los pequeños remanentes de bosque, mediante ayudas y capacitación a los propietarios, generarían un gran impacto en los procesos ecológicos y evolutivos del BSTE no sólo en Nicaragua sino en Mesoamérica. Los esfuerzos de conservación implementados en Nicaragua, a través del Sistema Nacional de Áreas Protegidas (SINAP), en este sentido contribuyen a la protección de las especies de crisomélidos y sus interacciones tróficas, además de otras especies que habitan el BSTE. Sin embargo, incluir otros pequeños fragmentos de BSTE dentro del sistema de áreas protegidas, sin duda contribuirá a mantener la diversidad única que poseen.



# **CONCLUSIONES**



1. Nuestro muestreo permitió obtener una buena representación de ejemplares pertenecientes a Cassidinae y Galerucinae *sensu lato*, en cuatro localidades protegidas del rango de distribución del bosque seco tropical estacional en Nicaragua, proporcionándonos 448 individuos en Reserva Miraflores-Moropotente, 205 en R. Natura, 147 en R. Domitila y 330 en Finca Sierra Serena. El estudio de ocho localidades adicionales con diferente grado de protección, proporcionaron 190 ejemplares más, y pertenecientes en total a 251 morfoespecies, 69 de Cassidinae y 182 de Galerucinae *s. l.*
2. Confirmamos que en estudios de biodiversidad a gran escala, la delimitación de especies de coleópteros herbívoros utilizando *cox1* es una herramienta eficaz, que provee de una delimitación inicial objetiva e identifica especies putativas ante la falta de hipótesis taxonómicas *preliminares*, permitiendo solventar en algo la limitación impuesta por el impedimento taxonómico para insectos en los trópicos.
3. Utilizamos la información filogenética contenida en este marcador y métodos objetivos de delimitación de especies, concretamente PTP y varias implementaciones de GMYC, que permitieron inferir entre 71-78 especies putativas de Cassidinae, y entre 179-209 especies putativas de Galerucinae *s. l.*. Los distintos métodos usados mostraron un rendimiento similar, concordando en un 83-93 % entre morfoespecies y especies delimitadas con estos métodos.
4. Las discrepancias entre hipótesis moleculares de especies y la diversidad morfológica observada pudieron explicarse en algunos casos por la posibilidad de estructura geográfica marcada en alguna de las especies, siendo las poblaciones meridionales en general las más divergentes para *cox1*. Sin embargo, en la mayoría de los casos, la discrepancia se debió a un único haplotípico divergente. Este patrón se atribuyó tentativamente a potencial parafilia por separación incompleta de linajes, indetectable como tal en un muestreo regional como el de nuestro estudio, excepto por su señal en el proceso de coalecencia.
5. Con una estima de 250-290 especies de Cassidinae y Galerucinae *s. l.* observadas en la muestra, y la predicción teórica de hasta un tercio más de especies presentes en este bioma, se puede considerar que el bosque seco tropical estacional de Nicaragua

alberga una muy alta riqueza de especies de crisomélidos. En cualquier caso, los cálculos de riqueza de especies pueden haberse visto afectados en parte por la elevada proporción de observaciones únicas (*singletons*) o dobles (*doubletons*) en el muestreo, una circunstancia por otra parte muy común en los análisis de diversidad tropical.

6. La proporción de especies compartidas fue muy baja entre localidades ( $0,43 < \beta_{\text{soc}} < 0,76$ ). Cada localidad estudiada presentó una comunidad de crisomélidos notablemente diferente al resto, siendo el reemplazamiento de especies el factor que más influyó en los patrones observados de diversidad beta.
7. Nuestra aproximación para superar el impedimento ecológico, al menos en parte, consistió en la investigación de asociaciones tróficas de los crisomélidos con los mismos criterios de análisis rápido de la biodiversidad a partir de marcadores moleculares que usamos en la delimitación de especies. En este caso, usamos un marcador cloroplástico de dieta, *psbA-trnH*, con capacidad contrastada de discriminación entre especies vegetales, y una automatización del proceso de identificación taxonómica a partir de estas secuencias (usando el *pipeline* informático BAGpipe).
8. El criterio estricto para la asignación taxonómica de las secuencias implementado en BAGpipe, junto con la base de datos de flora local, proporcionó asignaciones taxonómicos en distintos rangos para 1.133 fragmentos de *psbA-trnH*, muchos de ellos entre género y familia.
9. La diversidad y alta divergencia filogenética entre dietas inferidas para una misma especie, incluso en casos de especies supuestamente oligófagas, fomentó una visión crítica sobre este tipo de inferencias basadas en el uso de PCR y potencialmente afectadas por los sesgos de esta técnica. Un estudio sobre varias especies de Cassidinae y Galerucinae *s. l.* y diseñado para evaluar la posibilidad de resultados erróneos debidos a contaminación con ADN ambiental, demostró que esta posibilidad debe ser tenida muy en cuenta, pero a la vez apoyó la idea de que las dietas de estos organismos pueden ser más amplias de lo considerado habitualmente.

10. A partir del análisis de la fiabilidad en la inferencia de dietas, fuimos más conservativos en la utilización de estos datos, descartando 272 secuencias e inferencias de origen dudoso. Según la selección de inferencias más sólidas, los crisomélidos mostraron asociaciones con un amplio rango de plantas hospederas, de modo que 257 especies putativas de coleóptero se asociaron con 188 plantas de 43 órdenes botánicos, siendo las familias mejor representadas Acanthaceae, Amaranthaceae, Asteraceae, Bignoniaceae, Cordiaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Malvaceae, Poaceae, Rubiaceae y Solanaceae.
11. Las especies de Cassidinae usan recursos alimenticios de un menor número de familias botánicas al comparar con Galerucinae s. l., y el 76 % de los crisomélidos (ó 50 % al eliminar observaciones únicas) se asociaron a una o dos especies vegetales, a menudo de órdenes diferentes, sugiriendo la capacidad de alimentarse de plantas altamente divergentes.
12. El análisis de las asociaciones entre insectos y plantas (interacciones bitróficas) en cada una de las localidades estudiadas, permitió una visión preliminar sobre la estructura de estas interacciones. La distribución de las interacciones y las medidas descriptoras de redes tróficas derivadas a partir de ellas mostraron diferencias entre localidades, sugiriendo que algunas serían más sensibles que otras frente a alteraciones del hábitat con extinción de plantas. Aparentemente, la Reserva Miraflores-Moropotente sería de las más afectadas al poseer plantas que sustentan muchas interacciones.
13. Conociendo la existencia de diferencias marcadas entre las comunidades de crisomélidos estudiadas, así como en la forma en que se asociaban con plantas como potencial alimento, analizamos si estas diferencias podían correlacionarse con algún factor que pudiera explicarlas. Diferentes parámetros geográficos (distancia), ambientales (clima) y ecológicos (cobertura arbórea, evapotranspiración, productividad, comunidad vegetal), se transformaron en distancias, y se usaron métodos de correlación múltiple para evaluar su capacidad explicativa de las diferencias entre comunidades de insectos. De todas ellas, la composición florística explicaría más del 92 % de la variación respecto a las diferencias en composición de comunidades de crisomélidos, con muy escasa contribución del componente climático.

14. La elevada diversidad y singularidad local de las comunidades de crisomélidos y sus asociaciones con las plantas, como principal factor estructurador de esta diversidad, sugieren que propuestas de conservación que protegiesen las zonas de bosque con los niveles más altos de diferenciación en su composición florística, promoverían la conservación de las comunidades únicas de insectos herbívoros que habitan en estos fragmentos de bosque.
15. Por último, este estudio ha representado un avance y una ayuda muy significativos hacia el conocimiento y descripción de las comunidades de Chrysomelidae y sus asociaciones tróficas en el bosque seco tropical estacional de Nicaragua, proveyendo de información importante para abordar la actual crisis de biodiversidad, especialmente crítica en este bioma tan amenazado.





# **BIBLIOGRAFÍA**



- Agnarsson, I. & Kuntner, M. (2007) Taxonomy in a changing world: seeking solutions for a science in crisis. *Systematic Biology*, **56**, 531–539.
- Ahrens, D., Monaghan, M.T. & Vogler, A.P. (2007) DNA-based taxonomy for associating adults and larvae in multi-species assemblages of chafers (Coleoptera: Scarabaeidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **44**, 436–449.
- Albuquerque, F.S. de, Benito, B., Beier, P., Assunção-Albuquerque, M.J. & Cayuela, L. (2015) Supporting underrepresented forests in Mesoamerica. *Natureza & Conservação*, **13**, 152–158.
- Allewaert, C.C., Vanormelingen, P., Pröschold, T., Gómez, P.I., González, M.A., Bilcke, G., et al. (2015) Species diversity in European Haematococcus pluvialis (Chlorophyceae, Volvocales). *Phycologia*, **54**, 583–598.
- Altschul, S.F., Madden, T.L., Schäffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., et al. (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, **25**, 3389–402.
- Anderson, M.J., Crist, T.O., Chase, J.M., Vellend, M., Inouye, B.D., Freestone, A.L., et al. (2011) Navigating the multiple meanings of B diversity: a roadmap for the practicing ecologist. *Ecology Letters*, **14**, 19–28.
- Anderson, R.S. & Ashe, J.S. (2000) Leaf litter inhabiting beetles as surrogates for establishing priorities for conservation of selected tropical montane cloud forests in Honduras, Central America (Coleoptera; Staphylinidae, Curculionidae). *Biodiversity and Conservation*, **9**, 617–653.
- Andrews, F.G. & Gilbert, A.J. (2005) A preliminary annotated checklist and evaluation of the diversity of the Chrysomelidae (Coleoptera) of the Baja California peninsula, Mexico. *Insecta Mundi*, **19**, 89–116.
- Andújar, C., Arribas, P., Ruzicka, F., Crampton-Platt, A., Timmermans, M.J.T.N. & Vogler, A.P. (2015) Phylogenetic community ecology of soil biodiversity using mitochondrial metagenomics. *Molecular Ecology*, **24**, 3603–3617.
- Antonelli, A. & Sanmartín, I. (2011) Why are there so many plant species in the Neotropics? *Taxon*, **60**, 403–414.
- Araújo, M.B. & Pearson, R.G. (2005) Equilibrium of species' distribution with climate. *Ecography*, **28**, 693–695.
- Araújo, M.B. & Peterson, A.T. (2012) Uses and misuses of bioclimatic envelope modeling. *Ecology*, **93**, 1527–1539.
- Astrin, J.J., Stüben, P.E., Misof, B., Wägele, J.W., Gimnich, F., Raupach, M.J., et al.

(2012) Exploring diversity in cryptorhynchine weevils (Coleoptera) using distance-, character- and tree-based species delineation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **63**, 1–14.

Bagley, J.C., Alda, F., Breitman, M.F., Bermingham, E., Berghe, E.P. van den & Johnson, J.B. (2015) Assessing species boundaries using multilocus species delimitation in a morphologically conserved group of Neotropical freshwater fishes, the Poecilia sphenops species complex (Poeciliidae). *Plos One*, **10**, e0121139.

Bambach, R.K. (2006) Phanerozoic biodiversity mass extinctions. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, **34**, 127–155.

Banda-R, K., Delgado-Salinas, A., Dexter, K.G., Linares-Palomino, R., Oliveira-Filho, A., Prado, D., et al. (2016) Plant diversity patterns in neotropical dry forests and their conservation implications. *Science*, **353**, 1383 LP-1387.

Barley, A.J., White, J., Diesmos, A.C. & Brown, R.M. (2013) The challenge of species delimitation at the extremes: diversification without morphological change in Philippine sun skinks. *Evolution*, **67**, 3556–3572.

Barnosky, A.D., Matzke, N., Tomiya, S., Wogan, G.O.U., Swartz, B., Quental, T.B., et al. (2011) Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature*, **471**, 51–57.

Baselga, A. (2010) Partitioning the turnover and nestedness components of beta diversity. *Global Ecology and Biogeography*, **19**, 134–143.

Baselga, A., Fujisawa, T., Crampton-Platt, A., Bergsten, J., Foster, P.G., Monaghan, M.T., et al. (2013) Whole-community DNA barcoding reveals a spatio-temporal continuum of biodiversity at species and genetic levels. *Nature Communications*, **4**, 1892.

Baselga, A. & Orme, C.D.L. (2012) betapart: an R package for the study of beta diversity. *Methods in Ecology and Evolution*, **3**, 808–812.

Basset, Y., Cizek, L., Cuenoud, P., Didham, R.K., Guilhaumon, F., Missa, O., et al. (2012) Arthropod diversity in a tropical forest. *Science*, **338**, 1481–1484.

Basset, Y., Samuelson, G.A., Allison, A. & Miller, S.E. (1996) How many species of host-specific insects feed on a species of tropical tree? *Biological Journal of the Linnean Society*, **59**, 201–216.

Baum, D. (1992) Phylogenetic species concepts. *Trends in Ecology & Evolution*, **7**, 2–3.

Becerra, J.X. (2007) The impact of herbivore-plant coevolution on plant community structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**, 7483–7488.

Beng, K.C., Tomlinson, K.W., Shen, X.H., Surget-Groba, Y., Hughes, A.C., Corlett, R.T., *et al.* (2016) The utility of DNA metabarcoding for studying the response of arthropod diversity and composition to land-use change in the tropics. *Scientific reports*, **6**, 24965.

Berger, S.A., Krompass, D. & Stamatakis, A. (2011) Performance, accuracy, and Web server for evolutionary placement of short sequence reads under maximum likelihood. *Systematic Biology*, **60**, 291–302.

Bersier, L.-F., Banašek-Richter, C. & Cattin, M.-F. (2002) Quantitative descriptors of food-web matrices. *Ecology*, **83**, 2394–2407.

Béthoux, O. (2009) The earliest beetle identified. *Journal of Paleontology*, **83**, 931–937.

Birky, C.W., Ricci, C., Melone, G. & Fontaneto, D. (2011) Integrating DNA and morphological taxonomy to describe diversity in poorly studied microscopic animals: new species of the genus Abrochtha Bryce, 1910 (Rotifera: Bdelloidea: Philodinavidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, **161**, 723–734.

Blackie, R., Baldauf, C., Gautier, D., Gumbo, D., Kassa, H., Parthasarathy, N., *et al.* (2014) Bosques tropicales secos. *El estado del conocimiento global y recomendaciones para investigaciones futuras*. Bogor, Indonesia.

Blair, C., Méndez de la Cruz, F.R., Law, C. & Murphy, R.W. (2015) Molecular phylogenetics and species delimitation of leaf-toed geckos (Phyllodactylidae: Phyllodactylus) throughout the Mexican tropical dry forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **84**, 254–265.

Blasco, F., Whitmore, T.C. & Gers, C. (2000) A framework for the worldwide comparison of tropical woody vegetation types. *Biological Conservation*, **95**, 175–189.

Borcard, D., Gillet, F. & Legendre, P. (2011) *Numerical ecology with R*. Springer Science & Business Media.

Britton, T., Anderson, C.L., Jacquet, D., Lundqvist, S. & Bremer, K. (2007) Estimating divergence times in large phylogenetic trees. *Systematic Biology*, **56**, 741–752.

Brower, A.V.Z. (1999) Delimitation of phylogenetic species with DNA sequences: a critique of Davis and Nixon's population aggregation analysis. *Systematic biology*, **48**, 199–213.

Brown, P.M.J., Ingels, B., Wheatley, A., Rhule, E.L., Clercq, P. de, Van-Leeuwen, T., *et al.* (2015) Intraguild predation by Harmonia axyridis (Coleoptera: Coccinellidae) on native insects in Europe: molecular detection from field samples. *Entomological Science*, **18**, 130–133.

Bullock, S.H. (1995) Plant reproduction in neotropical dry forests. In *Seasonally dry tropical forests* (ed. by Bullock, S.H., Mooney, H.A. & Medina, E.). Cambridge University Press, pp. 277–303.

Bullock, S.H., Mooney, H.A. & Medina, E. (Eds.). (1995) *Seasonally dry tropical forest*. Cambridge University Press.

Burgos, E., Ceva, H., Perazzo, R.P.J., Devoto, M., Medan, D., Zimmermann, M., et al. (2007) Why nestedness in mutualistic networks? *Journal of Theoretical Biology*, **249**, 307–313.

Calvo-Alvarado, J., McLennan, B., Sánchez-Azofeifa, A. & Garvin, T. (2009) Deforestation and forest restoration in Guanacaste, Costa Rica: Putting conservation policies in context. *Forest Ecology and Management*, **258**, 931–940.

Carbayo, F. & Marques, A.C. (2011) The costs of describing the entire animal kingdom. *Trends in Ecology and Evolution*, **26**, 154–155.

Carew, M.E. & Hoffmann, A.A. (2015) Delineating closely related species with DNA barcodes for routine biological monitoring. *Freshwater Biology*, **60**, 1545–1560.

Carstens, B.C., Pelletier, T.A., Reid, N.M. & Satler, J.D. (2013) How to fail at species delimitation. *Molecular Ecology*, **22**, 4369–4383.

Cavender-Bares, J., Kozak, K.H., Fine, P.V.A. & Kembel, S.W. (2009) The merging of community ecology and phylogenetic biology. *Ecology letters*, **12**, 693–715.

CBOL Plant Working Group. (2009) A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 12794–12797.

Central Intelligence Agency, World Wildlife Fund, Conservation International & US State Department. (2012) Nicaragua. Retrieved from <http://www.eoearth.org/view/article/154847>. *Encyclopedia of Earth*.

Chaboo, C.S. (2007) Biology and phylogeny of the Cassidinae Gyllenhal sensu lato (Tortoise and Leaf-Mining beetles) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, **305**, 1–250.

Chaboo, C.S., Friero-Costa, F.A., Gómez-Zurita, J. & Westerduijn, R. (2014) Origins and diversification of subsociality in leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae: Chrysomelinae). *Journal of Natural History*, **48**, 2325–2367.

Chao, A., Chazdon, R.L., Colwell, R.K. & Shen, T.J. (2005) A new statistical approach for assessing similarity of species composition with incidence and abundance data. *Ecology Letters*, **8**, 148–159.

Charles, E. & Basset, Y. (2005) Vertical stratification of leaf-beetle assemblages (Coleoptera: Chrysomelidae) in two forest types in Panama. *Journal of Tropical Ecology*, **21**, 329–336.

Chesters, D. (2013) collapsetypes.pl.

Christenhusz, M.J.M. & Byng, J.W. (2016) The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa*, **261**, 201–217.

Coddington, J.A., Agnarsson, I., Miller, J.A., Kuntner, M. & Hormiga, G. (2009) Undersampling bias: the null hypothesis for singleton species in tropical arthropod surveys. *Journal of Animal Ecology*, **78**, 573–584.

Colwell, R.K. (2013) EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Available from: <http://purl.oclc.org/estimates>.

Condit, R., Pitman, N.C.A., Leigh Jr., E.G., Chave, J., Terborgh, J., Foster, R.B., *et al.* (2003) Beta-diversity in tropical forest trees. *Science*, **295**, 666–9.

Costa-Silva, G.J., Rodriguez, M.S., Roxo, F.F., Foresti, F. & Oliveira, C. (2015) Using different methods to access the difficult task of delimiting species in a complex Neotropical hyperdiverse group. *Plos One*, **10**, e0135075.

Costa, F.O. & Antunes, P.M. (2012) The contribution of the Barcode of Life Initiative to the discovery and monitoring of Biodiversity. In *Natural Resources, Sustainability and Humanity: A Comprehensive View* (ed. by Mendonca, A., Cunha, A. & Chakrabarti, R.). Springer Netherlands, pp. 37–68.

Costello, M.J., May, R.M. & Stork, N.E. (2013) Can we name Earth's species before they go extinct? *Science*, **339**, 413–416.

Costion, C., Ford, A., Cross, H., Crayn, D., Harrington, M. & Lowe, A. (2011) Plant DNA barcodes can accurately estimate species richness in poorly known floras. *PloS ONE*, **6**, e26841.

Cottontail, V.M., Kalko, E.K. V, Cottontail, L., Wellinghausen, N., Tschapka, M., Perkins, S.L., *et al.* (2014) High local diversity of Trypanosoma in a common bat species, and implications for the biogeography and taxonomy of the *T. cruzi* clade. *PLoS ONE*, **9**, e108603.

Crane, P.R., Friis, E.M. & Pedersen, K.R. (1995) The origin and early diversification of angiosperms. *Nature*, **374**, 27–33.

Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R. & Posada, D. (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, **9**, 772–772.

Darwin, C. (1859) *The origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life.*

Davis, J.I. & Nixon, K.C. (1992) Populations, genetic variation, and the delimitation of phylogenetic species. *Systematic Biology*, **41**, 421–435.

De la Cadena, G., Papadopoulou, A., Maes, J.-M. & Gómez-Zurita, J. (2016) Evaluation of bias on the assessment of diet breadth of herbivorous insects using molecular methods. *Insect Science*.

De Nova, J.A., Medina, R., Montero, J.C., Weeks, A., Rosell, J.A., Olson, M.E., et al. (2012) Insights into the historical construction of species-rich Mesoamerican seasonally dry tropical forests: The diversification of Bursera (Burseraceae, Sapindales). *New Phytologist*, **193**, 276–287.

Dellicour, S. & Flot, J.-F. (2015) Delimiting species-poor data sets using single molecular markers: a study of barcode gaps, haplowebs and GMYC. *Systematic Biology*, **64**, 900–908.

Descampe, A., Meskens, C., Pasteels, J., Windsor, D.M. & Hance, T. (2008) Potential and realized feeding niches of neotropical hispine beetles (Chrysomelidae: Cassidinae, Cephaloleiini). *Environmental Entomology*, **37**, 224–229.

Dincă, V., Lukhtanov, V.A., Talavera, G. & Vila, R. (2011) Unexpected layers of cryptic diversity in wood white Leptidea butterflies. *Nature Communications*, **2**, 324.

Dirzo, R., Young, H.S., Galetti, M., Ceballos, G., Isaac, N.J.B. & Collen, B. (2014) Defaunation in the Anthropocene. *Science*, **345**, 401–406.

Dirzo, R., Young, H.S., Harold A, M. & Ceballos, G. (2011) *Seasonally Dry Tropical Forests: Ecology and Conservation*. Island Press, Washington, Covelo, London.

Dormann, C.F., Elith, J., Bacher, S., Buchmann, C., Carl, G., Carré, G., et al. (2013) Collinearity: a review of methods to deal with it and a simulation study evaluating their performance. *Ecography*, **36**, 027–046.

Dormann, C.F., Fründ, J., Blüthgen, N. & Gruber, B. (2009) Indices, graphs and null models: analyzing bipartite ecological networks. *The Open Ecology Journal*, **2**, 7–24.

Dormann, C.F., Gruber, B. & Fründ, J. (2008) Introducing the bipartite package: analysing ecological networks. *R news*, **8**, 0–2413793.

Dowling, T.E. & Secor, C.L. (1997) The role of hybridization and introgression in the diversification of animals. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **28**, 593–619.

Doyle, J.A. (2012) Molecular and fossil evidence on the origin of angiosperms.

*Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, **40**, 301–326.

Doyle, J.J. (1992) Gene trees and species trees: molecular systematics as one-character taxonomy. *Systematic Botany*, **17**, 144–163.

Drummond, A.J., Ashton, B. & Buxton, S. (2010) Geneious v5.3.6. Biomatters, Ltd, Auckland, New Zealand. Available from [www.geneious.com](http://www.geneious.com).

Drummond, A.J., Ho, S.Y.W., Phillips, M.J. & Rambaut, A. (2006) Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biology*, **4**, e88.

Drummond, A.J., Suchard, M.A., Xie, D. & Rambaut, A. (2012) Bayesian phylogenetics with BEAUTi and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, **29**, 1969–1973.

Dumas, P., Barbut, J., Ru, B. Le, Silvain, J.-F., Clamens, A.-L., D'Alençon, E., et al. (2015) Phylogenetic molecular species delimitations unravel potential new species in the pest genus *Spodoptera* Guenée, 1852 (Lepidoptera, Noctuidae). *PLoS ONE*, **10**, e0122407.

Dunne, J.A., Williams, R.J. & Martinez, N.D. (2002) Network structure and biodiversity loss in food webs: robustness increases with connectance. *Ecology Letters*, **5**, 558–567.

Ehrlich, P.R. & Raven, P.H. (1964) Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution*, **18**, 586–608.

Eitzinger, B. & Traugott, M. (2011) Which prey sustains cold-adapted invertebrate generalist predators in arable land? Examining prey choices by molecular gut-content analysis. *Journal of Applied Ecology*, **48**, 591–599.

Ersts, P.J. (n.d.) Geographic Distance Matrix Generator (version 1.2.3). Available from [http://biodiversityinformatics.amnh.org/open\\_source/gdmg](http://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/gdmg).

Erwin, T.L. (1982) Tropical forests: their richness in Coleoptera and other arthropod species. *The Coleopterists Bulletin*, **36**, 74–75.

Erwin, T.L. & Geraci, C.J. (2009) Amazonian rainforest and their richness of Coleoptera, a dominant life form in the critical zone of the neotropics. In *Insect Biodiversity: Science and Society* (ed. by Foottit, R.G. & Adler, P.H.). Wiley-Blackwell, Oxford, UK.

Esselstyn, J.A., Evans, B.J., Sedlock, J.L., Anwarali Khan, F.A. & Heaney, L.R. (2012) Single-locus species delimitation: a test of the mixed Yule-coalescent model, with an empirical application to Philippine round-leaf bats. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **279**, 3678–3686.

- Estrada, E. (2007) Food webs robustness to biodiversity loss: the roles of connectance, expansibility and degree distribution. *Journal of Theoretical Biology*, **244**, 296–307.
- Ezard, T., Fujisawa, T. & Barraclough, T.G. (2009) SPlits: SPecies' LImits by Threshold Statistics. Available from <http://r-forge.r-project.org/projects/splits/>.
- Farrell, B.D. (1998) “Inordinate Fondness” explained: Why are there so many beetles? *Science*, **281**, 555–559.
- Fazekas, A.J., Steeves, R., Newmaster, S.G. & Hollingsworth, P.M. (2010) Stopping the stutter: Improvements in sequence quality from regions with mononucleotide repeats can increase the usefulness of non-coding regions for DNA barcoding. *Taxon*, **59**, 694–697.
- Fiaboe, K.K.M., Peterson, A.T., Kairo, M.T.K. & Roda, A.L. (2012) Predicting the potential worldwide distribution of the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliver) (Coleoptera: Curculionidae) using ecological niche modeling. *Florida Entomologist*, **95**, 659–673.
- Ficetola, G.F., Pansu, J., Bonin, A., Coissac, E., Giguet-Covex, C., Barba, M. De, *et al.* (2015) Replication levels, false presences and the estimation of the presence/absence from eDNA metabarcoding data. *Molecular Ecology Resources*, **15**, 543–556.
- Flowers, R.W. (1991) Aggregations of Cassidinae (Chrysomelidae) in Santa Rosa and Guanacaste National Parks, Costa Rica. *Biotropica*, **23**, 308–310.
- Flowers, R.W. & Chaboo, C.S. (2009) Novel host records of some cassidine leaf beetles from Ecuador (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae). *Insecta Mundi*, **95**, 1–8.
- Flowers, R.W. & Janzen, D.H. (1997) Feeding records of Costa Rican leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Florida Entomologist*, **80**, 334–366.
- Fontaneto, D., Flot, J.F. & Tang, C.Q. (2015) Guidelines for DNA taxonomy, with a focus on the meiofauna. *Marine Biodiversity*, **45**, 433–451.
- Fontaneto, D., Herniou, E.A., Boschetti, C., Caprioli, M., Melone, G., Ricci, C., *et al.* (2007) Independently evolving species in asexual bdelloid rotifers. *PLoS Biology*, **5**, e87.
- Fottit, R.G. & Adler, P.H. (2009) *Insect biodiversity: science and society*. John Wiley & Sons.
- Fujisawa, T. & Barraclough, T.G. (2013) Delimiting species using single-locus data

and the Generalized Mixed Yule Coalescent approach: A revised method and evaluation on simulated data sets. *Systematic Biology*, **44**, 1–49.

Fujisawa, T., Vogler, A.P. & Barraclough, T.G. (2014) Ecology has contrasting effects on genetic variation within species versus rates of molecular evolution across species in water beetles. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **282**, 20142476.

Fujita, M.D. & Leaché, A.D. (2011) A coalescent perspective on delimiting and naming species: a reply to Bauer et al. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **278**, 493–495.

Funk, D.J. & Omland, K.E. (2003) Species-level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **34**, 397–423.

Furth, D.G. (1988) The jumping apparatus of flea beetles (Alticinae) – the metafemoral spring. In *Biology of Chrysomelidae* (ed. by Jolivet P., Petipierre E. & Hsiao T.H.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 285–297.

Furth, D.G. (2003) *Special topics in leaf beetle biology. Proceedings of the Fifth International Symposium on the Chrysomelidae, 25-27 August 2000, Iguassu Falls, Brazil, XXI International Congress of Entomology. Pensoft Series Faunistica*. Pensoft Publishers, Sofia-Moscow.

Furth, D.G., Longino, J.T. & Paniagua, M. (2003) Survey and quantitative assessment of flea beetle diversity in a Costa Rican rainforest (Coleoptera: Chrysomelidae: Alticinae). In *Special topics in leaf beetle biology*. Pensoft Publishers, pp. 1–23.

Futuyma, D.J. & Agrawal, A.A. (2009) Macroevolution and the biological diversity of plants and herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1–8.

García-López, A., Micó, E., Múrria, C., Galante, E. & Vogler, A.P. (2013) Beta diversity at multiple hierarchical levels: explaining the high diversity of scarab beetles in tropical montane forests. *Journal of Biogeography*, **40**, 2134–2145.

García-Robledo, C., Erickson, D.L., Staines, C.L., Erwin, T.L. & Kress, W.J. (2013) Tropical plant–herbivore networks: reconstructing species interactions using DNA barcodes. *PLoS ONE*, **8**, e52967.

García-Robledo, C., Horvitz, C.C. & Staines, C.L. (2010) Larval morphology, development, and notes on natural history in *Cephaloleia* “rolled-leaf beetles” (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae). *Zootaxa*, **2610**, 50–68.

Gebiola, M., Gómez-Zurita, J., Monti, M.M., Navone, P. & Bernardo, U. (2012)

Integration of molecular, ecological, morphological and endosymbiont data for species delimitation within the *Pnigalio soemius* complex (Hymenoptera: Eulophidae). *Molecular Ecology*, **21**, 1190–1208.

Gentry, A.H. (1982) Neotropical floristic diversity: phytogeographical connections between Central and South America, Pleistocene climatic fluctuations, or an accident of the Andean orogeny? *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 557–593.

Gentry, A.H. (1995) *Biodiversity and conservation of neotropical montane forests*.

Gibson, J., Shokralla, S., Porter, T.M., King, I., Konynenburg, S. van, Janzen, D.H., et al. (2014) Simultaneous assessment of the macrobiome and microbiome in a bulk sample of tropical arthropods through DNA metasystematics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **111**, 8007–8012.

Gillespie, J.J., Tallamy, D.W., Riley, E.G. & Cognato, A.I. (2008) Molecular phylogeny of rootworms and related galerucine beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Zoologica Scripta*, **37**, 195–222.

Gillespie, T.W., Grijalva, A. & Farris, C.N. (2000) Diversity, composition, and structure of tropical dry forests in Central America. *Plant Ecology*, 37–47.

Gómez-Rodríguez, C., Crampton-Platt, A., Timmermans, M.J.T.N., Baselga, A. & Vogler, A.P. (2015) Validating the power of mitochondrial metagenomics for community ecology and phylogenetics of complex assemblages. *Methods in Ecology and Evolution*, **6**, 883–894.

Gómez-Zurita, J. & Cardoso, A. (2014) Systematics of the New Caledonian endemic genus *Taophila* Heller (Coleoptera: Chrysomelidae, Eumolpinae) combining morphological, molecular and ecological data, with description of two new species. *Systematic Entomology*, **39**, 111–126.

Gómez-Zurita, J., Cardoso, A., Coronado, I., De la Cadena, G., Jurado-Rivera, J.A., Maes, J.-M., et al. (2016) High-throughput biodiversity analysis: rapid assessment of species richness and ecological interactions of Chrysomelidae (Coleoptera) in the tropics. *ZooKeys*, **597**, 3–26.

Gómez-Zurita, J., Cardoso, A., Jurado-Rivera, J.A., Jolivet, P., Cazères, S. & Mille, C. (2010) Discovery of new species of New Caledonian *Arsipoda* Erichson, 1842 (Coleoptera: Chrysomelidae) and insights on their ecology and evolution using DNA markers. *Journal of Natural History*, **44**, 2557–2579.

Gómez-Zurita, J., Hunt, T., Kopliku, F. & Vogler, A.P. (2007) Recalibrated tree of leaf beetles (Chrysomelidae) indicates independent diversification of angiosperms and their insect herbivores. *PloS ONE*, **2**, e360.

Gómez-Zurita, J., Hunt, T. & Vogler, A.P. (2008) Multilocus ribosomal RNA

- phylogeny of the leaf beetles (Chrysomelidae). *Cladistics*, **24**, 34–50.
- Gómez-Zurita, J., Sassi, D., Cardoso, A. & Balke, M. (2012) Evolution of Cryptocephalus leaf beetles related to *C. sericeus* (Coleoptera: Chrysomelidae) and the role of hybridization in generating species mtDNA paraphyly. *Zoologica Scripta*, **41**, 47–67.
- González-Caro, S., Umaña, M.N., Álvarez, E., Stevenson, P.R. & Swenson, N.G. (2014) Phylogenetic alpha and beta diversity in tropical tree assemblages along regional-scale environmental gradients in northwest South America. *Journal of Plant Ecology*, **7**, 145–153.
- González-Rivas, B., Tigabu, M., Gerhardt, K., Castro-Marín, G. & Odén, P.C. (2006) Species composition, diversity and local uses of tropical dry deciduous and gallery forests in Nicaragua. *Biodiversity and Conservation*, **15**, 1509–1527.
- Gonzalez, M.A., Baraloto, C., Engel, J., Mori, S.A., Pétronelli, P., Riéra, B., et al. (2009) Identification of Amazonian trees with DNA barcodes. *PLoS ONE*, **4**, e7483.
- Goslee, S.C. (2010) Correlation analysis of dissimilarity matrices. *Plant Ecology*, **206**, 279–286.
- Goslee, S.C. & Urban, D.L. (2007) The ecodist package for dissimilarity-based analysis of ecological data. *Journal Of Statistical Software*, **22**, 1–19.
- Gotelli, N. & Colwell, R. (2011) Estimating species richness. In *Biological Diversity. Frontiers in Measurement and Assessment* (ed. by Magurran, A.E. & McGill, B.J.). Oxford University Press, pp. 39–54.
- Gotelli, N.J. & Chao, A. (2013) Measuring and estimating species richness, species diversity and biotic similarity from sampling data. In *Encyclopedia of Biodiversity* (ed. by Levin, S.A.). Academic Press, Waltham, MA, pp. 195–211.
- Graham, M.H. (2003) Confronting multicollinearity in ecological multiple regression. *Ecology*, **84**, 2809–2815.
- Greenstone, M.H., Weber, D.C., Coudron, T.A., Payton, M.E. & Hu, J.S. (2012) Removing external DNA contamination from arthropod predators destined for molecular gut-content analysis. *Molecular Ecology Resources*, **12**, 464–469.
- Grimaldi, D. & Engel, M.S. (2005) *Evolution of the Insects*. Cambridge University Press.
- Griscom, H.P. & Ashton, M.S. (2011) Restoration of dry tropical forests in Central America: A review of pattern and process. *Forest Ecology and Management*, **261**, 1564–1579.

Guillemin, M.-L., Contreras-Porcia, L., Ramírez, M.E., Macaya, E.C., Bulboa Contador, C., Woods, H., *et al.* (2015) The bladed Bangiales (Rhodophyta) of the South Eastern Pacific: molecular species delimitation reveals extensive diversity. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **94**, 814–826.

Hambäck, P.A., Weingartner, E., Ericson, L., Fors, L., Cassel-Lundhagen, A., Stenberg, J.A., *et al.* (2013) Bayesian species delimitation reveals generalist and specialist parasitic wasps on Galerucella beetles (Chrysomelidae): sorting by herbivore or plant host. *BMC Evolutionary Biology*, **13**, 1–14.

Hamilton, C.A., Formanowicz, D.R. & Bond, J.E. (2011) Species delimitation and phylogeography of *Aphonopelma hentzi* (Araneae, Mygalomorphae, Theraphosidae): cryptic diversity in North American tarantulas. *PLoS ONE*, **6**, e26207.

Hanson, P.E. (2011) Insect diversity in seasonally dry tropical forests. In *Seasonally Dry Tropical Forests: Ecology and Conservation* (ed. by Dirzo, R., Young, H.S., Mooney, H.A. & Ceballos, G.). Island Press, pp. 71–84.

Harcourt, C.S. & Sayer, J.A. (Eds.). (1996) *The Conservation Atlas of Tropical Forests: The Americas*. Simon & Schuster.

Hartley, S., Krushelnicky, P.D. & Lester, P.J. (2010) Integrating physiology, population dynamics and climate to make multi-scale predictions for the spread of an invasive insect: the Argentine ant at Haleakala National Park, Hawaii. *Ecography*, **33**, 83–94.

Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. & DeWaard, J.R. (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **270**, 313–21.

Hebert, P.D.N. & Gregory, T.R. (2005) The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Systematic Biology*, **54**, 852–859.

Hebert, P.D.N., Penton, E.H., Burns, J.M., Janzen, D.H. & Hallwachs, W. (2004) Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**, 14812–14817.

Hedin, M. (2015) High-stakes species delimitation in eyeless cave spiders (Cicurina, Dictynidae, Araneae) from central Texas. *Molecular Ecology*, **24**, 346–361.

Hendrich, L., Pons, J., Ribera, I. & Balke, M. (2010) Mitochondrial cox1 sequence data reliably uncover patterns of insect diversity but suffer from high lineage-idiosyncratic error rates. *PLoS ONE*, **5**, e14448.

Hennig, W. (1965) Phylogenetic systematics. *Annual review of entomology*, **10**, 97–116.

- Hoagland, K.E. (1996) The taxonomic impediment and the convention on biodiversity. *Association of Systematics Collections Newsletter*, **24**, 61–62.
- Horn, H.S. (1966) Measurement of “overlap” in comparative ecological studies. *The American Naturalist*, **100**, 419–424.
- Hortal, J., Roura-Pascual, N., Sanders, N.J. & Rahbek, C. (2010) Understanding (insect) species distributions across spatial scales. *Ecography*, **33**, 51–53.
- Hubbell, S.P. (2001) *The unified neutral theory of biodiversity and biogeography. Monographs in Population Biology-32*. Princeton University Press.
- Hudson, R.R. (1990) Gene genealogies and the coalescent process. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology*, **7**, 1–44.
- Hunt, T., Bergsten, J., Levkanicova, Z., Papadopoulou, A., John, O. St., Wild, R., et al. (2007) A comprehensive phylogeny of beetles reveals the evolutionary origins of a superradiation. *Science*, **318**, 1913–1916.
- Ikeda, H., Nishikawa, M. & Sota, T. (2012) Loss of flight promotes beetle diversification. *Nature Communications*, **3**, 648.
- Janzen, D.H. (1988) Tropical Dry Forests, the most endangered major tropical ecosystem. In *Biodiversity* (ed. by Wilson, E.O. & Peter, F.M.).
- Jenkins, C.N., Pimm, S.L. & Joppa, L.N. (2013) Global patterns of terrestrial vertebrate diversity and conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **110**, E2602–E2610.
- Ji, Y., Ashton, L., Pedley, S.M., Edwards, D.P., Tang, Y., Nakamura, A., et al. (2013) Reliable, verifiable and efficient monitoring of biodiversity via metabarcoding. *Ecology Letters*, **16**, 1245–1257.
- Jinbo, U., Kato, T. & Ito, M. (2011) Current progress in DNA barcoding and future implications for entomology. *Entomological Science*, **14**, 107–124.
- Jolivet, P. & Hawkeswood, T.J. (1995) *Host-plants of Chrysomelidae of the world. An essay about the relationships between the leaf-beetles and their food-plants*.
- Jolivet, P. & Petitpierre, E. (1981) Biology of Chrysomelidae (Coleoptera). *Butlletí de la Institució Catalana d'Historia Natural*, **47**, 105–138.
- Jolivet, P., Santiago-Blay, J. & Schmitt, M. (2008) *Research on Chrysomelidae*. Brill Academic Publisher, Leiden, The Netherlands.
- Joly, S., Davies, T.J., Archambault, A., Bruneau, A., Derry, A., Kembel, S.W., et al.

(2014) Ecology in the age of DNA barcoding: the resource, the promise and the challenges ahead. *Molecular Ecology Resources*, **14**, 221–232.

Jurado-Rivera, J.A., Vogler, A.P., Reid, C.A.M., Petitpierre, E. & Gómez-Zurita, J. (2009) DNA barcoding insect-host plant associations. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **276**, 639–648.

Kajtoch, Ł. (2014) A DNA metabarcoding study of a polyphagous beetle dietary diversity: the utility of barcodes and sequencing techniques. *Folia Biologica*, **62**.

Kajtoch, Ł., Kubisz, D., Heise, W., Mazur, M.A. & Babik, W. (2015) Plant-herbivorous beetle networks: molecular characterization of trophic ecology within a threatened steppic environment. *Molecular Ecology*.

Kalacska, M.E.R., Sanchez-Azofeifa, G.A., Calvo-Alvarado, J.C., Quesada, M., Rivard, B. & Janzen, D.H. (2004) Species composition, similarity and diversity in three successional stages of a seasonally dry tropical forest. *Forest Ecology and Management*, **200**, 227–247.

Kapli, P., Lutteropp, S., Zhang, J., Kober, K., Pavlidis, P., Stamatakis, A., *et al.* (2016) Multi-rate Poisson tree Processes for single-locus species delimitation under Maximum Likelihood and Markov Chain Monte Carlo. *bioRxiv*, 63875.

Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K. & Miyata, T. (2002) MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*, **30**, 3059–3066.

Katoh, K. & Standley, D.M. (2013) MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. *Molecular Biology and Evolution*, **30**, 772–780.

Katz, A.D., Giordano, R. & Soto-Adames, F.N. (2015) Operational criteria for cryptic species delimitation when evidence is limited, as exemplified by North American Entomobrya (Collembola: Entomobryidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, **173**, 818–840.

Kekkonen, M., Mutanen, M., Kaila, L., Nieminen, M. & Hebert, P.D.N. (2015) Delineating species with DNA barcodes: a case of taxon dependent method performance in moths. *PLoS ONE*, **10**, e0122481.

Kergoat, G.J., Ru, B.P. Le, Sadeghi, S.E., Tuda, M., Reid, C.A.M., György, Z., *et al.* (2015) Evolution of Spermophagus seed beetles (Coleoptera, Bruchinae, Amblycerini) indicates both synchronous and delayed colonizations of host plants. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **89**, 91–103.

King, R.A., Read, D.S., Traugott, M. & Symondson, W.O.C. (2008) Molecular analysis of predation: a review of best practice for DNA-based approaches. *Molecular*

*Ecology*, **17**, 947–963.

Kishimoto-Yamada, K., Kamiya, K., Meleng, P., Diway, B., Kaliang, H., Chong, L., *et al.* (2013) Wide host ranges of herbivorous beetles? Insights from DNA bar coding. *PLoS ONE*, **8**, e74426.

Kitson, J.J.N., Warren, B.H., Vincent Florens, F.B., Baider, C., Strasberg, D. & Emerson, B.C. (2013) Molecular characterization of trophic ecology within an island radiation of insect herbivores (Curculionidae: Entiminae: Cratopus). *Molecular Ecology*, **22**, 5441–5455.

Klimaszewski, J., Morency, M.-J., Labrie, P., Séguin, A., Langor, D., Work, T., *et al.* (2013) Molecular and microscopic analysis of the gut contents of abundant rove beetle species (Coleoptera, Staphylinidae) in the boreal balsam fir forest of Quebec, Canada. *ZooKeys*, **24**, 1–24.

Kress, W.J. & Erickson, D.L. (2007) A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding rbcL gene complements the non-coding trnH-psbA spacer region. *PLoS ONE*, **2**, e508.

Kress, W.J., Erickson, D.L., Jones, F.A., Swenson, N.G., Perez, R., Sanjur, O., *et al.* (2009) Plant DNA barcodes and a community phylogeny of a tropical forest dynamics plot in Panama. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 18621–18626.

Kress, W.J., García-Robledo, C., Uriarte, M. & Erickson, D.L. (2015) DNA barcodes for ecology, evolution, and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, **30**, 25–35.

Kress, W.J., Wurdack, K.J., Zimmer, E.A., Weigt, L.A. & Janzen, D.H. (2005) Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**, 8369–8374.

Kumar, S., Stecher, G. & Tamura, K. (2016) MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*.

Kundrata, R., Baalbergen, E., Bocak, L. & Schilthuizen, M. (2015) The origin and diversity of Drilus Olivier, 1790 (Elateridae: Agrypninae: Drilini) in Crete based on mitochondrial phylogeny. *Systematics and Biodiversity*, **13**, 52–75.

Laliberté, E. & Tylianakis, J.M. (2010) Deforestation homogenizes tropical parasitoid-host networks. *Ecology*, **91**, 1740–1747.

Lamarck, J.B.P. (1809) *Philosophie zoologique*.

Lanfear, R., Calcott, B., Ho, S.Y.W. & Guindon, S. (2012) Partitionfinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses.

*Molecular Biology and Evolution*, **29**, 1695–1701.

Lang, A.S., Bocksberger, G. & Stech, M. (2015) Phylogeny and species delimitations in European Dicranum (Dicranaceae, Bryophyta) inferred from nuclear and plastid DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **92**, 217–225.

Leasi, F. & Norenburg, J.L. (2014) The necessity of DNA taxonomy to reveal cryptic diversity and spatial distribution of meiofauna, with a focus on Nemertea. *PLoS ONE*, **9**.

Leavitt, S.D., Divakar, P.K., Ohmura, Y., Wang, L., Esslinger, T.L. & Lumbsch, H.T. (2015) Who's getting around? Assessing species diversity and phylogeography in the widely distributed lichen-forming fungal genus Montanelia (Parmeliaceae, Ascomycota). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **90**, 85–96.

Lecocq, T., Dellicour, S., Michez, D., Dehon, M., Dewulf, A., Meulemeester, T. De, et al. (2015) Methods for species delimitation in bumblebees (Hymenoptera, Apidae, Bombus): towards an integrative approach. *Zoologica Scripta*, **44**, 281–297.

Legendre, P., Borcard, D. & Peres-Neto, P. (2005) Analyzing beta diversity: partitioning the spatial variation of community composition data. *Ecological Monographs*, **75**, 435–450.

Legendre, P. & Legendre, L. (1988) *Numerical Ecology, Volume 24. (Developments in Environmental Modelling)*. Second edi. Elsevier Science B.V., Amsterdam.

Leliaert, F., Verbruggen, H., Vanormelingen, P., Steen, F., López-Bautista, J.M., Zuccarello, G.C., et al. (2014) DNA-based species delimitation in algae. *European Journal of Phycology*, **49**, 179–196.

Levin, S.A. (1992) The problem of pattern and scale in ecology. *Ecology*.

Lewinsohn, T.M. & Roslin, T. (2008) Four ways towards tropical herbivore megadiversity. *Ecology Letters*, **11**, 398–416.

Lewis, O.T., Memmott, J., Lasalle, J., Lyal, C.H.C., Whitefoord, C. & Godfray, H.C.J. (2002) Structure of a diverse tropical forest insect-parasitoid community. *Journal of Animal Ecology*, **71**, 855–873.

Lewis, O.T. & Senior, M.J. (2011) Assessing conservation status and trends for the world's butterflies: the Sampled Red List Index approach. *Journal of Insect Conservation*, **15**, 121–128.

Lichstein, J.W. (2007) Multiple regression on distance matrices: a multivariate spatial analysis tool. *Plant Ecology*, **188**, 117–131.

Lin, X., Stur, E. & Ekrem, T. (2015) Exploring genetic divergence in a species-rich insect genus using 2790 DNA barcodes. *Plos One*, **10**, e0138993.

Linares-Palomino, R., Oliveira-Filho, A.T. & Pennington, R.T. (2011) Neotropical seasonally dry forests: diversity, endemism, and biogeography of woody plants. In *Seasonally Dry Tropical Forests: Ecology and Conservation* (ed. by Dirzo, R., Young, H.S., Mooney, H.A. & Ceballos, G.). Island Press, pp. 3–21.

Lingafelter, S.W. & Konstantinov, A.S. (1999) The monophyly and relative rank of alticine and galerucine leaf beetles: a cladistic analysis using adult morphological characters (Coleoptera: Chrysomelidae). *Insect Systematics & Evolution*, **30**, 397–416.

Linnaeus, C. (1735) *Systema Naturae*. First edit. Laurentii Salvii, Stockholm.

Linnaeus, C. (1753) *Species plantarum*. vol. 1. Laurentii Salvii, Stockholm.

Lis, J.A., Lis, B. & Ziaja, D.J. (2016) In BOLD we trust? A commentary on the reliability of specimen identification for DNA barcoding: a case study on burrower bugs (Hemiptera: Heteroptera: Cydnidae). *Zootaxa*, **4114**, 83–86.

Lohse, K. (2009) Can mtDNA barcodes be used to delimit species? A response to Pons et al. (2006). *Systematic Biology*, **58**, 439–442.

Maddison, W.P. & Knowles, L.L. (2006) Inferring phylogeny despite incomplete lineage sorting. *Systematic Biology*, **55**, 21–30.

Maes, J.-M. & Gómez-Zurita, J. (2016) Chrysomelidae (Coleoptera) de Nicaragua, Parte IV, Chrysomelinae. *Revista Nicaragüense de Entomología*, **76**, 3–94.

Maes, J.-M., Gómez-Zurita, J., Riley, E.G., Windsor, D., Borowiec, L. & Chaboo, C.S. (2016a) Chrysomelidae de Nicaragua, Parte VIII, Cassidinae sensu stricto (tortoise beetles). *Revista Nicaragüense de Entomología*, **76**, 3–189.

Maes, J.-M., Gómez-Zurita, J. & Staines, C.L. (2016b) Chrysomelidae (Coleoptera) de Nicaragua, Parte IX, Cassidinae hispinos. *Revista Nicaragüense de Entomología*, **76**, 3–201.

Manly, B.F.J. (1986) Randomization and regression methods for testing for association with geographical, environmental and biological distances between populations. *Researches on Population Ecology*, **28**, 201–218.

Mateo, R.G., Felicísimo, Á.M. & Muñoz, J. (2011) Modelos de distribución de especies: una revisión sintética. *Revista Chilena de Historia Natural*, **84**, 217–240.

Mayden, R.L. (1997) A hierarchy of species concepts: the denouement in the saga of the species problem. In *Species: The units of biodiversity* (ed. by Claridge, M.F., Dawah,

- H.A. & Wilson, R.M.). Chapman and Hall, London, pp. 381–424.
- McCann, K.S. (2000) The diversity-stability debate. *Nature*, **405**, 228–233.
- McKenna, D.D. & Farrell, B.D. (2005) Molecular phylogenetics and evolution of host plant use in the Neotropical rolled leaf “hispine” beetle genus *Cephaloleia* (Chevrolat) (Chrysomelidae: Cassidinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **37**, 117–131.
- McLeish, M.J. & van-Noort, S. (2012) Codivergence and multiple host species use by fig wasp populations of the *Ficus* pollination mutualism. *BMC Evolutionary Biology*, **12**, 1.
- Memmott, J., Waser, N.M. & Price, M. V. (2004) Tolerance of pollination networks to species extinctions. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **271**, 2605–2611.
- Meskens, C., McKenna, D.D., Hance, T. & Windsor, D.M. (2011) Host plant taxonomy and phenotype influence the structure of a neotropical host plant-hispine beetle food web. *Ecological Entomology*, **36**, 480–489.
- Miles, L., Newton, A.C., DeFries, R.S., Ravilious, C., May, I., Blyth, S., et al. (2006) A global overview of the conservation status of tropical dry forests. *Journal of Biogeography*, **33**, 491–505.
- Miller, M.A., Pfeiffer, W. & Schwartz, T. (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In *Gateway Computing Environments Workshop, GCE*. IEEE, 2010, pp. 1–7.
- Miller, S.E. (2007) DNA barcoding and the renaissance of taxonomy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**, 4775–4776.
- Miralles, A. & Vences, M. (2013) New metrics for comparison of taxonomies reveal striking discrepancies among species delimitation methods in *Madascincus* lizards. *PLoS ONE*, **8**, e68242.
- Misof, B., Liu, S., Meusemann, K., Peters, R.S., Donath, A., Mayer, C., et al. (2014) Phylogenomics resolves the timing and pattern of insect evolution. *Science*, **346**, 763–767.
- Mittermeier, R.A., Gil, R.P., Hoffman, M., Pilgrim, J., Brooks, T., Mittermeier, C.G., et al. (2004) *Hotspots revisited: Earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions*. CEMEX, Mexico City, Mexico.
- Modica, M.V., Puillandre, N., Castelin, M., Zhang, Y. & Holford, M. (2014) A good compromise: rapid and robust species proxies for inventorying biodiversity hotspots

using the Terebridae (Gastropoda: Conoidea). *PLoS ONE*, **9**, e102160.

Monaghan, M.T., Wild, R., Elliot, M., Fujisawa, T., Balke, M., Inward, D.J.G., *et al.* (2009) Accelerated species inventory on Madagascar using coalescent-based models of species delineation. *Systematic Biology*, **58**, sy027.

Montagna, M., Gómez-Zurita, J., Giorgi, A., Epis, S., Lozzia, G. & Bandi, C. (2015) Metamicrobiomics in herbivore beetles of the genus *Cryptocephalus* (Chrysomelidae): towards the understanding of ecological determinants in insect symbiosis. *Insect Science*, **22**.

Montagna, M., Sassi, D. & Giorgi, A. (2013) *Pachybrachis holerorum* (Coleoptera: Chrysomelidae: Cryptocephalinae), a new species from the Apennines, Italy, identified by integration of morphological and molecular data. *Zootaxa*, **3741**, 243–253.

Montelongo, T. & Gómez-Zurita, J. (2013) Morphological and molecular characterization of a new Nearctic species of *Calligrapha* Chevrolat, 1836 (Coleoptera: Chrysomelidae, Chrysomelinae) from Central Mexico. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, **115**, 369–391.

Moore, W.S. (1995) Inferring phylogenies from mtDNA variation: mitochondrial-gene trees versus nuclear-gene trees. *Evolution*, **49**, 718–726.

Mora, C., Tittensor, D.P., Adl, S., Simpson, A.G.B. & Worm, B. (2011) How many species are there on Earth and in the ocean? *PLoS Biology*, **9**, e1001127.

Murphy, P.G. & Lugo, A.E. (1986) Ecology of Tropical Dry Forest. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **17**, 67–88.

Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Fonseca, G.A.B. da & Kent, J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, **403**, 853–858.

Naciri, Y. & Linder, H.P. (2015) Species delimitation and relationships: the dance of the seven veils. *Taxon*, **64**, 3–16.

Nee, S., May, R.M. & Harvey, P.H. (1994) The reconstructed evolutionary process. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*.

Nekola, J.C. & White, P.S. (1999) The distance decay of similarity in biogeography and ecology. *Journal of Biogeography*, **26**, 867–878.

Newbold, T., Hudson, L.N., Arnell, A.P., Contu, S., Palma, A. De, Ferrier, S., *et al.* (2016) Has land use pushed terrestrial biodiversity beyond the planetary boundary? A global assessment. *Science*, **353**, 288–291.

- Newbold, T., Hudson, L.N., Hill, S.L.L., Contu, S., Lysenko, I., Senior, R.A., *et al.* (2015) Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. *Nature*, **520**, 45–50.
- Nguyen, D.T. & Gómez-Zurita, J. (2016) Subtle ecological gradient in the tropics triggers high species-turnover in a local geographical scale. *PLoS One*, **11**, e0156840.
- Noguera, F.A. (1988) Hispinae y Cassidinae (Coleoptera: Chrysomelidae) de Chamela, Jalisco, Mexico. *Folia Entomológica Mexicana*, **77**, 277–311.
- Noguera, F.A., Zaragoza-Caballero, S., Chemsak, J.A., Rodríguez-Palafox, A., Ramírez, E., González-Soriano, E., *et al.* (2002) Diversity of the family Cerambycidae (Coleoptera) of the tropical dry forest of Mexico, I. Sierra de Huautla, Morelos. *Annals of the Entomological Society of America*, **95**, 617–627.
- Novotny, V. & Basset, Y. (2000) Rare species in communities of tropical insect herbivores: pondering the mystery of singletons. *Oikos*, **89**, 564–572.
- Novotny, V., Miller, S.E., Hulcr, J., Drew, R.A.I., Basset, Y., Janda, M., *et al.* (2007) Low beta diversity of herbivorous insects in tropical forests. *Nature*, **448**, 692–695.
- O'Rourke, R., Lavery, S. & Jeffs, A. (2012) PCR enrichment techniques to identify the diet of predators. *Molecular Ecology Resources*, **12**, 5–17.
- Ødegaard, F. (2000) The relative importance of trees versus lianas as hosts for phytophagous beetles (Coleoptera) in tropical forests. *Journal of Biogeography*, **27**, 283–296.
- Ødegaard, F. (2006) Host specificity, alpha- and beta-diversity of phytophagous beetles in two tropical forests in Panama. *Biodiversity and Conservation*, **15**, 83–105.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P.R., O'Hara, R.B., *et al.* (2015a) Vegan: Community Ecology Package.
- Oksanen, J., Kindt, R. & Simpson, G.L. (2015b) Static and dynamic 3D plots for the “vegan” Package.
- Oliver, I. & Beattie, A.J. (1996) Designing a cost-effective invertebrate survey: a test of methods for rapid assessment of biodiversity. *Ecological Applications*, **6**, 594–607.
- Olson, D.M., Dinerstein, E., Wikramanayake, E.D., Burgess, N.D., Powell, G.V.N., Underwood, E.C., *et al.* (2001) Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth. *BioScience*, **51**, 933–938.
- Padial, J.M., Miralles, A., la Riva, I. De & Vences, M. (2010) The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, **7**, 1–14.

- Pamilo, P. & Nei, M. (1988) Relationships between gene trees and species trees. *Molecular Biology and Evolution*, **5**, 568–583.
- Pante, E., Schoelink, C. & Puillandre, N. (2014) From integrative taxonomy to species description: one step beyond. *Systematic Biology*, syu083.
- Papadopoulou, A., Cardoso, A. & Gómez-Zurita, J. (2013) Diversity and diversification of Eumolpinae (Coleoptera: Chrysomelidae) in New Caledonia. *Zoological Journal of the Linnean Society*, **168**, 473–495.
- Papadopoulou, A., Chesters, D., Coronado, I., De la Cadena, G., Cardoso, A., Reyes, J.C., et al. (2015) Automated DNA-based plant identification for large-scale biodiversity assessment. *Molecular Ecology Resources*, **15**, 136–152.
- Papadopoulou, A., Monaghan, M.T., Barraclough, T.G. & Vogler, A.P. (2009) Sampling error does not invalidate the Yule-Coalescent model for species delimitation. A response to Lohse (2009). *Systematic Biology*, **58**, 442–444.
- Paradis, E., Claude, J. & Strimmer, K. (2004) APE: Analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics*, **20**, 289–290.
- Parmentier, I., Duminil, J., Kuzmina, M., Philippe, M., Thomas, D.W., Kenfack, D., et al. (2013) How effective are DNA barcodes in the identification of African rainforest trees. *PLoS ONE*, **8**, e54921.
- Paula, D.P., Linard, B., Andow, D.A., Sujii, E.R., Pires, C.S. & Vogler, A.P. (2015) Detection and decay rates of prey and prey symbionts in the gut of a predator through metagenomics. *Molecular Ecology Resources*, **15**, 880–892.
- Pearson, R.G. & Dawson, T.P. (2003) Predicting the impacts of climate change on the distribution of species: Are bioclimate envelope models useful? *Global Ecology and Biogeography*, **12**, 361–371.
- Pennington, R.T., Lavin, M. & Oliveira-Filho, A.T. (2009) Woody plant diversity, evolution, and ecology in the tropics: perspectives from seasonally dry tropical forests. *The Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **40**, 437–457.
- Pennington, R.T., Prado, D.E. & Pendry, C.A. (2000) Neotropical seasonally dry forests and Quaternary vegetation changes. *Journal of Biogeography*, **27**, 261–273.
- Pinzón Navarro, S., Jurado-Rivera, J.A., Gómez-Zurita, J., Lyal, C.H.C. & Vogler, A.P. (2010) DNA profiling of host-herbivore interactions in tropical forests. *Ecological Entomology*, **35**, 18–32.
- Piñol, J., San Andrés, V., Clare, E.L., Mir, G. & Symondson, W.O.C. (2014) A pragmatic approach to the analysis of diets of generalist predators: the use of next-

generation sequencing with no blocking probes. *Molecular Ecology Resources*, **14**, 18–26.

Pocco, M.E., Minutolo, C., Dinghi, P.A., Lange, C.E., Confalonieri, V.A. & Cigliano, M.M. (2015) Species delimitation in the Andean grasshopper genus Orotettix Ronderos & Carbonell (Orthoptera: Melanoplinae): an integrative approach combining morphological, molecular and biogeographical data. *Zoological Journal of the Linnean Society*, **174**, 733–759.

Polaszek, A. (2005) A universal register for animal names. *Nature*, **437**, 477.

Pons, J., Barraclough, T.G., Gómez-Zurita, J., Cardoso, A., Duran, D.P., Hazell, S., et al. (2006) Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology*, **55**, 595–609.

Portillo-Quintero, C.A. & Sánchez-Azofeifa, G.A. (2010) Extent and conservation of tropical dry forests in the Americas. *Biological Conservation*, **143**, 144–155.

Posada, D. (2008) jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution*, **25**, 1253–1256.

Price, P.W. (2002) Resource-driven terrestrial interaction webs. *Ecological Research*, **17**, 241–247.

Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S. & ACHAZ, G. (2012a) ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*, **21**, 1864–1877.

Puillandre, N., Modica, M. V., Zhang, Y., Sirovich, L., Boisselier, M.-C., Cruaud, C., et al. (2012b) Large-scale species delimitation method for hyperdiverse groups. *Molecular Ecology*, **21**, 2671–2691.

QGIS Development Team. (2013) QGIS Geographic Information System. Available from <http://qgis.osgeo.org>.

Queiroz, K. De. (2005) A Unified Concept of Species and Its Consequences for the Future of Taxonomy. *Proceedings of the California Academy of Sciences, Series 4*, **56**, Sup. 1, 196–215.

Queiroz, K. De. (2007) Species concepts and species delimitation. *Systematic Biology*, **56**, 879–86.

R Development Core Team. (2013) R: A language and environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available from <http://www.r-project.org/>.

Rambaut, A. (2008) FigTree v1.3.1. Available from

[http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/.](http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/)

Rambaut, A. & Drummond, A.J. (2007) Tracer v1.5. Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.

Rannala, B. & Yang, Z. (2003) Bayes estimation of species divergence times and ancestral population sizes using DNA sequences from multiple loci. *Genetics Society of America*, **164**, 1645–1656.

Restrepo Correa, Z., Núñez Avellanedad, L.A., González-Caro, S., Velásquez-Puentes, F.J. & Bacon, C.D. (2016) Exploring palm-insect interactions across geographical and environmental gradients. *Botanical Journal of the Linnean Society*.

Ribera, I., Fresneda, J., Bucur, R., Izquierdo, A., Vogler, A.P., Salgado, J.M., et al. (2010) Ancient origin of a Western Mediterranean radiation of subterranean beetles. *BMC evolutionary biology*, **10**, 29.

Ricklefs, R.E. (2004) A comprehensive framework for global patterns in biodiversity. *Ecology Letters*, **7**, 1–15.

Riley, E.G., Clark, S.M., Flowers, R.W. & Gilbert, A.J. (2002) Chrysomelidae Latreille 1802. In *American Beetles, Vol. 2, Polyphaga: Scarabaeoidea through Curculionoidea* (ed. by Arnett, R.H., Thomas, M.C., Skelley, P.E. & Frank, J.H.). CRC Press, Boca Ratón, pp. 617–691.

Robertson, J.A., Ślipiński, A., Moulton, M., Shockley, F.W., Giorgi, A., Lord, N.P., et al. (2015) Phylogeny and classification of Cucujoidea and the recognition of a new superfamily Coccinelloidea (Coleoptera: Cucujiformia). *Systematic Entomology*, **40**, 745–778.

Rodman, J.E. & Cody, J.H. (2003) The taxonomic impediment overcome: NSF's partnerships for enhancing expertise in taxonomy (PEET) as a model. *Systematic Biology*, **52**, 428–435.

Rodriguero, M.S., Lanteri, a. a. & Confalonieri, V. a. (2013) Speciation in the asexual realm: Is the parthenogenetic weevil *Naupactus cervinus* a complex of species in statu nascendi? *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **68**, 644–656.

Roskov, Y., Abucay, L., Orrell, T., Nicolson, D., Kunze, T., Culham, A., et al. (2015) Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 2015 Annual Checklist. Available at [www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2015](http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2015). [WWW Document]. *Species 2000: Naturalis*. URL [accessed on 2015].

Ross, H.A., Murugan, S. & Li, W.L.S. (2008) Testing the reliability of genetic methods of species identification via simulation. *Systematic Biology*, **57**, 216–230.

- Roxo, F.F., Ochoa, L.E., Costa-Silva, G.J. & Oliveira, C. (2015) Species delimitation in Neoplectostomus (Siluriformes: Loricariidae) using morphologic and genetic approaches. *DNA Barcodes*, **3**, 110–117.
- Sabogal, C. (1992) Regeneration of tropical dry forests in Central America, with examples from Nicaragua. *Journal of Vegetation Science*, **3**, 407–416.
- Sánchez-Reyes, U.J., Niño-Maldonado, S. & Jones, R.W. (2014) Diversity and altitudinal distribution of Chrysomelidae (Coleoptera) in Peregrina Canyon, Tamaulipas, Mexico. *ZooKeys*, **417**, 103–132.
- Sanderson, M.J. (2003) r8s: inferring absolute rates of molecular evolution and divergence times in the absence of a molecular clock. *Bioinformatics*, **19**, 301–302.
- Sang, T., Crawford, D.J. & Stuessy, T.F. (1997) Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution, and biogeography of Paeonia (Paeoniaceae). *American Journal of Botany*, **84**, 1120–1136.
- Santiago-Blay, J.A. (2004) Leaf-mining chrysomelids. In *New developments in the biology of Chrysomelidae* (ed. by Santiago-Blay, J.A., Jolivet, P. & Schmitt, M.). pp. 305–306.
- Särkinen, T., Iganci, J.R. V., Linares-Palomino, R., Simon, M.F. & Prado, D.E. (2011) Forgotten forests - issues and prospects in biome mapping using Seasonally Dry Tropical Forests as a case study. *BMC Ecology*, **11**, 27.
- Schmidt, J.M., Szendrei, Z. & Grieshop, M. (2016) Elucidating the common generalist predators of Conotrachelus nenuphar (Herbst) (Coleoptera: Curculionidae) in an organic apple orchard using molecular gut-content analysis. *Insects*, **7**, 29.
- Schmitt, M. & Frank, M. (2013) Notes on the ecology of rolled-leaf hispines (Chrysomelidae, Cassidinae) at La Gamba (Costa Rica). *ZooKeys*, **69**, 55–69.
- Schwarzfeld, M.D. & Sperling, F.A.H. (2015) Comparison of five methods for delimitating species in Ophion Fabricius, a diverse genus of parasitoid wasps (Hymenoptera, Ichneumonidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **93**, 234–248.
- Seifert, R.P. (1982) Neotropical Heliconia insect communities. *The Quarterly Review of Biology*, **57**, 1–28.
- Shaw, J., Lickey, E.B., Beck, J.T., Farmer, S.B., Liu, W., Miller, J., et al. (2005) The tortoise and the hare II: Relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American Journal of Botany*, **92**, 142–166.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H. & Flook, P. (1994) Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the*

*Entomological Society of America*, **87**, 651–701.

Simpson, G.G. (1943) Mammals and the nature of continents. *American Journal of Science*, **241**.

Sites, J.W. & Marshall, J.C. (2003) Delimiting species: a Renaissance issue in systematic biology. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 462–470.

Sites, J.W. & Marshall, J.C. (2004) Operational criteria for delimiting species. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **35**, 199–227.

Smith, S.A. & O'Meara, B.C. (2012) treePL: divergence time estimation using penalized likelihood for large phylogenies. *Bioinformatics*, **28**, 2689–2690.

Soberón, J.M. (2010) Niche and area of distribution modeling: a population ecology perspective. *Ecography*, **33**, 159–167.

Sokal, R.R. & Sneath, P.H.A. (1963) *Principles of numerical taxonomy*. W.H. Freeman and Company, San Francisco.

Sørensen, T. (1948) A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species and its application to analyses of the vegetation on Danish commons. *Biol Skr Dan Vid Sel*, **5**, 1–34.

Staines, C.L. (2002) The new world tribes and genera of Hispines (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, **104**, 721–784.

Staines, C.L. (2011) Hispines (Chrysomelidae, Cassidinae) of La Selva Biological Station, Costa Rica. *ZooKeys*, **157**, 45–65.

Staines, C.L. & García-Robledo, C. (2014) The genus Cephaloleia Chevrolat, 1836 (Coleoptera, Chrysomelidae, Cassidinae). *ZooKeys*, **436**, 1–355.

Stamatakis, A. (2006) RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, **22**, 2688–2690.

Stamatakis, A. (2014) RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, **30**, 1312–1313.

Stevens, W.D., Ulloa Ulloa, C., Pool, A. & Montiel, O.M. (2001) *Flora of Nicaragua*. Missouri Botanical Garden Press, Missouri, USA.

Štorchová, H. & Olson, M.S. (2007) The architecture of the chloroplast psbA-trnH non-coding region in angiosperms. *Plant Systematics and Evolution*, **268**, 235–256.

- Stork, N.E. (1993) How many species are there? *Biodiversity and Conservation*, **2**, 215–232.
- Stork, N.E. & Habel, J.C. (2014) Can biodiversity hotspots protect more than tropical forest plants and vertebrates? *Journal of Biogeography*, **41**, 421–428.
- Stork, N.E., McBroom, J., Gely, C. & Hamilton, A.J. (2015) New approaches narrow global species estimates for beetles, insects, and terrestrial arthropods. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **112**, 7519–7523.
- Su, X., Wu, G., Li, L. & Liu, J. (2015) Species delimitation in plants using the Qinghai-Tibet Plateau endemic *Orinus* (Poaceae: Tridentinae) as an example. *Annals of Botany*, **116**, 35–48.
- Sullivan, J. & Joyce, P. (2005) Model selection in phylogenetics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **36**, 445–466.
- Symondson, W.O.C. & Harwood, J.D. (2014) Special issue on molecular detection of trophic interactions: unpicking the tangled bank. *Molecular Ecology*, **23**, 3601–3604.
- Szava-Kovats, R.C. & Pärtel, M. (2014) Biodiversity patterns along ecological gradients: unifying B-diversity indices. *PLoS ONE*, **9**, e110485.
- Talavera, G., Dincă, V. & Vila, R. (2013) Factors affecting species delimitations with the GMYC model: insights from a butterfly survey. *Methods in Ecology and Evolution*, **4**, 1101–1110.
- Tang, C.Q., Humphreys, A.M., Fontaneto, D. & Barraclough, T.G. (2014) Effects of phylogenetic reconstruction method on the robustness of species delimitation using single-locus data. *Methods in Ecology and Evolution*, **5**, 1086–1094.
- Tänzler, R., Sagata, K., Surbakti, S., Balke, M. & Riedel, A. (2012) DNA barcoding for community ecology - How to tackle a hyperdiverse, mostly undescribed Melanesian fauna. *PLoS ONE*, **7**, e28832.
- Tarrasón, D., Urrutia, J.T., Ravera, F., Herrera, E., Andrés, P. & Espelta, J.M. (2009) Conservation status of tropical dry forest remnants in Nicaragua: Do ecological indicators and social perception tally? *Biodiversity and Conservation*, **19**, 813–827.
- Tate, J.A. & Simpson, B.B. (2003) Paraphyly of Tarasa (Malvaceae) and diverse origins of the polyploid species. *Systematic Botany*, **28**, 723–737.
- Ter Braak, C.J.F. & Verdonschot, P.F.M. (1995) Canonical correspondence analysis and related multivariate methods in aquatic ecology. *Aquatic Sciences*, **57**, 255–289.
- Thébault, E. & Fontaine, C. (2010) Stability of ecological communities and the

- architecture of mutualistic and trophic networks. *Science*, **329**, 853–856.
- Thomas, J.A. (2016) Butterfly communities under threat. *Science*, **353**, 4–7.
- Thormann, B., Ahrens, D., Marín Armijos, D., Peters, M.K., Wagner, T. & Wägele, J.W. (2016) Exploring the leaf beetle fauna (Coleoptera: Chrysomelidae) of an Ecuadorian mountain forest using DNA barcoding. *Plos One*, **11**, e0148268.
- Thuiller, W., Araújo, M.B. & Lavorel, S. (2004) Do we need land-cover data to model species distributions in Europe? *Journal of Biogeography*, **31**, 353–361.
- Timmermans, M.J.T.N., Dodsworth, S., Culverwell, C.L., Bocak, L., Ahrens, D., Littlewood, D.T.J., *et al.* (2010) Why barcode? High-throughput multiplex sequencing of mitochondrial genomes for molecular systematics. *Nucleic Acids Research*, **38**, e197–e197.
- Toussaint, E.F.A., Morinière, J., Müller, C.J., Kunte, K., Turlin, B., Hausmann, A., *et al.* (2015) Comparative molecular species delimitation in the charismatic Nawab butterflies (Nymphalidae, Charaxinae, Polyura). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **91**, 194–209.
- Tripathi, A.M., Tyagi, A., Kumar, A., Singh, A., Singh, S., Chaudhary, L.B., *et al.* (2013) The internal transcribed spacer (ITS) region and trnH-psbA are suitable candidate loci for DNA barcoding of tropical tree species of India. *PloS ONE*, **8**, e57934.
- Tripp, E.A., Daniel, T.F., Fatimah, S. & McDade, L.A. (2013) Phylogenetic relationships within Ruelliae (Acanthaceae) and a revised classification. *International Journal of Plant Sciences*, **174**, 97–137.
- Tripp, E.A. & Manos, P.S. (2008) Is floral specialization an evolutionary dead-end? Pollination system transitions in Ruellia (Acanthaceae). *Evolution*, **62**, 1712–1737.
- Tuomisto, H., Ruokolainen, K. & Yli-Halla, M. (2003) Dispersal, environment, and floristic variation of western amazonian forests. *Science*, **299**, 241–244.
- Tylianakis, J.M., Tscharntke, T. & Lewis, O.T. (2007) Habitat modification alters the structure of tropical host-parasitoid food webs. *Nature*, **445**, 202–205.
- Wheeler, Q.D. & Meier, R. (Eds.). (2000) *Species concepts and phylogenetic theory: a debate*. Columbia University Press, New York.
- Whitlock, B.A., Hale, A.M. & Groff, P.A. (2010) Intraspecific inversions pose a challenge for the trnH-psbA plant DNA barcode. *PloS ONE*, **5**, e11533.
- Whittaker, R.H. (1960) Vegetation of the Siskiyou mountains, Oregon and

California. *Ecological Monographs*, **30**, 279–338.

Wilf, P., Labandeira, C.C., Kress, W.J., Staines, C.L., Windsor, D.M., Allen, A.L., *et al.* (2000) Timing the radiations of leaf beetles: Hispines on Gingers from latest Cretaceous to recent. *Science*, **289**, 291–294.

Yang, Z. (2006) *Computational molecular evolution*. Oxford University Press.

Yang, Z. & Rannala, B. (2010) Bayesian species delimitation using multilocus sequence data. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**, 9264–9269.

Yu, D.W., Ji, Y., Emerson, B.C., Wang, X., Ye, C., Yang, C., *et al.* (2012) Biodiversity soup: metabarcoding of arthropods for rapid biodiversity assessment and biomonitoring. *Methods in Ecology and Evolution*, **3**, 613–623.

Yule, G.U. (1925) A mathematical theory of evolution, based on the conclusions of Dr. J. C. Willis, F. R. S. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*, **213**, 21–87.

Zhang, J., Kapli, P., Pavlidis, P. & Stamatakis, A. (2013) A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics*, **29**, 2869–2876.

Zhang, K., Lin, S., Ji, Y., Yang, C., Wang, X., Yang, C., *et al.* (2016) Plant diversity accurately predicts insect diversity in two tropical landscapes. *Molecular Ecology*.

Zhou, X., Li, Y., Liu, S., Yang, Q., Su, X., Zhou, L., *et al.* (2013) Ultra-deep sequencing enables high-fidelity recovery of biodiversity for bulk arthropod samples without PCR amplification. *GigaScience*, **2**, 4.

Zuccarello, G.C., Muangmai, N., Preuss, M., Sanchez, L.B., Loiseaux-de-Goér, S. & West, J.A. (2015) The Bostrychia tenella species complex: morphospecies and genetic cryptic species with resurrection of B. binderi. *Phycologia*, **54**, 261–270.

Zuur, A.F., Ieno, E.N. & Smith, G.M. (2007) *Analyzing ecological data*. Springer Science & Business Media, New York.





# APÉNDICES



**Apéndice I.** Secuencias *psbA-trnH* de GenBank con problemas taxonómicos, detectadas al utilizar el procesador de identificación automática BAGpipe.

Número Genbank	Identificación taxonómica	Igual o similar a	Referencia
AJ536845	Apiales: Griselinaceae, <i>Griselia carlomunozii</i>	Apiales: Araliaceae	Clokie <i>et al.</i> No publicado.
AJ536846	Apiales: Griselinaceae, <i>Griselia jodinifolia</i>	Apiales: Araliaceae	Clokie <i>et al.</i> No publicado.
AJ536847	Apiales: Griselinaceae, <i>Griselia littoralis</i>	Apiales: Araliaceae	Clokie <i>et al.</i> No publicado.
AJ536848	Apiales: Griselinaceae, <i>Griselia lucida</i>	Apiales: Araliaceae	Clokie <i>et al.</i> No publicado.
AJ536849	Apiales: Griselinaceae, <i>Griselia racemosa</i>	Apiales: Araliaceae	Clokie <i>et al.</i> No publicado.
AJ536850	Apiales: Griselinaceae, <i>Griselia ruscifolia</i>	Apiales: Araliaceae	Clokie <i>et al.</i> No publicado.
AJ536851	Apiales: Griselinaceae, <i>Griselia scandens</i>	Apiales: Araliaceae	Clokie <i>et al.</i> No publicado.
AJ876565	Brassicales: Capparaceae, <i>Cratera tapia</i>	Brassicales: Cleomaceae, <i>Cleome</i>	Sánchez-Acebo (2005)
AM489873	Myrtales: Myrtaceae, <i>Octamytus pleiopetalum</i>	Malvales: Malvaceae	Lucas <i>et al.</i> (2007)
AY851584	Caryophyllales: Talinaceae, <i>Talinum paniculatum</i>	Caryophyllales: Cactaceae	Butterworth & Wallace (2005)
FJ475136	Apiales: Apiaceae, <i>Eryngium giganteum</i>	Apiales: Araliaceae	Valiejo-Roman <i>et al.</i> No publicado.
FJ871941	Zingiberales: Musaceae, <i>Ensete glaucum</i>	Zingiberales: Musaceae, <i>Musa itinerans</i>	Ning <i>et al.</i> No publicado.
GQ982383	Myrtales: Combretaceae, <i>Terminalia oblonga</i>	Malpighiales: Salicaceae, Samydeae	Kress <i>et al.</i> (2009)
GU135416	Saxifragales: Haloragaceae, <i>Myriophyllum spicatum</i>	Malvales: Malvaceae	Abbott <i>et al.</i> No publicado.

HE806459	Malvales: Malvaceae, Malvoideae, <i>Sida</i> sp.	Malpighiales: Malpighiaceae	Jeske <i>et al.</i> (2014)
HG800575	Saxifragales: Saxifragaceae, <i>Saxifraga vandellii</i>	Asterales: Asteraceae, Arnicinae, <i>Arnica</i>	Galimberti <i>et al.</i> (2014)
HG963592	Caryophyllales: Talinaceae, <i>Talinum paniculatum</i>	Caryophyllales: Cactaceae, Cactoideae	Papadopoulou <i>et al.</i> (2015)
HQ415412	Gentianales: Rubiaceae, <i>Lasianthus chinensis</i>	Sapindales: Burseraceae, <i>Canarium</i>	Pei <i>et al.</i> (2011)
JF488925	Boraginales: Boraginaceae, <i>Mertensia virginica</i>	Lamiales: Lamiaceae	Cohen (2011)
JN047495	Dipsacales: Adoxaceae, <i>Viburnum cylindricum</i>	Cornales: Cornaceae, <i>Cornus</i>	Li <i>et al.</i> (2011)
JQ279745	Gunnerales: Myrothamnaceae, <i>Myrothamnus flabellifolia</i>	Saxifragales	Mankga <i>et al.</i> Sin verificación. No publicado.
JX856945	Malvales: Malvaceae, Sterculioideae, <i>Sterculia foetida</i>	Fabales: Fabaceae, Papilioideae, Dalbergieae	Tripathi <i>et al.</i> (2013)
KC667954	Malpighiales: Achariaceae, <i>Scotellia klaineana</i>	Malpighiales: Salicaceae, Samydeae	Parmentier <i>et al.</i> (2013)
KC667989	Malpighiales: Achariaceae, <i>Dasylepis blackii</i>	Malpighiales: Salicaceae, Samydeae	Parmentier <i>et al.</i> (2013)
KJ025050	Lamiales: Lamiaceae, <i>Phlomis umbrosa</i>	Lamiales: Bignoniaceae	Jung <i>et. al.</i> No publicado.
KJ426594	Lamiales: Lamiaceae, Teucrioideae, <i>Aegiphila martinicensis</i>	Lamiales: Bignoniaceae, Crescentina, Tabebuia alliance, <i>Handroanthus</i>	Muscarella & Erickson. No publicado.
KJ426919	Oxalidales: Connaraceae, <i>Rourea surinamensis</i>	Lamiales: Bignoniaceae, Bignonieae, <i>Dolichandra</i>	Muscarella & Erickson. No publicado.
KJ426977	Boraginales: Heliotropiaceae, <i>Tournefortia filiflora</i>	Boraginales: Cordiaceae	Muscarella & Erickson. Sin verificación. No publicado
KJ687417	Ericales: Ericaceae, Ericoideae, Rhodoreae, <i>Rhododendron simsii</i>	Apiales: Apiineae, Araliaceae	Erickson <i>et al.</i> (2014)

KM258558	Dipsacales: Caprifoliaceae, <i>Lonicera japonica</i>	Asterales: Asteraceae, Asteroideae, Astereae	Jiang. Sin verificación. No publicado
KM258559	Dipsacales: Caprifoliaceae, <i>Lonicera japonica</i>	Asterales: Asteraceae, Asteroideae, Astereae	Jiang. Sin verificación. No publicado
KM258560	Dipsacales: Caprifoliaceae, <i>Lonicera japonica</i>	Asterales: Asteraceae, Asteroideae, Astereae	Jiang. Sin verificación. No publicado
KM895297	Apiales: Pittosporaceae, <i>Pittosporum undulatum</i>	Apiales: Apiinae, Araliaceae	Shapcott <i>et al.</i> (2015)

### Referencias citadas en la tabla:

- Butterworth, C.A. & Wallace, R.S. (2005) Molecular phylogenetics of the leafy cactus genus *Pereskia* (Cactaceae). *Systematic Botany*, **30**, 800–808.
- Cohen, J.I. (2011) A phylogenetic analysis of morphological and molecular characters of *Lithospermum* L. (Boraginaceae) and related taxa: evolutionary relationships and character evolution. *Cladistics*, **27**, 559–580.
- Erickson, D.L., Jones, F.A., Swenson, N.G., Pei, N., Bourg, N.A., Chen, W., *et al.* (2014) Comparative evolutionary diversity and phylogenetic structure across multiple forest dynamics plots: a mega-phylogeny approach. *Frontiers in Genetics*, **5**, 358.
- Galimberti, A., Mattia, F., De, Bruni, I., Scaccabarozzi, D., Sandionigi, A., Barbuto, M., Casiraghi, M., *et al.* (2014) A DNA barcoding approach to characterize pollen collected by honeybees. *PLoS ONE*, **9**, e109363.
- Jeske, H., Kober, S., Schäfer, B. & Strohmeier, S. (2014) Circomics of Cuban geminiviruses reveals the first alpha-satellite DNA in the Caribbean. *Virus genes*, **49**, 312–324.
- Kress, W.J., Erickson, D.L., Jones, F.A., Swenson, N.G., Perez, R., Sanjur, O., *et al.* (2009) Plant DNA barcodes and a community phylogeny of a tropical forest dynamics plot in Panama. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 18621–18626.
- Li, D.Z., Gao, L.M., Li, H.T., Wang, H., Ge, X.J., Liu, J.Q., *et al.* (2011) Comparative analysis of a large dataset indicates that internal transcribed spacer (ITS) should be incorporated into the core barcode for seed plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**, 19641–19646.
- Lucas, E.J., Harris, S.A., Mazine, F.F., Belsham, S.R., Nic Lughadha, E.M., Telford, A., *et al.* (2007) Suprageneric phylogenetics of Myrtae, the generically richest tribe in Myrtaceae (Myrales). *Taxon*, **56**, 1105–1128.

Papadopoulou, A., Chesters, D., Coronado, I., De la Cadena, G., Cardoso, A., Reyes, J.C., *et al.* (2015) Automated DNA-based plant identification for large-scale biodiversity assessment. *Molecular Ecology Resources*, **15**, 136–152.

Parmentier, I., Duminil, J., Kuzmina, M., Philippe, M., Thomas, D.W., Kenfack, D., *et al.* (2013) How effective are DNA barcodes in the identification of African rainforest trees. *PLoS ONE*, **8**, E54921.

Pei, N., Lian, J.-Y., Erickson, D.L., Swenson, N.G., Kress, W.J., Ye, W.-H., *et al.* (2011) Exploring tree-habitat associations in a Chinese subtropical forest plot using a molecular phylogeny generated from DNA barcode loci. *PLoS ONE*, **6**, e21273.

Sánchez-Acebo, L. (2005) A phylogenetic study of the new world Cleome (Brassicaceae, Cleomoideae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **92**, 179–201.

Shapcott, A., Forster, P.I., Guymer, G.P., McDonald, W.J., Faith, D.P., Erickson, D., *et al.* (2015) Mapping biodiversity and setting conservation priorities for SE Queensland's rainforests using DNA barcoding. *PLoS ONE*, **10**, e0122164.

Tripathi, A.M., Tyagi, A., Kumar, A., Singh, A., Singh, S., Chaudhary, L.B., *et al.* (2013) The internal transcribed spacer (ITS) region and trnhH-psbA are suitable candidate loci for DNA barcoding of tropical tree species of India. *PLoS ONE*, **8**, e57934.

**Apéndice II.** Listado general de individuos de Cassidinae y Galerucinae utilizados en esta tesis. Para cada espécimen, se especifica la localidad y fecha de captura, los genes amplificados y el resultado de inferencia de dieta basado en árboles filogenéticos siguiendo un criterio estricto. Las morfoespecies con asterisco (\*) no están incluidas en los análisis de delimitación de especies ya que no se pudo obtener datos moleculares. Dietas con superíndices diferencian los casos en que las secuencias *psbA-trnH* fueron removidas de los análisis finales de asociaciones insecto-planta, según los criterios mencionados en el texto principal (apartado 4.5.3).

## *Subfamilia: Cassidinae*

### A. Cassidini

Morfoespecie	Individuo	Especie	Localidad	Fecha	Cox 1	<i>psbA-trnH</i>	Inferencia de dieta
1	1554	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	1	Fabaceae
1	1562	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	8-9/07/2010	SI	2*	
1	1566	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores, 13.192633519565153, -86.33130818340169, 863m	01/04/2010	SI	3	Fabaceae, Fabaceae, Amaranthaceae
1	1616	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	1	Convolvulaceae
1	1619	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.709023628774801, -85.9529001419169, 65m	07/11/2010	SI	0	
1	1622	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70475923256267, -85.95157665021176, 64m	07/11/2010	SI	1	Convolvulaceae
1	1633	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/08/2010	NO	0	
1	1648	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	SI	0	
1	1651	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Saca de Agua	01/11/2010	SI	1	Cucurbitaceae
1	1662	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	2	Fabaceae, Cucurbitaceae
1	1664	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	NO	2	Fabaceae, Cucurbitaceae
1	1667	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Vista	01/10/2010	SI	0	
1	1918	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.151100038514688, -86.32654924710731, 978m	09/09/2011	SI	0	
1	1923	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.151100038514688, -86.32654924710731, 978m	09/09/2011	SI	0	
1	1924	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.1508376312092, -86.3299361274264, 931m	09/09/2011	SI	0	
1	2243	<i>Charidotella sexpunctata</i>	León, Cerro Negro, 12.53166, -86.728055	27/01/2012	SI	1	Asteraceae
1	2246	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/10/2011	SI	0	

1	2248	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/10/2011	SI	1	<i>Merremia</i>
1	2250	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	2*	
1	2285	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1	Fabaceae
1	2297	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Rivas, San Juan del Sur, Finca Escamequita, 11.19598, -85.81191, 100m	10/02/2012	SI	3*	Convolvulaceae
1	2299	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	0	
1	2302	<i>Charidotella sexpunctata</i>	León, La Paz Centro, rd to Geotérmica, btw rd and swamp, lagoon after Loma de Chistata, 12.43437, - 86.59300, 66m	01/02/2012	SI	2*	Fabaceae
1	2337	<i>Charidotella sexpunctata</i>	León, La Paz Centro, rd to Geotérmica, btw rd and swamp, lagoon after Loma de Chistata, 12.43437, - 86.59300, 66m	01/02/2012	SI	1*	
1	2341	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, 5km Estelí on brick rd to Yali, 13.11455, - 86.29964, 968m	30/01/2012	SI	1	Convolvulaceae
1	2488	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, - 85.933333333334, 50m	11/08/2011	SI	0	
1	2490	<i>Charidotella sexpunctata</i>	Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16- 18/03/2012	SI	0	
2	2492	<i>Charidotella sp.</i>	Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16- 18/03/2012	SI	0	
2	2495	<i>Charidotella sp.</i>	Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16- 18/03/2012	SI	0	
3	1588	<i>Charidotella emarginata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Finca Bartolo, 13.19875, -86.32527777777777, 993m	01/06/2010	SI	0	
3	1593	<i>Charidotella emarginata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, La Palmita	01/07/2010	SI	1	Convolvulaceae
3	2491	<i>Charidotella emarginata</i>	Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16- 18/03/2012	SI	0	
3	1595	<i>Charidotella emarginata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, La Palmita	01/07/2010	NO	0	
4	1546	<i>Charidotella tuberculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe	10- 12/07/2010	SI	1	Fabaceae
4	1552	<i>Charidotella tuberculata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	1	Fabaceae
4	1569	<i>Charidotella tuberculata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	SI	3*	
4	1576	<i>Charidotella tuberculata</i>	Rivas, San Juan del Sur, Finca Escamequita, 11.221867163457599, -85.80353999089301, 96m	23/11/2009	SI	2*	
4	1577	<i>Charidotella tuberculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	2*	Convolvulaceae
4	1630	<i>Charidotella tuberculata</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent	01/11/2010	SI	1	Convolvulaceae
4	1640	<i>Charidotella tuberculata</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Isiqui	01/08/2010	NO	2*	
4	1937	<i>Charidotella tuberculata</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, - 85.933333333334, 50m	01/06/2011	SI	0	
4	1985	<i>Charidotella tuberculata</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	SI	0	
4	2267	<i>Charidotella tuberculata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	2*	
4	2339	<i>Charidotella tuberculata</i>	León, La Paz Centro, rd to Geotérmica, btw rd and swamp, lagoon after Loma de Chistata, 12.43437, - 86.59300, 66m	01/02/2012	SI	2*	
4	2340	<i>Charidotella tuberculata</i>	León, La Paz Centro, Laguna de Montegalán, 12.43891, -86.57033, 76m	01/02/2012	SI	0	
5	1539	<i>Microctenochira</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	01/05/2010	SI	2*	<i>Ipomoea</i>
5	1603	<i>Microctenochira</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	1	Convolvulaceae
5	1612	<i>Microctenochira</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	1	Convolvulaceae

5	1614	<i>Microctenochira</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	1	<i>Merremia</i>
5	1618	<i>Microctenochira</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	2*	Convolvulaceae
5	1938	<i>Microctenochira</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	SI	0	
5	1939	<i>Microctenochira</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	SI	1	Cucurbitaceae
5	1984	<i>Microctenochira</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	SI	1	Cucurbitaceae
5	2256	<i>Microctenochira</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86178, -86.51758, 53m	23/01/2012	SI	0	
5	2298	<i>Microctenochira</i>	Rivas, San Juan del Sur, Finca Escamequita, 11.19598, -85.81191, 100m	10/02/2012	SI	1	Malvoideae
6	2268	<i>Microctenochira</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1	Convolvulaceae
7	1550	<i>Microctenochira hectica</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores, 13.192570635226371, -86.33146523331702, 852m	01/04/2010	NO	2*	Convolvulaceae
7	1553	<i>Microctenochira hectica</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	0	
7	1560	<i>Microctenochira hectica</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	8-9/07/2010	SI	1	Convolvulaceae
7	1561	<i>Microctenochira hectica</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	8-9/07/2010	SI	2*	Sicyoae
7	1585	<i>Microctenochira hectica</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Bartolo, 13.198739120605543, -86.32526543531621, 993m	01/06/2010	SI	1	Convolvulaceae
7	1592	<i>Microctenochira hectica</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Cerro La Campana, Los Cerritos, 13.15, -86.31666666666666	01/07/2010	SI	0	
7	1599	<i>Microctenochira hectica</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Los Charcos	01/07/2010	SI	1	Convolvulaceae
7	1600	<i>Microctenochira hectica</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Cerro La Campana, Los Cerritos, 13.15, -86.31666666666666	01/07/2010	SI	0	
7	1643	<i>Microctenochira hectica</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, La Quinta	01/08/2010	SI	1	Cucurbitaceae
7	1647	<i>Microctenochira hectica</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	NO	2	Convolvulaceae, Cucurbitaceae
7	1649	<i>Microctenochira hectica</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	SI	1	Cucurbitaceae
7	2249	<i>Microctenochira hectica</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/10/2011	SI	1*	
7	2313	<i>Microctenochira hectica</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	0	
8	1579		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
8	2280		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1	Lamiaceae
9	1574		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	SI	1	Scrophulariaceae
9	2273		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1	Zingiberales
9	2274		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1	Zingiberales
9	2281		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	3	Malvoideae, <i>Piper</i> , Cucurbitaceae
10	2292		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	2*	Amaranthaceae
11	1986	<i>Microctenochira bonvouloiri</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	27/02/2011	SI	0	
11	1987	<i>Microctenochira bonvouloiri</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	27/02/2011	SI	1	Fabaceae
11	2279	<i>Microctenochira bonvouloiri</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	2*	
11	2338	<i>Microctenochira bonvouloiri</i>	León, La Paz Centro, rd to Geotérmica, btw rd and swamp, lagoon after Loma de Chistata, 12.43437, -86.59300, 66m	01/02/2012	SI	1*	

12	1605		Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	0	
12	1609		Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	0	
12	2260		Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.87659, -86.50341, 125m	22/01/2012	SI	1*	
12	2294		León, Comunidad Rota, 12.51238, -86.73282, 285m	27/01/2012	SI	1	<i>Lonchocarpus</i>
13	1555		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	1	Asteraceae
13	1564		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	8-9/07/2010	SI	2*	Asteraceae
13	1929		León, Jardín Botánico, 12.433857622191363, -86.9146500292148, 52m	10/08/2011	SI	1	Heliantheae
13	1933		León, Jardín Botánico, 12.433242414966534, -86.91377612232554, 50m	04/08/2011	SI	1	Heliantheae
13	1578		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	NO	2*	
14	2494	<i>Tapinaspis wesmaeli</i>	Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-			
				18/03/2012	SI	1	Fabaceae
15	2289		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	2	Acanthaceae, Fabaceae
15	2291		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	0	
16	2493	<i>Charidotella opulenta</i>	Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-			
				18/03/2012	SI	2	Rubiaceae, <i>Guaiacum</i>
16	2496	<i>Charidotella opulenta</i>	Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-			
				18/03/2012	SI	0	
17	1558	<i>Agroiconota propinqua</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	3	<i>Cestrum</i> , Vitaceae, Boraginales
17	1582	<i>Agroiconota propinqua</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
17	1601	<i>Agroiconota propinqua</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0	
17	1604	<i>Agroiconota propinqua</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	1	Convolvulaceae
17	1608	<i>Agroiconota propinqua</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	0	
17	1613	<i>Agroiconota propinqua</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0	
17	1623	<i>Agroiconota propinqua</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.704759923256267, -85.95157665021176, 64m	07/11/2010	SI	1	Convolvulaceae
17	1932	<i>Agroiconota propinqua</i>	León, Jardín Botánico, 12.43377884986196, -86.91322400939717, 56m	03/08/2011	SI	0	
17	1990	<i>Agroiconota propinqua</i>	León, Jardín Botánico, 12.433431998671493, -86.91277313560317, 53m	02/08/2011	SI	0	
17	1991	<i>Agroiconota propinqua</i>	León, Jardín Botánico, 12.433431998671493, -86.91277313560317, 53m	02/08/2011	SI	0	
17	1992	<i>Agroiconota propinqua</i>	León, Jardín Botánico, 12.433377884986196, -86.91322400939717, 56m	03/08/2011	SI	0	
17	2262	<i>Agroiconota propinqua</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86111111111111, -86.51	24/11/2011	SI	1*	
18	1565	<i>Charidotis auroguttata</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores, 13.189155041938417, -86.32543937640558, 911m	01/03/2010	NO	3	<i>Cestrum</i> , Scrophulariaceae, Amaranthaceae
18	2265	<i>Charidotis auroguttata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1	Zingiberales
19	1545	<i>Ischnocodia annulus</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe	10-			
19	1556	<i>Ischnocodia annulus</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	12/07/2010	SI	1	Boraginales
19	1586	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Bartolo, 13.198739120605543, -86.32526543531621, 993m	14/07/2010	SI	2*	Boraginales
19	1590	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Don Avelino Rodríguez	01/06/2010	NO	2*	
19	1930	<i>Ischnocodia annulus</i>	León, Jardín Botánico, 12.433377884986196, -86.91322400939717, 56m	01/05/2010	SI	2*	
19	1989	<i>Ischnocodia annulus</i>	León, Jardín Botánico, 12.433414776175365, -86.91549667856071, 53m	03/08/2011	SI	0	
				05/03/2011	NO	0	

19	2252	<i>Ischnocodia annulus</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86178, -86.51758, 53m	23/01/2012	SI	0	
19	2253	<i>Ischnocodia annulus</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86178, -86.51758, 53m	23/01/2012	SI	0	
19	2254	<i>Ischnocodia annulus</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86178, -86.51758, 53m	23/01/2012	NO	1	Pentapetalae
19	2255	<i>Ischnocodia annulus</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86178, -86.51758, 53m	23/01/2012	SI	0	
19	2293	<i>Ischnocodia annulus</i>	León, Comunidad Rota, 12.51238, -86.73282, 285m	27/01/2012	SI	3*	
19	2301	<i>Ischnocodia annulus</i>	Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	2*	
19	2303	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	Myrtaceae
19	2304	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	Rubiaceae
19	2305	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	2*	Malvoideae
19	2306	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	2*	Rubiaceae
19	2307	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	Rubiaceae
19	2308	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	Rubiaceae
19	2309	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	0	
19	2310	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	Malvoideae
19	2311	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	0	
19	2312	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	Rubiaceae
19	2314	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	2*	Rubiaceae
19	2315	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	0	
19	2316	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	2*	Rubiaceae
19	2317	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	3*	Rubiaceae
19	2318	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	0	
19	2319	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	2*	Boraginales
19	2320	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	Malvoideae
19	2321	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	3*	Malvoideae, Cinchonoideae
19	2322	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	Cinchonoideae
19	2323	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1*	
19	2324	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	0	
19	2325	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	2*	Cinchonoideae
19	2326	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	0	
19	2327	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1*	
19	2328	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	0	
19	2329	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1*	
19	2330	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	Rubiaceae
19	2331	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	0	
19	2332	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	0	
19	2333	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	0	
19	2334	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1*	
19	2335	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	0	
19	2336	<i>Ischnocodia annulus</i>	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	0	
19	1549	<i>Ischnocodia annulus</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Finca Las Flores, 13.192570635226371, -86.33146523331702, 852m	01/04/2010	NO	0	
20	2485	<i>Coptocyclus dorsoplagiata</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 156m	22/01/2012	SI	0	

20	2486	<i>Coptocycla dorsoplagiata</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 91m	21/01/2012	SI	0	
20	2487	<i>Coptocycla dorsoplagiata</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 53m	23/01/2012	SI	0	
21	2472	<i>Coptocycla leprosa</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/10/2010	SI	1	Boraginales
22	1541		Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	01/05/2010	SI	2*	<i>Celtis</i> , asterids
22	1620		Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70327040059114, -85.95224285055114, 63m	07/11/2010	SI	0	
22	2257		Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86178, -86.51758, 53m	23/01/2012	SI	1	Zingiberales
22	2259		Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.87659, -86.50341, 125m	22/01/2012	SI	1	Zingiberales
22	2264		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1	Zingiberales
22	2278		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1	Zingiberales
22	2287		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23527, -85.55388, 69m	07/02/2012	SI	2	Fabaceae, Fabaceae
22	2290		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1	Malvoideae
22	2296		Rivas, San Juan del Sur, Finca Escamequita, 11.19598, -85.81191, 100m	10/02/2012	SI	1	<i>Macura tinctoria</i>
22	2300		Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	1	Simaroubaceae
23	1658	<i>Omocerus caeruleopunctatus</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.706486665924345, -85.95396481028051, 111m	07/11/2010	SI	1	<i>Cordia</i>
23	2480	<i>Omocerus caeruleopunctatus</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18938281788044, -85.68391854160579, 180m	12/03/2011	SI	1	<i>Cordia</i>
24	1587	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Bartolo, 13.198739120605543, -86.32526543531621, 993m	01/06/2010	NO	0	
24	2403	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/05/2010	SI	2	Boraginales, Fabaceae
24	2408	<i>Physonota alutacea</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/06/2010	SI	0	
24	2411	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Los Charcos	01/07/2010	SI	1*	
24	2412	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Los Charcos	01/07/2010	SI	0	
24	2413	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Los Charcos	01/07/2010	SI	0	
24	2414	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Cerro La Campana, Los Cerritos, 13.15, -86.31666666666666	01/07/2010	SI	1	Boraginales
24	2415	<i>Physonota alutacea</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isidrillo	01/08/2010	SI	0	
24	2416	<i>Physonota alutacea</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isidrillo	01/08/2010	SI	0	
24	2417	<i>Physonota alutacea</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isidrillo	01/08/2010	SI	0	
24	2418	<i>Physonota alutacea</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	NO	1	Boraginales
24	2467	<i>Physonota alutacea</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	0	
24	2468	<i>Physonota alutacea</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	0	
24	2471	<i>Physonota alutacea</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/10/2010	SI	0	
24	2473	<i>Physonota alutacea</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	1	Boraginales
24	2474	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Saca de Agua	01/10/2010	SI	1	Boraginales
24	2475	<i>Physonota alutacea</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Vista	01/10/2010	SI	0	
24	2476	<i>Physonota alutacea</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Vista	01/10/2010	SI	1	Boraginales
24	2477	<i>Physonota alutacea</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.709023628774801, -85.9529001419169, 65m	07/11/2010	SI	1	Boraginales
24	2483	<i>Physonota alutacea</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.9333333333334, 50m	01/06/2011	SI	0	
24	2484	<i>Physonota alutacea</i>	León, Jardín Botánico	01/01/2011	SI	0	

24	3446	<i>Physonota alutacea</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	10/10/2010	SI	1	Burseraceae
24	3447	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isidrillo	01/08/2010	SI	1	Boraginaceas
24	3448	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Los Charcos	01/07/2010	SI	1	Boraginaceas
24	3449	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Vista	01/10/2010	SI	0	
24	3450	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Vista	01/10/2010	SI	1	Boraginaceas
24	3451	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Vista	01/10/2010	SI	1	Boraginaceas
24	3452	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Vista	01/10/2010	SI	1	Boraginaceas
24	3453	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Vista	01/10/2010	NO	1	Boraginaceas
24	3454	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	1	Boraginaceas
24	3455	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	NO	1	Boraginaceas
24	3456	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	1	Boraginaceas
24	3457	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	1	Boraginaceas
24	3458	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	1	Boraginaceas
24	3459	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	1	Boraginaceas
24	3460	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	1	Boraginaceas
24	3461	<i>Physonota alutacea</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	1	Boraginaceas
24	3462	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/06/2010	SI	1	Boraginaceas
24	3463	<i>Physonota alutacea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/06/2010	SI	1	Boraginaceas
24	3465	<i>Physonota alutacea</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas	01/06/2011	SI	1	<i>Cordia</i>
24	3466	<i>Physonota alutacea</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas	01/06/2011	SI	1	Boraginaceas
24	3467	<i>Physonota alutacea</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/10/2010	SI	1	Boraginaceas
24	3468	<i>Physonota alutacea</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/10/2010	SI	1	Boraginaceas
24	3479	<i>Physonota alutacea</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas	01/06/2011	NO	2	<i>Cordia, Cordia</i>
24	3481	<i>Physonota alutacea</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas	01/06/2011	SI	1	<i>Cordia</i>
24	3482	<i>Physonota alutacea</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas	01/06/2011	SI	1	Boraginaceas
24	3483	<i>Physonota alutacea</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas	01/06/2011	SI	1	Boraginaceas
24	3484	<i>Physonota alutacea</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/10/2010	SI	1	Boraginaceas
24	3485	<i>Physonota alutacea</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/10/2010	SI	1	<i>Lonchocarpus</i>
24	3486	<i>Physonota alutacea</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/10/2010	SI	1	Boraginaceas
25	2402	<i>Physonota sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/05/2010	SI	2	Amaranthaceae, Fabaceae
25	2469	<i>Physonota sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	1	Ehretiaceae
26	2404	<i>Physonota gigantea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Bartolo, 13.198739120605543, -86.32526543531621, 993m	01/06/2010	SI	1	Malvaceae
26	2405	<i>Physonota gigantea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Bartolo, 13.198739120605543, -86.32526543531621, 993m	01/06/2010	NO	2	Sapindaceae, Fabaceae
26	2406	<i>Physonota gigantea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Bartolo, 13.198739120605543, -86.32526543531621, 993m	01/06/2010	SI	1	<i>Cordia</i>
26	2407	<i>Physonota gigantea</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/06/2010	SI	1	<i>Cordia</i>
26	2409	<i>Physonota gigantea</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	8-9/07/2010	SI	0	
26	2482	<i>Physonota gigantea</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.9333333333334, 50m	01/06/2011	SI	0	
26	3480	<i>Physonota gigantea</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas	01/06/2011	NO	2	<i>Cordia, Rubiaceae</i>

27	1548	<i>Chelymorpha gressoria</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores, 13.192570635226371, -86.3314652331702, 852m	01/04/2010	NO	0	
27	1551	<i>Chelymorpha gressoria</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	2*	
27	1591	<i>Chelymorpha gressoria</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Los Charcos	01/07/2010	SI	0	
27	1644	<i>Chelymorpha gressoria</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Esperanza	01/08/2010	NO	1*	
27	1650	<i>Chelymorpha gressoria</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Empalme	01/08/2010	SI	2*	
27	1663	<i>Chelymorpha gressoria</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	2*	
27	1922	<i>Chelymorpha gressoria</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.151100038514688, -86.32654924710731, 978m	09/09/2011	SI	1	Convolvulaceae
27	1936	<i>Chelymorpha gressoria</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.933333333334, 50m	01/06/2011	SI	0	
27	2242	<i>Chelymorpha gressoria</i>	León, Cerro Negro, 12.53166, -86.728055	27/01/2012	SI	1	Asteraceae
27	2251	<i>Chelymorpha gressoria</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	1	Convolvulaceae
27	2295	<i>Chelymorpha gressoria</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad La Pita, 13.21921, -86.28530, 1108m	29/01/2012	SI	2*	Convolvulaceae
27	2470	<i>Chelymorpha gressoria</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Saca de Agua	01/10/2010	SI	1	Convolvulaceae
27	1645	<i>Chelymorpha gressoria</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiquí	01/08/2010	NO	0	
28	1570	<i>Chelymorpha testaceomarginata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	SI	1	Fabaceae
28	1581	<i>Chelymorpha testaceomarginata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
28	2272	<i>Chelymorpha testaceomarginata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1*	
28	2275	<i>Chelymorpha testaceomarginata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1*	
28	2283	<i>Chelymorpha testaceomarginata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	2*	
29	2410	<i>Dorynota insidiosa</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	8-9/07/2010	SI	1	Rubiaceae
29	2478	<i>Dorynota insidiosa</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	07/11/2010	SI	0	
29	2481	<i>Dorynota insidiosa</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.933333333334, 50m	01/06/2011	SI	0	
30	2269		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1*	
30	2282		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1	Tabebuia alliance
59	1935	<i>Physonota attenuata</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.933333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	<i>Cordia</i>
59	3464	<i>Physonota attenuata</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas	01/06/2011	SI	1	<i>Cordia</i>
60	1573	<i>Spaethiella marginata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	NO	1	Juglandaceae
60	2263	<i>Spaethiella marginata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	2*	Malvaceae
60	2271	<i>Spaethiella marginata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1*	
60	2276	<i>Spaethiella marginata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1*	
60	2284	<i>Spaethiella marginata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1	Malvoideae
60	2288	<i>Spaethiella marginata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	3*	
60	1988	<i>Spaethiella marginata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.185123063261535, -85.669359314085, 152m	12/03/2011	NO	0	
62	1547	<i>Deloyala fuligmosa</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe	10-	SI	1	Convolvulaceae

62	1559	<i>Delyala fuliginosa</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista	12/07/2010	6-7/07/2010	SI	0	Fabaceae,
62	1568	<i>Delyala fuliginosa</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	2	Cucurbitaceae	
62	1580	<i>Delyala fuliginosa</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	NO	0		
62	1602	<i>Delyala fuliginosa</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	2*	Fabaceae	
62	1606	<i>Delyala fuliginosa</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	2	Fabaceae	
62	1607	<i>Delyala fuliginosa</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0	Fabaceae	
62	1610	<i>Delyala fuliginosa</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	3*	Fabaceae,	
62	1611	<i>Delyala fuliginosa</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0	Fabaceae	
62	1615	<i>Delyala fuliginosa</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	1	Fabaceae	
62	1617	<i>Delyala fuliginosa</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	10/10/2010	SI	2	<i>Mimosa</i> , Fabaceae	
62	1621	<i>Delyala fuliginosa</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.704759923256267, -85.95157665021176, 64m	07/11/2010	SI	1	Convolvulaceae	
62	1642	<i>Delyala fuliginosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Esperanza	01/08/2010	NO	1	Fabaceae	
62	1646	<i>Delyala fuliginosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	NO	2	Convolvulaceae,	
62	1652	<i>Delyala fuliginosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	NO	0	Cucurbitaceae	
62	1931	<i>Delyala fuliginosa</i>	León, Jardín Botánico, 12.433857622191363, -86.9146500292148, 52m	10/08/2011	SI	0		
62	2244	<i>Delyala fuliginosa</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/10/2011	SI	0		
62	2245	<i>Delyala fuliginosa</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/10/2011	SI	1	Fabaceae	
62	2247	<i>Delyala fuliginosa</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/10/2011	SI	2*	Convolvulaceae	
62	2258	<i>Delyala fuliginosa</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86178, -86.51758, 53m	23/01/2012	SI	1*		
62	2261	<i>Delyala fuliginosa</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.87727, -86.49295, 156m	22/01/2012	NO	1	Zingiberales	
62	2489	<i>Delyala fuliginosa</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.933333333334, 50m	11/08/2011	NO	1	Convolvulaceae	
63	2266		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	2	Zingiberales,	
63	2277		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	2	Malvaceae	
63	2286		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	0	Zingiberales,	
64	1563	<i>Helocassis clavata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	8-9/07/2010	SI	3*	Malvaceae	
64	1571	<i>Helocassis clavata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	SI	1	Vitaceae	
64	1589	<i>Helocassis clavata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Don Avelino Rodríguez	01/05/2010	NO	0		
64	1594	<i>Helocassis clavata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, La Palmita	01/07/2010	SI	3*	Solanaceae	
64	1598	<i>Helocassis clavata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Los Charcos	01/07/2010	NO	0		
64	1926	<i>Helocassis clavata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.1508376312092, -86.3299361274264, 931m	09/09/2011	SI	0		
64	1993	<i>Helocassis clavata</i>	León, Jardín Botánico, 12.43378160793, -86.91408891626287, 52m	13/08/2011	SI	1	<i>Solanum</i>	
65	1540	<i>Parorectis rugosa</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	01/05/2010	SI	2*	Solanaceae	
65	1557	<i>Parorectis rugosa</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	1	Solanaceae	
65	1583	<i>Parorectis rugosa</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	1	<i>Physalis</i>	
65	1597	<i>Parorectis rugosa</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Cerro La Campana, Los Cerritos, 13.15, -	01/07/2010	SI	0		

			86.31666666666666					
65	1632	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Saca de Agua	01/11/2010	SI	2*	Solanaceae	
65	1634	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	SI	0		
65	1635	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	SI	1	<i>Physalis</i>	
65	1636	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	SI	1	<i>Physalis</i>	
65	1637	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	SI	1	<i>Physalis</i>	
65	1638	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	SI	1	<i>Physalis</i>	
65	1639	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	SI	1	<i>Physalis</i>	
65	1641	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	NO	1*		
65	1653	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	0		
65	1654	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	1	<i>Physalis</i>	
65	1655	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	1	<i>Physalis</i>	
65	1659	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	1	<i>Physalis</i>	
65	1660	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	0		
65	1661	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	1	<i>Physalis</i>	
65	1665	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Saca de Agua	01/10/2010	SI	1	<i>Physalis</i>	
65	1668	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Saca de Agua	01/10/2010	SI	0		
65	1669	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Saca de Agua	01/10/2010	SI	2*	Solanaceae	
65	1919	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.151100038514688, -86.32654924710731, 978m	09/09/2011	SI	1	<i>Physalis</i>	
65	1921	<i>Parorectis rugosa</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.159694595899516, -86.31462305291316, 1116m	10/09/2011	SI	1	<i>Physalis</i>	
66	1572		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	SI	2	<i>Cestrum,</i> <i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	
66	1596		Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Cerro La Campana, Los Cerritos, 13.15, -86.31666666666666	01/07/2010	SI	0		
66	1631		Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/11/2010	SI	2	<i>Cestrum,</i> Convolvulaceae	
66	1666		Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Saca de Agua	01/10/2010	SI	2	Fabaceae, Cucurbitaceae	
*67	1567		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	NO	0		
larva	1656		Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	01/05/2010	SI	1	Boraginales	
larva	1657		Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	NO	1	<i>Cordia</i>	

## B. Hispini

Morfoespecie	Individuo	Especie	Localidad	Fecha	Cox 1	psbA-trnH	Inferencia de dieta
31	2017		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	SI	0	
31	2030		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	NO	1	Poaceae
31	2212		Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.702800448541392, -85.95230884339341, 68m	07/11/2010	SI	3*	Poaceae

31	2213	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.704759923256267, -85.95157665021176, 64m	07/11/2010	SI	1*		
31	2393	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	Poaceae	
31	2500	Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-	SI	0		
32	2223	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	18/03/2012	SI	0		
33	2221	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.1508376312092, -86.3299361274264, 931m	01/06/2011	SI	2	Poaceae, Sicyoae	
33	2396	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	09/09/2011	SI	0		
33	2501	Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	31/01/2012	SI	2	Malvoideae, <i>Guaiacum</i>	
34	2499	Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-	SI	0		
35	2001	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	18/03/2012	SI	2	Solanaceae, Rubiaceae	
35	2009	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	14/07/2010	SI	1	Fabaceae	
35	2016	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419023298, -85.55391791895813, 66m	15/09/2009	NO	1	Fabaceae	
35	2027	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	21/09/2009	NO	1	Fabaceae	
35	2128	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitia, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	15/09/2009	NO	0		
35	2228	Managua, Montelímar, Reserva Natura	01/10/2009	NO	0		
35	2232	Managua, Montelímar, Reserva Natura	01/02/2011	NO	1	Fabaceae	
35	2235	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.222370828839932, -85.55587377793717, 132m	01/02/2011	NO	2*	Fabaceae	
35	2236	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.222370828839932, -85.55587377793717, 132m	11/03/2011	SI	1	Fabaceae	
35	2239	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18441909056598, -85.6575038815039 163m	11/03/2011	SI	1	Fabaceae	
35	2240	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe	12/03/2011	SI	2*	Fabaceae	
35	2373	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23527, -85.55388, 69m	12/03/2011	SI	1*		
35	2375	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	07/02/2012	NO	1	Fabaceae	
35	2387	León, rd Comarca La Fuente-Momotombo, 12.44766, -86.62160, 97m	09/02/2012	SI	0		
36	2233	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.22584863309297, -85.55524289383956, 111m	26/01/2012	SI	3*	<i>Mimosa</i> , Fabaceae	
36	2237	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.222370828839932, -85.55587377793717, 132m	11/03/2011	SI	1	Fabaceae	
36	2002	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	11/03/2011	SI	1	Fabaceae	
37	1997	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe	14/07/2010	NO	0		
37	2369	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	10-	SI	1	<i>Senna</i>	
38	2010	<i>Chalepus bellulus</i>	12/07/2010	SI	2*	<i>Senna</i>	
38	2011	<i>Chalepus bellulus</i>	08/02/2012	SI	2*	<i>Senna</i>	
38	2023	<i>Chalepus bellulus</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	Poaceae
38	2028	<i>Chalepus bellulus</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	Poaceae
38	2238	<i>Chalepus bellulus</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18441909056598, -85.6575038815039 163m	12/03/2011	NO	0	
38	2342	<i>Chalepus bellulus</i>	Managua, Montelímar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	1	Poaceae
38	2377	<i>Chalepus bellulus</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1*	
39	2022		Rivas, San Juan del Sur, Finca Escamequita, 11.221867163457599, -85.80353999089301, 96m	23/11/2009	SI	2*	
39	2395		Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	Poaceae
40	2502	<i>Platothispa championi</i>	Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-	SI	1	Salicaceae
41	2005		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores, 13.189155041938417, -86.32543937640558, 911m	18/03/2012	SI	1	
41	2007		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/03/2010	NO	1	Malvaceae
				01/03/2010	SI	1	Malvoideae

41	2127	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitil, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	1	Malvaceae	
41	2345	Managua, Montelímar, Reserva Natura, 11.86178, -86.51758, 53m	23/01/2012	SI	1	Malvoideae	
41	2348	Managua, Montelímar, Reserva Natura, 11.87727, -86.49295, 156m	22/01/2012	SI	2*		
41	2371	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1*		
41	2374	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23527, -85.55388, 69m	07/02/2012	SI	1	Malvaceae	
41	2379	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1*		
41	2390	Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	1	Malvaceae	
42	2349	<i>Anisostena pilatei</i>	24/01/2012	SI	1	Fabaceae	
43	2025	<i>Sumitrosis distinctus</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
43	2026	<i>Sumitrosis distinctus</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	NO	1	<i>Delilia biflora</i>
44	2014	<i>Sumitrosis palleens</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	NO	0	
44	2018	<i>Sumitrosis palleens</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	NO	0	
44	2207	<i>Sumitrosis palleens</i>	Managua, Montelímar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	1*	
44	2365	<i>Sumitrosis palleens</i>	Chinandega, Cerro Casitas, 12.64111, -86.99111111	13/01/2012	NO	1*	
44	2401	<i>Sumitrosis palleens</i>	Chinandega, Reserva Natural San Cristóbal - Casita, Apastate, 12.64427, -86.99152, 348m	03/02/2012	SI	1	Fabaceae
45	2220	<i>Oedhisa elevata</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflor-Moropotent, 13.151100038514688, -86.32654924710731, 978m	09/09/2011	SI	2*	
45	2229	<i>Oedhisa elevata</i>	Managua, Montelímar, Reserva Natura	01/02/2011	SI	1	Sapindaceae
45	2378	<i>Oedhisa elevata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1*	
45	2388	<i>Oedhisa elevata</i>	Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	1	Sapindaceae
46	2381		León, Comunidad Rota, 12.51238, -86.73282, 285m	27/01/2012	SI	1	Cucurbitaceae
47	2498		Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanquela	16-18/03/2012	SI	1	Lamiaceae
48	2029	<i>Brachycoryna pumila</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	NO	1	Malvaceae
48	2134	<i>Brachycoryna pumila</i>	Managua, Montelímar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	1	<i>Sida</i>
48	2136	<i>Brachycoryna pumila</i>	Managua, Montelímar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	0	
48	2210	<i>Brachycoryna pumila</i>	Managua, Montelímar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	1	Malvaceae
48	2211	<i>Brachycoryna pumila</i>	Managua, Montelímar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	1	Malvoideae
48	2214	<i>Brachycoryna pumila</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitil, 11.704759923256267, -85.95157665021176, 64m	07/11/2010	SI	1*	
48	2344	<i>Brachycoryna pumila</i>	Managua, Montelímar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	1	Malvaceae
48	2350	<i>Brachycoryna pumila</i>	León, Charcón, Puentec Palermo, 12.39081, -86.98938, 35m	20/01/2012	SI	1*	
48	2383	<i>Brachycoryna pumila</i>	León, entre Comarca de La Fuente y Momotombo, 12.51445, -86.60286, 113m	26/01/2012	SI	1	<i>Sida</i>
48	2386	<i>Brachycoryna pumila</i>	León, Comunidad Rota, 12.52670, -86.73326, 281m	27/01/2012	SI	1	Malvaceae
49	2004	<i>Heterispa vinula</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	1	Malvaceae
49	2006	<i>Heterispa vinula</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflor-Moropotent	01/03/2010	SI	0	
49	2008	<i>Heterispa vinula</i>	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflor-Moropotent, Finca Las Flores, 13.189155041938417, -86.32543937640558, 911m	01/03/2010	SI	0	
49	2012	<i>Heterispa vinula</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
49	2015	<i>Heterispa vinula</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	SI	0	
49	2024	<i>Heterispa vinula</i>	Rivas, San Juan del Sur, Finca Escamecueta, 11.221867163457599, -85.80353999089301, 96m	23/11/2009	SI	1*	
49	2031	<i>Heterispa vinula</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
49	2132	<i>Heterispa vinula</i>	Managua, Montelímar, Reserva Natura	10/10/2010	SI	0	
49	2133	<i>Heterispa vinula</i>	Managua, Montelímar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0	
49	2137	<i>Heterispa vinula</i>	Managua, Montelímar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0	

49	2209	<i>Heterispa vinula</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	2	Malvaceae, Malvaceae
49	2217	<i>Heterispa vinula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.151100038514688, -86.32654924710731, 978m	09/09/2011	SI	3*	Malvaceae, <i>Sida</i>
49	2218	<i>Heterispa vinula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.1508376312092, -86.3299361274264, 931m	09/09/2011	SI	1	Malvaceae
49	2225	<i>Heterispa vinula</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	SI	0	
49	2226	<i>Heterispa vinula</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	SI	0	
49	2227	<i>Heterispa vinula</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	SI	1	Malvaceae
49	2231	<i>Heterispa vinula</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	SI	1	Malvaceae
49	2343	<i>Heterispa vinula</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	2*	
49	2346	<i>Heterispa vinula</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86178, -86.51758, 53m	23/01/2012	SI	1*	
49	2370	<i>Heterispa vinula</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1*	
49	2372	<i>Heterispa vinula</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1*	
49	2384	<i>Heterispa vinula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Las Palmeritas, 13.19167, -86.32423, 931m	29/01/2012	SI	3*	Malvoideae
49	2389	<i>Heterispa vinula</i>	Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	2*	
50	1999	<i>Microrhopala perforata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe	10-	SI	0	
50	2126	<i>Microrhopala perforata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	12/07/2010	SI	0	
50	2130	<i>Microrhopala perforata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	15/09/2009	SI	0	
50	2135	<i>Microrhopala perforata</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/07/2010	NO	1	Boraginales
50	2208	<i>Microrhopala perforata</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	0	
50	2222	<i>Microrhopala perforata</i>	León, Jardín Botánico, 12.433857622191363, -86.9146500292148, 52m	08/10/2010	SI	2*	
50	2230	<i>Microrhopala perforata</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	10/08/2011	SI	2*	
50	2347	<i>Microrhopala perforata</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.87727, -86.49295, 156m	01/02/2011	SI	1	Heliantheae
50	2400	<i>Microrhopala perforata</i>	Chinandega, Reserva Natural San Cristóbal - Casita, Apastate, 12.64427, -86.99152, 348m	22/01/2012	SI	0	
51	1998	<i>Pentispaa Clarkella</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe	03/02/2012	SI	2*	
51	2013	<i>Pentispaa Clarkella</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	12/07/2010	SI	1	Asteraceae
51	2219	<i>Pentispaa Clarkella</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.190078307697604, -86.32925726757742, 988m	15/09/2009	SI	1	Heliantheae
51	2394	<i>Pentispaa Clarkella</i>	Esteli, 4km Esteli, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	11/09/2011	SI	1	Heliantheae
51	2397	<i>Pentispaa Clarkella</i>	Esteli, 4km Esteli, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	0	
51	2234	<i>Pentispaa Clarkella</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.222370828839932, -85.55587377793717, 132m	31/01/2012	SI	1	Heliantheae
52	2382	<i>Euprionota aterrima</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.222370828839932, -85.55587377793717, 132m	11/03/2011	NO	2*	
52	2382	<i>Euprionota aterrima</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad La Pita, 13.21921, -86.28530, 1108m	29/01/2012	SI	2	Asteracae, Cucurbitaceae
53	2497		Masaya, Masatepe, Cruz Negra, 11.916666666666666, -86.16666666666667, 320m	15/04/2012	SI	2	Labiaceae, Rubiaceae
54	2391		León, La Paz Centro, Laguna de Montegalán, 12.43891, -86.57033, 76m	01/02/2012	NO	1*	
54	2392		León, La Paz Centro, rd to Geotérmica, btw rd and swamp, lagoon after Loma de Chistata, 12.43437, -86.59300, 66m	01/02/2012	SI	2*	
54	2398		León, La Paz Centro, rd to Geotérmica, btw rd and swamp, lagoon after Loma de Chistata, 12.43437, -86.59300, 66m	01/02/2012	NO	1	Boraginales
54	2399		León, La Paz Centro, Laguna de Montegalán, 12.43891, -86.57033, 76m	01/02/2012	SI	1	Cordia
55	2368	<i>Cephaloleia puncticollis</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	0	
56	2380	<i>Cephaloleia tririttata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1	Cucurbitaceae
57	2367	<i>Cephaloleia belti</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1	Cucurbitaceae
57	2376	<i>Cephaloleia belti</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1	Cucurbitaceae
58	2270	<i>Imatidium thoracicum</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	09/02/2012	SI	2	Zingiberales, Malvaceae
61	2003	<i>Sceloenopla ampliata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	1	Dilleniaceae
61	2241	<i>Sceloenopla ampliata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe	12/03/2011	SI	1	Dilleniaceae

*68	2000		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores, 13.192741541339439, -86.33112332613098, 860m	01/04/2010	NO	0
*69	2366	<i>Xenochalepus rufithorax</i>	Chinandega, Cerro Casitas, 12.64427, -86.99152	13/01/2012	NO	1 Cucurbitaceae

## Subfamilia: Galerucinae

### C. Alticini

Morfoespecie	Individuo	Especie	Localidad	Fecha	CoxI	psbA-trnH	Inferencia de dieta
1	1080	<i>Walterianella venustula</i>	Masaya, Las Flores, 11.98333333333333, -86.033333333333, 150m	20/07/2010	SI	0	
1	1090	<i>Walterianella venustula</i>	Masaya, Las Flores, 11.98333333333333, -86.033333333333, 150m	20/07/2010	SI	0	
1	1119	<i>Walterianella venustula</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	1	Lamiaceae
1	1132	<i>Walterianella venustula</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	1	<i>Cordia</i>
1	1156	<i>Walterianella venustula</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	2*	Lamiaceae
1	1178	<i>Walterianella venustula</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	SI	1	Tabebuia alliance
1	1193	<i>Walterianella venustula</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	1	Lantaneae
1	1194	<i>Walterianella venustula</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	0	
1	1240	<i>Walterianella venustula</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	1	Lantaneae
1	1257	<i>Walterianella venustula</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.709023628774801, -85.9529001419169, 65m	07/11/2010	SI	0	
1	1262	<i>Walterianella venustula</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	07/11/2010	SI	0	
1	1426	<i>Walterianella venustula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Esperanza	01/08/2010	SI	1	Scrophulariaceae
1	1432	<i>Walterianella venustula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflores	01/09/2010	SI	0	
1	1806	<i>Walterianella venustula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.188456405222869, -86.32452771889574, 971m	11/09/2011	SI	1	Bignoniaceae
1	1811	<i>Walterianella venustula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.188456405222869, -86.32452771889574, 971m	11/09/2011	SI	1	Bignoniaceae
1	1819	<i>Walterianella venustula</i>	León, Jardín Botánico, 12.433378160793, -86.91408891626287, 52m	13/08/2011	SI	2*	Tabebuia alliance
1	1820	<i>Walterianella venustula</i>	León, Jardín Botánico, 12.433378160793, -86.91408891626287, 52m	13/08/2011	SI	1	Lantaneae
1	1823	<i>Walterianella venustula</i>	León, Jardín Botánico, 12.433242414966534, -86.91377612232554, 50m	04/08/2011	SI	1	Verbenaceae
1	1824	<i>Walterianella venustula</i>	León, Jardín Botánico, 12.433378160793, -86.91408891626287, 52m	13/08/2011	SI	1	Ruellia
1	1917	<i>Walterianella venustula</i>	León, Jardín Botánico, 12.433378160793, -86.91408891626287, 52m	13/08/2011	SI	0	
1	2515	<i>Walterianella venustula</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, refuge (light), 11.86753, -86.51403	22/01/2012	SI	0	
1	2667	<i>Walterianella venustula</i>	Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	1*	
1	2791	<i>Walterianella venustula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Las Palmitas, 13.19167, -86.32423, 931m	29/01/2012	SI	2*	
1	3416	<i>Walterianella venustula</i>	Masaya, Las Flores, 11.98333333333333, -86.033333333333, 150m	20/07/2010	SI	1	Lamiales
1	3417	<i>Walterianella venustula</i>	Masaya, Las Flores, 11.98333333333333, -86.033333333333, 150m	20/07/2010	SI	1	Lamiales
1	3418	<i>Walterianella venustula</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	SI	1	Rosales
1	3419	<i>Walterianella venustula</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	2*	Lamiales
1	3421	<i>Walterianella venustula</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	1	Tabebuia alliance
1	3422	<i>Walterianella venustula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Esperanza	01/08/2010	SI	3*	Lamiales
1	3526	<i>Walterianella venustula</i>	Masaya, Las Flores, 11.98333333333333, -86.033333333333, 150m	20/07/2010	SI	1	Lamiales
1	3527	<i>Walterianella venustula</i>	Masaya, Las Flores, 11.98333333333333, -86.033333333333, 150m	20/07/2010	SI	1	Lamiales
1	3528	<i>Walterianella venustula</i>	Masaya, Las Flores, 11.98333333333333, -86.033333333333, 150m	20/07/2010	SI	0	



1	3574	<i>Walterianella venustula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Esperanza	01/08/2010	SI	1	Scrophulariaceae
1	3575	<i>Walterianella venustula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Esperanza	01/08/2010	SI	1	Scrophulariaceae
1	3576	<i>Walterianella venustula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Esperanza	01/08/2010	NO	1	Scrophulariaceae
1	3577	<i>Walterianella venustula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Esperanza	01/08/2010	NO	2*	Scrophulariaceae
1	3578	<i>Walterianella venustula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Esperanza	01/08/2010	NO	1	Scrophulariaceae
1	3579	<i>Walterianella venustula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Esperanza	01/08/2010	SI	1	Scrophulariaceae
1	3580	<i>Walterianella venustula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Esperanza	01/08/2010	SI	0	
1	3581	<i>Walterianella venustula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Esperanza	01/08/2010	SI	1	Scrophulariaceae
1	3582	<i>Walterianella venustula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Esperanza	01/08/2010	SI	1	Scrophulariaceae
1	3583	<i>Walterianella venustula</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Esperanza	01/08/2010	SI	1	Scrophulariaceae
1	3584	<i>Walterianella venustula</i>	Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	1	Moraceae
1	3585	<i>Walterianella venustula</i>	Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	0	
1	3586	<i>Walterianella venustula</i>	Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	0	
2	1260	<i>Walterianella exocosta</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	07/11/2010	SI	0	
2	2579	<i>Walterianella exocosta</i>	León, Comunidad Rota, 12.51238, -86.73282, 285m	27/01/2012	SI	0	
2	2687	<i>Walterianella exocosta</i>	Esteli, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	2	Rubiaceae, <i>Guaiacum</i>
2	3420	<i>Walterianella exocosta</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	1	Bignoniaceae
2	3569	<i>Walterianella exocosta</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	0	
2	3570	<i>Walterianella exocosta</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	0	
3	2545	<i>Walterianella tenuicincta</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	2*	
3	2581	<i>Walterianella tenuicincta</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad La Pita, 13.21921, -86.28530, 1108m	29/01/2012	SI	1	Tabebuia alliance
4	1157	<i>Walterianella oculata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	1	Tabebuia alliance
4	1184	<i>Walterianella oculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
4	2538	<i>Walterianella oculata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1	Bignoniaceae
4	2552	<i>Walterianella oculata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23527, -85.55388, 69m	07/02/2012	SI	1	Bignoniaceae
4	2559	<i>Walterianella oculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	0	
4	2688	<i>Walterianella sublineata</i>	Esteli, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	Rubiaceae
5	1261	<i>Walterianella signata?</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	07/11/2010	SI	0	
5	1847	<i>Walterianella signata?</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1*	
5	2534	<i>Walterianella signata?</i>	León, Charcón, Puente Palermo, 12.39081, -86.98938, 35m	20/01/2012	SI	0	
5	2677	<i>Walterianella signata?</i>	Esteli, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	Rubiaceae
5	2686	<i>Walterianella signata?</i>	Esteli, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	Rubiaceae
6	2549	<i>Walterianella humeralis</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	0	
7	1077	<i>Alagoasa longitutata</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	01/05/2010	SI	1	<i>Apbelandra</i>
7	1079	<i>Alagoasa longitutata</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	01/05/2010	SI	1	Bignoniaceae
7	1083	<i>Alagoasa longitutata</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	01/05/2010	SI	1	Bignoniaceae
7	1109	<i>Alagoasa longitutata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/07/2010	SI	1*	
7	1112	<i>Alagoasa longitutata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Cerro La Campana, Los Cerritos, 13.15, -86.31666666666666	01/07/2010	SI	1	Bignoniaceae
7	1114	<i>Alagoasa longitutata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Don Avelino Rodríguez	01/05/2010	SI	0	
7	1126	<i>Alagoasa longitutata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Los Charcos	01/07/2010	SI	1	<i>Lantana</i>
7	1127	<i>Alagoasa longitutata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/07/2010	SI	1	Verbenaceae
7	1137	<i>Alagoasa longitutata</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	01/05/2010	SI	0	
7	1138	<i>Alagoasa longitutata</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	01/05/2010	SI	2*	

7	1140	<i>Alagoasa longitutata</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	01/05/2010	SI	3*	
7	1150	<i>Alagoasa longitutata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores, 13.192741541339439, -86.33112332613098, 860m	01/04/2010	SI	2*	
7	1154	<i>Alagoasa longitutata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	1	Verbenaceae
7	1158	<i>Alagoasa longitutata</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	0	
7	1414	<i>Alagoasa longitutata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/11/2010	SI	1*	
7	1419	<i>Alagoasa longitutata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, La Quinta	01/08/2010	SI	0	
7	1800	<i>Alagoasa longitutata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.190078307697604, -86.32925726757742, 988m	11/09/2011	SI	1	Lantaneae
7	1844	<i>Alagoasa longitutata</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Rio Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Verbenaceae
7	2698	<i>Alagoasa longitutata</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Rio Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	11/08/2011	SI	1	Bignoniaceac
7	2700	<i>Alagoasa longitutata</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Rio Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	02/09/2011	SI	1	Verbenaceae
7	3414	<i>Alagoasa longitutata</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	01/05/2010	SI	3*	
7	3415	<i>Alagoasa longitutata</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Rio Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Lantaneae
7	3587	<i>Alagoasa longitutata</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	01/05/2010	SI	1	Lantaneae
7	3589	<i>Alagoasa longitutata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	2*	
8	1078	<i>Alagoasa sp.</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	01/05/2010	SI	0	
8	1125	<i>Alagoasa sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Los Charcos	01/07/2010	SI	1	Lantana
8	1131	<i>Alagoasa sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Cerro La Campana, Los Cerritos, 13.15, -86.31666666666666	01/07/2010	SI	0	
8	1142	<i>Alagoasa sp.</i>	Masaya, Las Flores, 11.98333333333333, -86.03333333333333, 150m	20/07/2010	SI	1	Lamiales
8	1845	<i>Alagoasa sp.</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Rio Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Lantaneae
9	1149		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe	10/12/07/2010	SI	1	Verbenaceae
9	2558		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	0	
10	1082	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
10	1104	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
10	1108	<i>Omphoita octomaculata</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.9536179233926, 55m	01/10/2009	SI	0	
10	1851	<i>Omphoita octomaculata</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	SI	0	
10	2531	<i>Omphoita octomaculata</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, refuge (light), 11.86753, -86.51403	22/01/2012	SI	0	
10	2666	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	1	<i>Graiacum</i>
10	2672	<i>Omphoita octomaculata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.23898, -86.32987, 882m	30/01/2012	SI	2*	<i>Leonotis</i>
10	2703	<i>Omphoita octomaculata</i>	Esteli, Reserva Natural Tiscy - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	1	<i>Graiacum</i>
10	3412	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	2*	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
10	3413	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	2*	
10	3588	<i>Omphoita octomaculata</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	01/05/2010	SI	1	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
10	3590	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
10	3591	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
10	3592	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	NO	1	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
10	3593	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	NO	1	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
10	3594	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	NO	1	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
10	3595	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
10	3596	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	2	Asteraceae, <i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
10	3597	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
10	3598	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
10	3599	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	

10	3600	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
10	3601	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
10	3602	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	NO	0	
10	3603	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	Asteraceae
10	3604	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
10	3605	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
10	3606	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
10	3607	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
10	3608	<i>Omphoita octomaculata</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
10	3609	<i>Omphoita octomaculata</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	0	
10	3610	<i>Omphoita octomaculata</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	0	
10	3611	<i>Omphoita octomaculata</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	NO	0	
10	3612	<i>Omphoita octomaculata</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Comunidad Naranja de Fátima, 13.23898, -86.32987, 882m	30/01/2012	SI	0	
10	3613	<i>Omphoita octomaculata</i>	Esteli, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	1	Lamiaceae
10	3614	<i>Omphoita octomaculata</i>	Esteli, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	1	<i>Galinsoga</i>
10	3615	<i>Omphoita octomaculata</i>	Esteli, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	1	<i>Hyptis</i>
11	1416	<i>Omphoita sp. 1</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, El Tunal	01/08/2010	SI	1	Rubiaceae
11	2503	<i>Omphoita sp. 1</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	0	
11	2521	<i>Omphoita sp. 1</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	NO	0	
11	2535	<i>Omphoita sp. 1</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.8663888888888888, -86.5141666666666666	21/01/2012	NO	0	
12	1111		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Cerro La Campana, Los Cerritos, 13.15, -86.3166666666666666	01/07/2010	SI	1	Asteraceae
12	1423		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Empalme	01/08/2010	SI	1	Boraginaceas
12	1428		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Empalme	01/08/2010	SI	0	
13	1431		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Chilamatillo, 13.18597222222222, -86.28916666666666, 1262m	01/11/2010	SI	1	Scrophulariaceae
13	2702		Esteli, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	2*	
14	1155	<i>Omphoita sp. 2</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	1	Lamiaceae
14	1180	<i>Omphoita sp. 2</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	SI	0	
15	1153		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	0	
16	2560		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1	Rubiaceae
17	1418	<i>Disorycha sp. 1</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, La Quinta	01/08/2010	SI	0	
17	1424	<i>Disorycha sp. 1</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent	01/08/2010	SI	1	Lantaneae
17	1799	<i>Disorycha sp. 1</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, 13.151100038514688, -86.32654924710731, 978m	09/09/2011	SI	0	
18	1130	<i>Disorycha sp. 2</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Cerro La Campana, Los Cerritos, 13.15, -86.3166666666666666	01/07/2010	SI	1	<i>Amaranthus</i>
18	1191	<i>Disorycha sp. 2</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Finca Bartolo, 13.198739120605543, -86.3252654351621, 993m	01/06/2010	SI	1	Amaranthaceae
18	1914	<i>Disorycha sp. 2</i>	León, Jardín Botánico, 12.433468856091176, -86.91492619032256, 46m	08/08/2011	SI	0	
18	1915	<i>Disorycha sp. 2</i>	León, Jardín Botánico, 12.433260997613685, -86.91534951009972, 51m	09/08/2011	SI	1	Amaranthaceae
18	2513	<i>Disorycha sp. 2</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	0	
19	1176	<i>Disorycha sp. 3</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	NO	0	
19	1358	<i>Disorycha sp. 3</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	NO	1*	
19	2697	<i>Disorycha sp. 3</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	11/08/2011	SI	1	Fabaceae
19	2699	<i>Disorycha sp. 3</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	02/09/2011	SI	0	
20	1805	<i>Disorycha sp. 4</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, 13.192000071539937, -86.32422268881433, 990m	11/09/2011	SI	3	Asteraceae, Fabaceae, Cucurbitaceae

21	1102	<i>Disonycha sp. 5</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	2	Malvaceae, Amaranthaceae
22	1129	<i>Disonycha sp. 6</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Los Charcos	01/07/2010	SI	2*	
22	2705	<i>Disonycha sp. 6</i>	Esteli, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	1	Dalbergieae
23	2673	<i>Disonycha sp. 7</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.23898, -86.32987, 882m	30/01/2012	SI	2	Salicaceas, <i>Guaiacum</i>
24	2704	<i>Disonycha sp. 8</i>	Esteli, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	1	Asteraceae
25	1110	<i>Disonycha sp. 9</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Los Charcos	01/07/2010	NO	2*	
25	1118	<i>Disonycha sp. 9</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Los Charcos	01/07/2010	SI	1	Convolvulaceae
25	1420	<i>Disonycha sp. 9</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiquí	01/08/2010	NO	2*	
25	2701	<i>Disonycha sp. 9</i>	Esteli, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	2*	
26	1134	<i>Disonycha sp. 10</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	1	Malvaceae
26	1177	<i>Disonycha sp. 10</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23444919023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	SI	1	Malvaceae
26	1200	<i>Disonycha sp. 10</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0	
26	1245	<i>Disonycha sp. 10</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	1	Malvaceae
26	1248	<i>Disonycha sp. 10</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	1	Malvaceae
26	1433	<i>Disonycha sp. 10</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	1	Malvaceae
26	1436	<i>Disonycha sp. 10</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Saca de Agua	01/10/2010	SI	1	Malvaceae
26	1677	<i>Disonycha sp. 10</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	1	Malvaceae
26	2536	<i>Disonycha sp. 10</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86638888888888, -86.51416666666667	21/01/2012	SI	1	Malvaceae
26	2539	<i>Disonycha sp. 10</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	0	
26	2547	<i>Disonycha sp. 10</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1	Malvaceae
27	2507		Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	0	
27	2511		Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	0	
27	2512		Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	1	Pentapetalae
27	2514		Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	0	
27	2517		Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	1	Pentapetalae
27	2522		Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	0	
27	2529		Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.87727, -86.49295, 156m	22/01/2012	SI	0	
27	2537		Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86666666666667, -86.5005555555555	22/01/2012	SI	0	
28	2707		Esteli, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	1	Solanaceae
29	2585		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad La Pita, 13.21921, -86.28530, 1108m	29/01/2012	SI	0	
30	1107		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	Malvaceae
30	1166		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	2*	Malvaceae
31	2520		Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	0	
31	2530		Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86978, -86.50645, 91m	21/01/2012	SI	1	Malpighiaceae
32	2706		Esteli, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	2*	Solanaceae
33	1088		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores, 13.192633519565153, -86.33130818340169, 863m	01/04/2010	SI	1	Rubiaceae
33	1128		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/07/2010	SI	1	Heliantheae
34	2690		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 5km Esteli on brick rd to Yali, 13.11455, -86.29964, 968m	30/01/2012	SI	1	Amaranthaceae
35	1164		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	Convolvulaceae
36	1133	<i>Heikertingerella sp. 1</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	1	Bignoniaceae
36	1196	<i>Heikertingerella sp. 1</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	1	Bignoniaceae
36	1853	<i>Heikertingerella sp. 1</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	NO	0	

36	2518	<i>Heikertingerella</i> sp. 1	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	0	
36	2541	<i>Heikertingerella</i> sp. 1	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1	Bignoniaceae
36	2656	<i>Heikertingerella</i> sp. 1	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Las Palmitas, 13.19167, -86.32423, 931m	29/01/2012	SI	1	Bignoniaceae
36	2665	<i>Heikertingerella</i> sp. 1	León, rd Comarca La Fuente-Momotombo, 12.44766, -86.62160, 97m	26/01/2012	SI	0	
36	2668	<i>Heikertingerella</i> sp. 1	Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	2*	
36	2683	<i>Heikertingerella</i> sp. 1	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	1*	
37	1906		Rivas, Sapóá, Finca Guadalupe, 11.18938281788044, -85.68391854160579, 180m	12/03/2011	SI	1	Rubiaceae
38	1860		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.228919383062967, -85.55643651059397, 77m	11/03/2011	SI	1	Fabaceae
38	2680		Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	<i>Guaiacum</i>
39	2565		Rivas, Sapóá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1	<i>Ruellia</i>
40	2682		Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	1	Rubiaceae
41	1094		Rivas, Sapóá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	Lantaneae
41	1862		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.228919383062967, -85.55643651059397, 77m	11/03/2011	NO	0	
41	1866		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.222370828839932, -85.55587377793717, 132m	11/03/2011	SI	2*	Lantaneae
42	1256		Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.703725487679714, -85.95305770106094, 95m	07/11/2010	SI	1	Bignoniaceae
42	2652		Rivas, San Juan del Sur, Finca Escamequita, 11.19598, -85.81191, 100m	10/02/2012	SI	2*	
43	1429		Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, El Tunal	01/08/2010	NO	1	Bignoniaceae
43	1435		Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Saca de Agua	01/10/2010	SI	1	Bignoniaceae
43	1809		Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.188456405222869, -86.32452771889574, 971m	11/09/2011	SI	2*	Bignoniaceae
43	1813		Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/09/2011	SI	1	Bignoniaceae
43	1817		Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Las Palmas	01/12/2010	SI	0	
44	1858	<i>Heikertingerella</i> sp. 2	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234014251966077, -85.55367280953504, 76m	11/03/2011	NO	1	Bignoniaceae
44	2551	<i>Heikertingerella</i> sp. 2	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23527, -85.55388, 69m	07/02/2012	SI	1	Bignoniaceae
45	1179		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	SI	0	
45	1859		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234014251966077, -85.55367280953504, 76m	11/03/2011	SI	2	Nelsonioideae, Tabebuia alliance
45	2523		Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	0	
45	2540		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	0	
45	2548		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	0	
45	2557		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23527, -85.55388, 69m	07/02/2012	SI	0	
45	2582		Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad La Pita, 13.21921, -86.28530, 1108m	29/01/2012	SI	0	
45	2691		Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 5km Estelí on brick rd to Yali, 13.11455, -86.29964, 968m	30/01/2012	SI	2	<i>Guaiacum</i> , <i>Guaiacum</i>
46	1161		Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores, 13.192570635226371, -86.33146523331702, 852m	01/04/2010	SI	2	Fabaceae, Rubiaceae
47	2676		Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.23898, -86.32987, 882m	30/01/2012	SI	2	Cleomaceae, <i>Guaiacum</i>
48	2561		Rivas, Sapóá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1	Rubiaceae
49	1359		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	0	
49	1365		Rivas, Sapóá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	3*	Fabaceae
49	1452		Rivas, Sapóá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	Rubiaceae
49	1455		Rivas, Sapóá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	2	Zingiberales, Acanthaceae
49	1527		Managua, Montelimar, Reserva Natura	10/10/2010	SI	1	Fabaceae
49	1675		Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	0	
49	1680		Managua, Montelimar, Reserva Natura	10/10/2010	SI	0	

49	2504	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	2*	Fabaceae	
49	2505	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	0		
49	2506	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	0		
49	2508	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	0		
49	2510	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	0		
50	2572	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	0		
51	1099	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	2	Rubiaceae, <i>Guaiacum</i>	
51	1169	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0		
51	1172	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0		
51	1174	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0		
52	1167	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	2*	Rubiaceae	
52	1168	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	Rubiaceae	
52	1171	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0		
52	1454	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	Zingiberales	
53	2562	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1	Rubiaceae	
54	1089	<i>Glendiodion sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores, 13.192570635226371, -86.33146523331702, 852m	01/04/2010	SI	0	
54	1103	<i>Glendiodion sp.</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
54	1120	<i>Glendiodion sp.</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitilla, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	1	Theaceae
54	1152	<i>Glendiodion sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores, 13.192633519565153, -86.33130818340169, 863m	01/04/2010	SI	1	Fabaceae
54	1163	<i>Glendiodion sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores, 13.192633519565153, -86.33130818340169, 863m	01/04/2010	NO	0	
54	1197	<i>Glendiodion sp.</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	0	
54	1241	<i>Glendiodion sp.</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	1	Fabaceae
54	1249	<i>Glendiodion sp.</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0	
54	1821	<i>Glendiodion sp.</i>	León, Jardín Botánico, 12.433377884986196, -86.91322400939717, 56m	03/08/2011	SI	1	Fabaceae
54	1825	<i>Glendiodion sp.</i>	León, Jardín Botánico, 12.433378160793, -86.91408891626287, 52m	13/08/2011	SI	2*	Fabaceae
54	1826	<i>Glendiodion sp.</i>	León, Jardín Botánico, 12.433260997613685, -86.91534951009972, 51m	04/03/2011	SI	0	
54	1827	<i>Glendiodion sp.</i>	León, Jardín Botánico, 12.4333778849709777, -86.91564390844543, 54m	08/03/2011	SI	0	
54	1850	<i>Glendiodion sp.</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	SI	0	
54	1867	<i>Glendiodion sp.</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18441909056598, -85.6575038815039 163m	12/03/2011	SI	0	
54	1909	<i>Glendiodion sp.</i>	León, Jardín Botánico, 12.433431998671493, -86.91277313560317, 53m	02/08/2011	SI	1	Lamiaceae
54	1911	<i>Glendiodion sp.</i>	León, Jardín Botánico, 12.433431998671493, -86.91277313560317, 53m	02/08/2011	SI	1	Fabaceae
54	1912	<i>Glendiodion sp.</i>	León, Jardín Botánico, 12.433377884986196, -86.91322400939717, 56m	03/08/2011	SI	2	Fabaceae, Fabaceae
54	1913	<i>Glendiodion sp.</i>	León, Jardín Botánico, 12.433468856091176, -86.91492619032256, 46m	08/08/2011	SI	2*	Fabaceae
54	1916	<i>Glendiodion sp.</i>	León, Jardín Botánico, 12.434671520762624, -86.91471417187955, 45m	11/08/2011	SI	0	
54	2524	<i>Glendiodion sp.</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	0	
54	2533	<i>Glendiodion sp.</i>	León, Charcón, Puent Palermo, 12.39081, -86.98938, 35m	20/01/2012	SI	0	
54	2554	<i>Glendiodion sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23527, -85.55388, 69m	07/02/2012	SI	0	
54	2555	<i>Glendiodion sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23527, -85.55388, 69m	07/02/2012	SI	1	Fabaceae
54	2563	<i>Glendiodion sp.</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	0	
54	2564	<i>Glendiodion sp.</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	0	
54	2653	<i>Glendiodion sp.</i>	Rivas, San Juan del Sur, Finca Escamequita, 11.19598, -85.81191, 100m	10/02/2012	SI	0	
54	2669	<i>Glendiodion sp.</i>	Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	1	Fabaceae
54	2685	<i>Glendiodion sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	1	Lantaneae

54	3440	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores, 13.192570635226371, -86.33146523331702, 852m	01/04/2010	NO	1	Burseraceae
54	3441	<i>Glendiodon sp.</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	Burseraceae
54	3442	<i>Glendiodon sp.</i>	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	2	Burseraceae, Lamiales
54	3443	<i>Glendiodon sp.</i>	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	2	Burseraceae, Lamiales
54	3444	<i>Glendiodon sp.</i>	León, Charcón, Puent Palermo, 12.39081, -86.98938, 35m	20/01/2012	SI	1	Fabaceae
54	3445	<i>Glendiodon sp.</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	2	Burseraceae, Lamiales
54	3616	<i>Glendiodon sp.</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
54	3617	<i>Glendiodon sp.</i>	León, Charcón, Puent Palermo, 12.39081, -86.98938, 35m	20/01/2012	SI	0	
54	3618	<i>Glendiodon sp.</i>	León, Charcón, Puent Palermo, 12.39081, -86.98938, 35m	20/01/2012	SI	0	
54	3619	<i>Glendiodon sp.</i>	León, Charcón, Puent Palermo, 12.39081, -86.98938, 35m	20/01/2012	SI	0	
54	3620	<i>Glendiodon sp.</i>	León, Charcón, Puent Palermo, 12.39081, -86.98938, 35m	20/01/2012	SI	1	Fabaceae
54	3621	<i>Glendiodon sp.</i>	León, Charcón, Puent Palermo, 12.39081, -86.98938, 35m	20/01/2012	SI	1	Fabaceae
54	3622	<i>Glendiodon sp.</i>	León, Charcón, Puent Palermo, 12.39081, -86.98938, 35m	20/01/2012	SI	0	
54	3623	<i>Glendiodon sp.</i>	León, Charcón, Puent Palermo, 12.39081, -86.98938, 35m	20/01/2012	SI	1	Fabaceae
54	3624	<i>Glendiodon sp.</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	0	
54	3625	<i>Glendiodon sp.</i>	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1	Fabaceae
54	3626	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	0	
54	3627	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	1	Fabaceae
54	3628	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	0	
54	3629	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	0	
54	3630	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	0	
54	3631	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	1	Lamiales
54	3632	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	0	
54	3633	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	1	Lamiales
54	3634	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	0	
54	3635	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	0	
54	3636	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	2*	
54	3637	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	0	
54	3638	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	0	
54	3639	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	0	
54	3640	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	1	Fabaceae
54	3641	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	1	Lantanaeae
54	3642	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	1	Lantanaeae
54	3643	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	0	
54	3644	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	1	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
54	3645	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	1	Fabaceae
54	3646	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	1	Lamiales
54	3647	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	0	
54	3648	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	0	
54	3649	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	1	Fabaceae
54	3650	<i>Glendiodon sp.</i>	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	0	
55	1116		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Don Avelino Rodríguez	01/05/2010	SI	2	Rubiaceae, <i>Guaiacum</i>
55	1124		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	

56	2708		Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	1	Solanaceae
57	1081		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent	01/03/2010	SI	1	<i>Croton</i>
57	1091		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Finca Las Flores, 13.189155041938417, -86.32543937640558, 911m	01/03/2010	SI	0	
57	1145		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Finca Las Flores, 13.189482761378018, -86.32627823034785, 905m	01/03/2010	SI	1	<i>Croton</i>
57	1159		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Finca Las Flores, 13.192570635226371, -86.33146523331702, 852m	01/04/2010	SI	0	
57	1427		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Isiqui	01/08/2010	SI	0	
57	1437		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Las Palmas	01/10/2010	SI	1	<i>Croton</i>
57	2649		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Comunidad La Pita, 13.21921, -86.28530, 1108m	29/01/2012	SI	1	<i>Croton</i>
58	1165		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
58	2576		León, Comunidad Rota, 12.51238, -86.73282, 285m	27/01/2012	SI	0	
58	2663		León, Comarca La Fuente, Puent La Fuente, rd Malpasillo-Momotombo, 12.52898, -86.59581, 109m	26/01/2012	SI	2*	
59	1814		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, 13.188456405222869, -86.32452771889574, 971m	11/09/2011	SI	1	<i>Euphorbia heterophylla</i>
60	2639		Esteli, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	2	Rubiaceae, <i>Guaiaicum</i>
61	1106		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	2	Malvaceae, <i>Centrosema</i>
62	2586		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Comunidad La Pita, 13.21921, -86.28530, 1108m	29/01/2012	SI	1	Lantanae
63	2568		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1	Boraginaceas
64	2675		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Comunidad Naranja de Fátima, 13.23898, -86.32987, 882m	30/01/2012	SI	2	Cleomaceae, Rubiaceae
65	1263		Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	07/11/2010	SI	0	
65	1836		Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuclas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	2*	
65	2516		Managua, Montelimar, Reserva Natur, refuge (light), 11.86753, -86.51403	22/01/2012	SI	0	
65	2527		Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.87659, -86.50341, 125m	22/01/2012	SI	1	<i>Ludwigia octovalvis</i>
65	2734		Managua, Montelimar, Reserva Natura, refuge (light), 11.86753, -86.51403	22/01/2012	SI	1	<i>Ludwigia octovalvis</i>
65	2806		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Comunidad Naranja de Fátima, 13.23898, -86.32987, 882m	30/01/2012	SI	1	<i>Ludwigia octovalvis</i>
66	1732		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent	01/11/2010	SI	1	<i>Ludwigia octovalvis</i>
66	1741		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Buena Vista	01/10/2010	SI	0	
66	1816		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent	01/12/2010	SI	0	
66	2803		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Comunidad Naranja de Fátima, 13.23898, -86.32987, 882m	30/01/2012	SI	1	<i>Ludwigia octovalvis</i>
67	1464		Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	1	Poaceae
67	2603		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	07/02/2012	SI	0	
67	2609		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1	Fabaceae
67	2624		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23527, -85.55388, 69m	07/02/2012	SI	0	
68	2550		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1	Fabaceae
69	1115		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Finca Don Avelino Rodríguez	01/05/2010	NO	0	
69	1117		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Finca Don Avelino Rodríguez	01/05/2010	SI	1	Rubiaceae
69	1804		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, 13.192000071539937, -86.32422268881433, 990m	11/09/2011	SI	0	
69	2623		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23527, -85.55388, 69m	07/02/2012	SI	0	
70	1868		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.185123063261535, -85.669359314085, 152m	12/03/2011	SI	0	
70	2632		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1	Fabaceae
70	3659		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1	<i>Acalypfa</i>
71	1802		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, 13.151100038514688, -86.32654924710731, 978m	09/09/2011	SI	1*	
71	1803		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, 13.1508376312092, -86.3299361274264, 931m	09/09/2011	SI	1	Pentapetalae
71	2644		Esteli, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	0	
72	1857	<i>Symprea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.228192370156028, -85.55194342894919	10/03/2011	SI	1	<i>Acalypfa</i>

72	2601	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	3*	
72	2610	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	2*	
72	2613	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	0	
72	2620	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	0	
72	3398	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	2*	
72	3399	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	2*	<i>Acalypha</i>
72	3651	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1	Fabaceae
72	3652	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1	<i>Acalypha</i>
72	3653	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	0	
72	3654	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1	Lantaneae
72	3655	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	0	
72	3656	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1*	
72	3657	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	3*	Fabaceae
72	3658	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1	<i>Acalypha</i>
72	3660	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1	<i>Acalypha</i>
72	3661	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1	Fabaceae
72	3662	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1	<i>Acalypha</i>
72	3663	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	2*	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
72	3664	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	0	
72	3665	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	0	
72	3667	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1	<i>Acalypha</i>
72	3668	<i>Syphrea sp.</i>	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1	<i>Acalypha</i>
73	1095		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419(023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	SI	0	
73	1856		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.231646462818631, -85.55201778761379	10/03/2011	SI	1	Cucurbitaceae
73	1863		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.22584863309297, -85.55524289383956, 111m	11/03/2011	SI	1	Cucurbitaceae
73	1865		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.224698963958769, -85.55494639305967, 130m	11/03/2011	SI	0	
73	2543		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	07/02/2012	SI	0	
73	2544		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	0	
73	2546		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	0	
73	2556		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23527, -85.55388, 69m	07/02/2012	SI	0	
73	2567		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	0	
73	2650		Rivas, San Juan del Sur, Finca Escamequita, 11.19598, -85.81191, 100m	10/02/2012	SI	0	
74	1852		Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	SI	2	Malvaceae, <i>Piper</i>
75	1835		Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	2	Fabaceae, <i>Cordia</i>
75	2664		León, rd Comarca La Fuente-Momotombo, 12.44766, -86.62160, 97m	26/01/2012	SI	2	Fabaceae, <i>Guaiacum</i>
76	1170		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	2	Mimosoideae, Rubiaceae
77	2654		Rivas, San Juan del Sur, Finca Escamequita, 11.19598, -85.81191, 100m	10/02/2012	SI	1	Rubiaceae
78	1160		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotent, Finca Las Flores, 13.192570635226371, -86.33146523331702, 852m	01/04/2010	SI	1	Malvaceae
78	1272		Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.704759923256267, -85.95157665021176, 64m	07/11/2010	SI	1	Malvaceae
78	1276		Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70781008164388, -85.95238173378193, 67m	07/11/2010	SI	1	Phasoleae
78	2528		Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.87659, -86.50341, 125m	22/01/2012	SI	0	
78	2569		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	0	

79	1434	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	0	
80	1864	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.224698963958769, -85.55494639305967, 130m	11/03/2011	SI	1	Euphorbiaceae
80	2566	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	0	
80	2651	Rivas, San Juan del Sur, Finca Escamequito, 11.19598, -85.81191, 100m	10/02/2012	SI	1	Acalyphoideae
81	2542	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	2	Rubiaceae, <i>Guaiacum</i>
82	1175	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	NO	0	
82	1869	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.185123063261535, -85.669359314085, 152m	12/03/2011	SI	0	
82	1904	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.184533315251517, -85.67296997567995, 164m	12/03/2011	SI	0	
83	2678	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	<i>Guaiacum</i>
84	2573	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1	Rubiaceae
85	1243	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0	
85	1271	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70464727455702, -85.95291661012887, 97m	07/11/2010	SI	0	
85	1415	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Sac de Agua, 13.152611111111112, -86.33372222222222, 850m	01/11/2010	SI	1	Solanaceae
85	1855	Managua, Montelimar, Reserva Natura	10/03/2011	SI	1	Malvaceae
85	1910	León, Jardín Botánico, 12.433431998671493, -86.91277313560317, 53m	02/08/2011	SI	0	
85	2577	León, Comunidad Rota, 12.51238, -86.73282, 285m	27/01/2012	SI	0	
85	2584	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad La Pita, 13.21921, -86.28530, 1108m	29/01/2012	SI	2	Fabaceae, Cucurbitaceae
86	1815	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.1508376312092, -86.3299361274264, 931m	09/09/2011	SI	1	Solanaceae
86	2525	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	1*	
86	2655	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Las Palmitas, 13.19167, -86.32423, 931m	29/01/2012	SI	1	<i>Guaiacum</i>
86	2671	Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	0	
86	2679	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	<i>Guaiacum</i>
87	2574	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	2	<i>Solanum</i> , Rubiaceae
88	1255	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.707428111740501, -85.9542548710847, 116m	07/11/2010	SI	0	
88	1285	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70327040059114, -85.95224285055114, 63m	07/11/2010	SI	1*	
88	1854	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	SI	0	
88	1907	León, Jardín Botánico, 12.433414776175365, -86.91549667856071, 53m	05/03/2011	NO	1	Cucurbitaceae
88	2526	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	0	
89	2681	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	1	<i>Guaiacum</i>
90	1201	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	NO	0	
90	1242	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0	
90	1246	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	1	Malvaceae
90	1258	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.702800448541392, -85.95230884339341, 68m	07/11/2010	NO	0	
90	1268	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70327040059114, -85.95224285055114, 63m	07/11/2010	SI	0	
90	1288	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70781008164388, -85.95238173378193, 67m	07/11/2010	SI	1	Malvaceae
90	1822	León, Jardín Botánico, 12.433378649709777, -86.91564390844543, 54m	08/03/2011	SI	1	Boraginales
90	2670	Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	1	<i>Guaiacum</i>
91	1908	León, Jardín Botánico, 12.433414776175365, -86.91549667856071, 53m	05/03/2011	SI	3	Lythraceae, Fabaceae, Cucurbitaceae
91	2578	León, Comunidad Rota, 12.51238, -86.73282, 285m	27/01/2012	SI	0	
92	1105	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	Asteraceae
92	1181	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	SI	2*	
92	1199	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	1	Malvaceae

92	1239	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	1	Malvaceae
92	1244	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0	
92	1247	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	1	Malvoideae
92	1259	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.706486665924345, -85.95396481028051, 111m	07/11/2010	SI	0	
92	2519	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	0	
93	2575	Rivas, Sapóá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1	Fabaceae
94	1093	Rivas, Sapóá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	2	Fabaceae, Rubiaceae
95	1195	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	2	Fabaceae, Rubiaceae
95	2509	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	0	
96	1203	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	1	Convolvulaceae
96	1250	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	1	Rubiaceae
96	1287	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	1	Burseraceae
97	1812	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70464727455702, -85.95291661012887, 97m	07/11/2010	SI	2*	Rubiaceae
98	1143	<i>Blepharida suturalis</i> Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista	11/09/2011	SI	2	Poaceae, Cucurbitaceae
98	1144	<i>Blepharida suturalis</i> Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	8-9/07/2010	SI	1*	Burseraceae
98	1189	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	8-9/11/2009	SI	0	
98	1834	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Burseraceae
98	1837	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	2	Burseraceae, <i>Cordia</i>
98	1838	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	NO	1	Burseraceae
98	1839	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	2	Burseraceae, <i>Cordia</i>
98	1840	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Burseraceae
98	1841	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	2	<i>Bursera simaruba</i> , <i>Cordia</i>
98	1842	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	2	Burseraceae, <i>Cordia</i>
98	1843	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Burseraceae
98	3423	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Burseraceae
98	3424	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Burseraceae
98	3425	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Burseraceae
98	3426	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	2*	Burseraceae
98	3427	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Burseraceae
98	3428	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Burseraceae
98	3429	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Burseraceae
98	3496	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Burseraceae
98	3497	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Burseraceae
98	3498	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	NO	1	Burseraceae
98	3499	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Burseraceae
98	3500	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Burseraceae
98	3501	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Burseraceae
98	3502	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Burseraceae
98	3503	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	NO	1	Burseraceae
98	3504	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	NO	1	Burseraceae
98	3505	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1	Burseraceae
98	3506	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	NO	0	
98	3507	<i>Blepharida suturalis</i> Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	2	Burseraceae,

								Boraginaceas
98	3508	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1		<i>Bursera simaruba</i>
98	3509	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	NO	2		<i>Bursera simaruba</i> , Boraginaceas
98	3510	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	NO	1		Burseraceae
98	3511	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1		Burseraceae
98	3512	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	NO	1		Burseraceae
98	3513	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1		Burseraceae
98	3514	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1		Burseraceae
98	3515	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1		Burseraceae
98	3516	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	NO	1		Burseraceae
98	3517	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1		Boraginaceas
98	3518	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	1		Boraginaceas
98	3519	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	NO	0		
98	3520	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	NO	0		
98	3521	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	NO	0		
98	3522	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	NO	1		Burseraceae
98	3523	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	NO	0		
98	3524	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	NO	0		
98	3525	<i>Blepharida suturalis</i>	Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	NO	1		Burseraceae
99	1136		Granada, Reserva Silvestre Privada Domitilla	01/05/2010	SI	2		Burseraceae, Fabaceae
99	1846		Granada, Reserva Natural Lagunas de Mecatepe y Río Manares, Hacienda Las Plazuelas, 11.75, -85.93333333333334, 50m	01/06/2011	SI	2		Burseraceae, <i>Cordia</i>
100	1100		Rivas, Sapóá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1		Acanthaceas
100	1151		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moroponte, Finca Las Flores, 13.192633519565153, -86.33130818340169, 863m	01/04/2010	SI	2*		
100	1367		Rivas, Sapóá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1		Fabaceae
100	1818		León, Jardín Botánico, 12.433378160793, -86.91408891626287, 52m	13/08/2011	SI	1		<i>Ruellia</i>
100	2532		León, Charcón, Puento Palmero, 12.39081, -86.98938, 35m	20/01/2012	SI	1		<i>Ruellia</i>
100	2570		Rivas, Sapóá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1		Acanthaceae
100	2662		León, Comarca La Fuente, Puento La Fuente, rd Malpasillo-Momotombo, 12.52898, -86.59581, 109m	26/01/2012	SI	1		Acanthaceae
100	2788		León, entre Comarca de La Fuente y Momotombo, 12.51445, -86.60286, 113m	26/01/2012	SI	1		Acanthaceae
101	2657		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moroponte, San José del Prado, 13.22744, -86.30217, 909m	29/01/2012	SI	1		Pluchineas
102	2583		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moroponte, Comunidad La Pita, 13.21921, -86.28530, 1108m	29/01/2012	SI	1		Mimosoideas
103	1425		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moroponte, Isiquí	01/08/2010	SI	1		<i>Milleria quinquiflora</i>
103	1430		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moroponte, Empalme	01/08/2010	SI	1		Convolvulaceas
103	2553		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23527, -85.55388, 69m	07/02/2012	SI	0		
103	2684		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moroponte, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	1*		
104	2674		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moroponte, Comunidad Naranja de Fátima, 13.23898, -86.32987, 882m	30/01/2012	SI	1		<i>Guaiacum</i>
105	1861		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.228919383062967, -85.55643651059397, 77m	11/03/2011	NO	1		Lamiaceas
105	1905		Rivas, Sapóá, Finca Guadalupe, 11.18938281788044, -85.68391854160579, 180m	12/03/2011	SI	3*		
105	2571		Rivas, Sapóá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	0		
106	1173		Rivas, Sapóá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	NO	1		<i>Ulmus minor</i>
106	1198		Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	NO	0		
106	1202		Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	2*		

*166	1123		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Los Charcos	01/07/2010	NO	1	Malvaceae
*167	1162	<i>Heikertingerella</i> sp. 3	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores, 13.192570635226371, -86.33146523331702, 852m	01/04/2010	NO	0	
*168	1101	<i>Heikertingerella</i> sp. 4	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	NO	2	Zingiberales, <i>Ruellia</i>
*169	1146	<i>Heikertingerella</i> sp. 5	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores, 13.189155041938417, -86.32543937640558, 911m	01/03/2010	NO	0	
*170	1190		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Bartolo, 13.198739120605543, -86.32526543531621, 993m	01/06/2010	NO	1	Anacardiaceae
*171	1417		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	NO	1	<i>Physalis</i>
*171	1421		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	NO	1	<i>Physalis</i>

## D. Galerucini

Morfoespecie	Individuo	Especie	Localidad	Fecha	Cox1	psbA-trnH	Inferencia de dieta
107	2799		Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	1	Fabaceae
108	1451		Rivas, San Juan del Sur, Finca Escamequita, 11.221867163457599, -85.80353999089301, 96m	23/11/2009	SI	0	
108	1699		Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70327040059114, -85.95224285055114, 63m	07/11/2010	SI	1	Cucurbitaceae
108	1731		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/11/2010	SI	1	Cucurbitaceae
108	1746		Rivas, San Juan del Sur, Finca Escamequita, 11.221867163457599, -85.80353999089301, 96m	23/11/2009	SI	1*	
108	2036		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.192000071539937, -86.32422268881433, 990m	11/09/2011	SI	0	
108	2046		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.192000071539937, -86.32422268881433, 990m	11/09/2011	SI	0	
108	2729		Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.87659, -86.50341, 125m	22/01/2012	SI	1*	
108	2822		Esteli, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	3*	
109	2042		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.192000071539937, -86.32422268881433, 990m	11/09/2011	SI	1	Cucurbitaceae
109	2779		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad La Pita, 13.21921, -86.28530, 1108m	29/01/2012	SI	1	Rubiaceae
110	2744		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1	Rubiaceae
110	2753		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1*	
110	2756		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	2*	Rubiaceae
110	2817		León, La Paz Centro, rd to Geotérmica, btrv rd and swamp, lagoon after Loma de Chistata, 12.43437, -86.59300, 66m	01/02/2012	SI	3	Fabaceas, Rubiaceas, Cucurbitaceae
111	1439		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.234449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	SI	1	Cucurbitaceae
111	2745		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	2*	Cucurbitaceae
112	1462		Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	1	Sicyocae
112	2037		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.192000071539937, -86.32422268881433, 990m	11/09/2011	SI	0	
112	2781		Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad La Pita, 13.21921, -86.28530, 1108m	29/01/2012	SI	1	Cucurbitaceae
113	1370		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	Cucurbitaceae
113	2742		Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	2*	Cucurbitaceae
113	2772		León, Comunidad Rota, 12.51238, -86.73282, 285m	27/01/2012	SI	0	
113	2789		León, entre Comarca de La Fuente y Momotombo, 12.51445, -86.60286, 113m	26/01/2012	SI	1	Cucurbitaceae
114	1351		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe	10-12/07/2010	SI	0	
114	1356		Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	1	Poaceae
114	1366		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	<i>Delilia biflora</i>
114	1459		Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
114	1536		Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	0	
114	1690		Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.706486665924345, -85.95396481028051, 111m	07/11/2010	SI	0	

114	1705	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.704759923256267, -85.95157665021176, 64m	07/11/2010	SI	1*	
114	2693	León, Cerro Negro, 12.53166, -86.728055	27/01/2012	SI	1	Asteraceae
114	2714	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	1*	
114	2721	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	1*	
114	2738	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.866388888888888, -86.51416666666667	21/01/2012	SI	1*	
114	2778	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad La Pita, 13.21921, -86.28530, 1108m	29/01/2012	SI	3*	
115	1440	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	SI	0	
115	2746	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	2	Rubiaceae, Cucurbitaceae
115	2757	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	2	Fabaceae, Rubiaceae
115	2769	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1	Rubiaceae
116	1368	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	3	<i>Delilia biflora</i> , Bignoniaceae, Fabaceae
116	1453	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
117	2741	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1	<i>Chamissoa</i>
117	2755	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	2	Fabaceae, Rubiaceae
118	2752	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	07/02/2012	SI	0	
119	2811	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	1	Lantaneae
120	2825	Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	1	Asteraceae
121	2750	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	07/02/2012	SI	2	Fabaceae, Rubiaceae
121	2826	Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	0	
122	2737	León, Charcón, Puente Palermo, 12.39081, -86.98938, 35m	20/01/2012	SI	0	
122	2818	León, La Paz Centro, Laguna de Montegálán, 12.43891, -86.57033, 76m	01/02/2012	SI	0	
123	2751	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	07/02/2012	SI	2	Fabaceae, Rubiaceae
124	1352	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe	10-12/07/2010	SI	3	Malvoideac, Fabaceae, Rubiaceae
124	1354	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	0	
124	2088	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18938281788044, -85.68391854160579, 180m	12/03/2011	SI	1	Rubiaceae
124	2765	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	0	
125	1369	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
125	1438	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23449419023298, -85.55391791895813, 66m	21/09/2009	SI	0	
125	1449	Rivas, San Juan del Sur, Finca Escamequita, 11.221867163457599, -85.80353999089301, 96m	23/11/2009	SI	0	
125	1450	Rivas, San Juan del Sur, Finca Escamequita, 11.221867163457599, -85.80353999089301, 96m	23/11/2009	NO	0	
125	1463	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	0	
125	1532	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0	
125	1671	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0	
125	1682	Managua, Montelimar, Reserva Natura	10/10/2010	SI	0	
125	1693	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	07/11/2010	SI	1	Rubiaceae
125	1703	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70464727455702, -85.95291661012887, 97m	07/11/2010	SI	1	Acanthaceae
125	1704	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.704759923256267, -85.95157665021176, 64m	07/11/2010	SI	2	Lamiaceae, Cucurbitaceae
125	2749	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	07/02/2012	SI	2	Fabaceae, Rubiaceae
125	2800	Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	1	Fabaceae

126	1422	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Esperanza	01/08/2010	SI	1	Fabaceae
126	1481	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Don Avelino Rodríguez	01/05/2010	SI	1	<i>Machura tinctoria</i>
126	1518	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Cerro La Campana, Los Cerritos, 13.15, -86.31666666666666	01/07/2010	SI	0	
126	1523	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, La Palmita	01/07/2010	SI	1	<i>Datura</i>
126	1718	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/11/2010	SI	1*	
126	1720	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, El Tunal	01/08/2010	NO	1	Fabaceae
126	1723	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	NO	2*	Fabaceae
126	1727	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Flor Amarilla	01/08/2010	SI	0	
126	1730	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isidrillo	01/08/2010	SI	1	Fabaceae
126	1735	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflores	01/09/2010	SI	2	Boraginaceas, Salicaceas
126	1749	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Vista	01/10/2010	SI	0	
126	2040	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.190078307697604, -86.32925726757742, 988m	11/09/2011	SI	0	
126	2043	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.151100038514688, -86.32654924710731, 978m	09/09/2011	SI	1	Fabaceae
126	2057	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Matapalo	01/12/2010	NO	0	
126	2062	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Matapalo	01/12/2010	SI	0	
126	2066	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Matapalo	01/12/2010	SI	0	
126	2694	León, Cerro Negro, 12.53166, -86.728055	27/01/2012	SI	0	
126	2820	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 5km Estelí on brick rd to Yali, 13.11455, -86.29964, 968m	30/01/2012	SI	1	Fabaceae
127	1740	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Saca de Agua	01/10/2010	SI	1	<i>Lycopersicon</i>
127	2724	Managua, Montelimar, Reserva Natura, refuge (light), 11.86753, -86.51403	22/01/2012	SI	0	
127	2782	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad La Pita, 13.21921, -86.28530, 1108m	29/01/2012	SI	1*	
127	2804	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.23898, -86.32987, 882m	30/01/2012	SI	1	Cleomaceae
128	2784	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad La Pita, 13.21921, -86.28530, 1108m	29/01/2012	SI	1	Cucurbitaceae
129	1522	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, La Palmita	01/07/2010	SI	0	
129	1725	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/08/2010	SI	1*	
129	1748	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, La Palmita	01/07/2010	SI	3*	Mimosoideae
129	2034	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.159694595899516, -86.31462305291316, 1116m	10/09/2011	SI	0	
129	2035	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.192000071539937, -86.32422268881433, 990m	11/09/2011	SI	0	
129	2039	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.192000071539937, -86.32422268881433, 990m	11/09/2011	SI	0	
129	2053	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/12/2010	NO	0	
129	2061	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Matapalo	01/12/2010	SI	0	
129	2790	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Las Palmitas, 13.19167, -86.32423, 931m	29/01/2012	SI	2*	
129	2794	León, Comunidad Rota, 12.52670, -86.73326, 281m	27/01/2012	SI	1	Fabaceae
129	2805	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.23898, -86.32987, 882m	30/01/2012	SI	1	Polygonaceae
130	1521	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/07/2010	SI	0	
130	2823	Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	2	Fabaceas, Rubiaceas
131	1448	Rivas, San Juan del Sur, Finca Escamequita, 11.221867163457599, -85.80353999089301, 96m	23/11/2009	SI	1	Fabaceae
131	1460	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	Fabaceae
131	1519	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Cerro La Campana, Los Cerritos, 13.15, -86.31666666666666	01/07/2010	SI	1*	
131	1528	Managua, Montelimar, Reserva Natura	10/10/2010	SI	0	
131	1529	Managua, Montelimar, Reserva Natura	10/10/2010	SI	1	Fabaceae
131	1533	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	1	Malvaceae
131	1534	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0	

131	1535	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0
131	1672	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0
131	1674	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	2*
131	1678	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0
131	1681	Managua, Montelimar, Reserva Natura	10/10/2010	SI	0
131	1721	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/08/2010	NO	0
131	1728	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	SI	0
131	1729	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	NO	0
131	1737	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflor	01/09/2010	SI	0
131	2032	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.151100038514688, -86.32654924710731, 978m	09/09/2011	SI	0
131	2033	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.151100038514688, -86.32654924710731, 978m	09/09/2011	SI	0
131	2045	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.151100038514688, -86.32654924710731, 978m	09/09/2011	SI	0
131	2051	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.190078307697604, -86.32925726757742, 988m	11/09/2011	SI	0
131	2082	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	SI	0
131	2715	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	1
131	2716	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	2*
131	2717	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	2*
131	2718	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	2*
131	2720	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	1
131	2725	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	1
131	2775	León, Comunidad Rota, 12.51238, -86.73282, 285m	27/01/2012	SI	2*
131	2801	Estelí, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, Salto de la Estanzuela, 13.02503, -86.35084, 1036m	31/01/2012	SI	1*
131	2821	Masaya, Masatepe, Cruz Negra, 11.916666666666666, -86.16666666666667, 320m	15/04/2012	SI	1
132	1355	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	0
132	1456	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	2
132	1670	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	1
132	1673	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	0
132	1679	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	1
132	1687	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitilla, 11.707428111740501, -85.9542548710847, 116m	07/11/2010	SI	0
132	2038	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.192000071539937, -86.32422268881433, 990m	11/09/2011	SI	0
132	2049	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.188456405222869, -86.32452771889574, 971m	11/09/2011	SI	0
132	2083	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	SI	0
132	2084	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	SI	0
132	2695	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	2*
132	2696	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	0
132	2713	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	2*
132	2722	Managua, Montelimar, Reserva Natura, refuge (light), 11.86753, -86.51403	22/01/2012	SI	1*
132	2726	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	1
132	2739	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.866666666666667, -86.50055555555555	22/01/2012	SI	0
132	2740	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	2
132	2766	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	0
132	2773	León, Comunidad Rota, 12.51238, -86.73282, 285m	27/01/2012	SI	0
132	2798	Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	SI	0

133	2780	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad La Pita, 13.21921, -86.28530, 1108m	29/01/2012	SI	1	Cucurbitaceae
134	2767	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1	Rubiaceae
134	2783	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad La Pita, 13.21921, -86.28530, 1108m	29/01/2012	SI	1*	
134	2824	Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	0	
135	1357	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	SI	1	Fabaceae
136	2089	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18938281788044, -85.68391854160579, 180m	12/03/2011	SI	2	Fabaceae, Rubiaceae
137	2768	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18847, -85.67619, 157m	09/02/2012	SI	1	Rubiaceae
138	1530	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	2	Fabaceae, Rubiaceae
138	2719	Managua, Montelimar, Reserva Natura	02/10/2011	SI	1	Fabaceae
139	1371	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	Rubiaceae
139	1457	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	0	
140	2730	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.87727, -86.49295, 156m	22/01/2012	SI	1	Fabaceae
141	1458	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	NO	0	
141	1747	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.179983794412108, -85.68079257729653, 260m	15/09/2009	SI	1	Lamiaceae
142	2736	León, Charcón, Puente Palermo, 12.39081, -86.98938, 35m	20/01/2012	SI	2*	Fabaceae
142	2743	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	2*	Fabaceae
142	2754	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1	Fabaceae
142	2759	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1	Fabaceae
142	2764	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23527, -85.55388, 69m	07/02/2012	SI	1	Fabaceae
142	2786	Rivas, San Juan del Sur, Finca Escamequita, 11.19598, -85.81191, 100m	10/02/2012	SI	2*	Fabaceae
142	2792	León, Comarca La Fuente, Puente La Fuente, rd Malpasillo-Momotombo, 12.52898, -86.59581, 109m	26/01/2012	SI	1	Fabaceae
142	2827	Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	1	Fabaceae
143	2838	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	SI	2	Rubiaceae, Fabaceae
144	1484	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Los Charcos	01/07/2010	SI	1	<i>Lantana</i>
144	1515	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Los Charcos	01/07/2010	SI	1	Rubiaceae
144	1719	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/11/2010	SI	0	
144	2050	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 13.190078307697604, -86.32925726757742, 988m	11/09/2011	SI	0	
144	2809	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	1	Lantaneae
145	2763	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23527, -85.55388, 69m	07/02/2012	SI	1	<i>Vactellia</i>
146	1361	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista	8-9/07/2010	SI	2	Fabaceae, Rubiaceae
146	1362	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores, 13.189482761378018, -86.32627823034785, 905m	01/03/2010	SI	1	Zingiberales
146	2086	Managua, Montelimar, Reserva Natura	10/03/2011	SI	1	Fabaceae
147	1736	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflo	01/09/2010	NO	0	
147	2058	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Matapalo	01/12/2010	NO	0	
147	2059	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Matapalo	01/12/2010	NO	0	
147	2065	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Matapalo	01/12/2010	NO	0	
147	2810	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.24392, -86.36308, 970m	30/01/2012	SI	2*	<i>Mimosa</i>
147	2839	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Matapalo	01/12/2010	SI	1	<i>Mimosa</i>
148	1344	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	01/05/2010	SI	0	
148	1461	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila, 11.70845659447202, -85.95361792833926, 55m	01/10/2009	SI	0	
148	1691	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitila	07/11/2010	SI	0	
148	2080	Managua, Montelimar, Reserva Natura	01/02/2011	SI	0	
148	2723	Managua, Montelimar, Reserva Natura, refuge (light), 11.86753, -86.51403	22/01/2012	SI	1*	

148	2733	Managua, Montelimar, Reserva Natura, refuge (light), 11.86753, -86.51403	22/01/2012	SI	2*	
148	2762	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23527, -85.55388, 69m	07/02/2012	SI	1	<i>Cordia</i>
148	2770	León, Comunidad Rota, 12.51238, -86.73282, 285m	27/01/2012	SI	0	
148	2771	León, Comunidad Rota, 12.51238, -86.73282, 285m	27/01/2012	SI	1*	
148	2816	León, La Paz Centro, rd to Geotérmica, btw rd and swamp, lagoon after Loma de Chistata, 12.43437, -86.59300, 66m	01/02/2012	SI	0	
149	1692	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitil	07/11/2010	SI	2*	
149	2727	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	1	Fabaceae
150	1485	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotentente	01/07/2010	SI	0	
150	1520	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotentente, Muñeco	01/07/2010	SI	0	
150	1524	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotentente, La Palmita	01/07/2010	SI	1	<i>Datura</i>
150	1531	Managua, Montelimar, Reserva Natura	09/10/2010	SI	0	
150	1537	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	0	
150	1676	Managua, Montelimar, Reserva Natura	08/10/2010	SI	0	
150	1726	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotentente, Flor Amarilla	01/08/2010	SI	0	
150	2044	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotentente, 13.151100038514688, -86.32654924710731, 978m	09/09/2011	SI	0	
150	2048	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotentente, 13.188456405222869, -86.32452771889574, 971m	11/09/2011	SI	0	
150	2052	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotentente, 13.190078307697604, -86.32925726757742, 988m	11/09/2011	SI	0	
150	2054	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotentente, Matapalo	01/12/2010	SI	0	
150	2056	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotentente, Las Palmas	01/12/2010	NO	0	
150	2060	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotentente, Matapalo	01/12/2010	NO	0	
150	2063	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotentente, Matapalo	01/12/2010	NO	0	
150	2067	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotentente, Matapalo	01/12/2010	SI	0	
150	2785	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotentente, Comunidad La Pita, 13.21921, -86.28530, 1108m	29/01/2012	SI	0	
150	2807	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotentente, Comunidad Naranja de Fátima, 13.23898, -86.32987, 882m	30/01/2012	SI	1	
151	1353	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe	10/12/07/2010	SI	2	Salicaceae
152	2068	León, Jardín Botánico, 12.433378160793, -86.91408891626287, 52m	07/08/2011	SI	2	Rubiaceae, <i>Guaiacum</i>
153	1689	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitil	07/11/2010	SI	1	Fabaceae, Rubiaceae
153	2731	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.87727, -86.49295, 156m	22/01/2012	SI	1	Rubiaceae
154	1688	Granada, Reserva Silvestre Privada Domitil	07/11/2010	SI	0	Amaranthaceae
154	2748	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1	<i>Chamissoa</i>
154	2758	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	06/02/2012	SI	1	Fabaceae
154	2812	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	2	Malvoideac, Rubiaceae
154	2814	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	<i>Guaiacum</i>
155	2728	Managua, Montelimar, Reserva Natura, 11.86288, -86.49775, 67m	21/01/2012	SI	2*	
155	2735	Managua, Montelimar, Reserva Natura, refuge (light), 11.86753, -86.51403	22/01/2012	SI	0	
155	2761	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23527, -85.55388, 69m	07/02/2012	SI	0	
156	2069	León, Jardín Botánico, 12.433260997613685, -86.91534951009972, 51m	04/03/2011	SI	0	
156	2070	León, Jardín Botánico, 12.433378160793, -86.91408891626287, 52m	07/08/2011	NO	0	
156	2090	León, Jardín Botánico, 12.433324198391453, -86.91502744987473, 47m	02/03/2011	NO	0	
156	2091	León, Jardín Botánico, 12.433468856091176, -86.91492619032256, 46m	08/08/2011	SI	3*	
156	2815	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	SI	1	Boraginales
157	1482	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotentente, Finca Don Avelino Rodríguez	01/05/2010	SI	1	Asteraceae
157	2041	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotentente, 13.1508376312092, -86.3299361274264, 931m	09/09/2011	SI	2*	

158	1473	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Bartolo, 13.198739120605543, -86.32526543531621, 993m	01/06/2010	SI	1	Rutaceae
158	1475	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Bartolo, 13.198739120605543, -86.32526543531621, 993m	01/06/2010	SI	2	Rubiaceae, <i>Guaiacum</i>
159	1472	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Bartolo, 13.198739120605543, -86.32526543531621, 993m	01/06/2010	SI	2	Rutaceae, Rubiaceae
159	1477	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Bartolo, 13.198739120605543, -86.32526543531621, 993m	01/06/2010	SI	0	
160	2828	Estelí, Reserva Natural Tisey - La Estanzuela	16-18/03/2012	SI	2	Fabaceae, Rubiaceae
161	2747	Rivas, Cárdenas, Finca Isla Vista, 11.23345, -85.55123, 56m	08/02/2012	SI	1	Rubiaceae
162	1474	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Bartolo, 13.198739120605543, -86.32526543531621, 993m	01/06/2010	SI	1	Boraginaceas
162	1476	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Bartolo, 13.198739120605543, -86.32526543531621, 993m	01/06/2010	SI	0	
162	1479	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Don Avelino Rodríguez	01/05/2010	SI	0	
162	1514	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Los Chicos	01/07/2010	SI	1	Boraginaceas
162	1517	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Cerro La Campana, Los Cerritos, 13.15, -86.316666666666666	01/07/2010	SI	1	Boraginaceas
162	1717	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/11/2010	SI	1	Boraginaceas
162	1733	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente	01/11/2010	SI	1	Boraginaceas
162	2081	Managua, Montelímar, Reserva Natura	01/02/2011	NO	0	
162	2732	Managua, Montelímar, Reserva Natura, 11.86978, -86.50645, 91m	21/01/2012	SI	1	Boraginaceas
162	2774	León, Comunidad Rota, 12.51238, -86.73282, 285m	27/01/2012	SI	1	Boraginaceas
162	2787	León, entre Comarca de La Fuente y Momotombo, 12.51445, -86.60286, 113m	26/01/2012	NO	0	
162	2793	León, Comarca La Fuente, Puent La Fuente, rd Malpasillo-Momotombo, 12.52898, -86.59581, 109m	26/01/2012	NO	0	
162	2795	León, Comunidad Rota, 12.52670, -86.73326, 281m	27/01/2012	SI	1	<i>Cordia</i>
162	2802	Estelí, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, Salto de la Estanzuela, 13.02503, -86.35084, 1036m	31/01/2012	SI	1	Boraginaceas
162	2819	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, 5km Estelí on brick rd to Yali, 13.11455, -86.29964, 968m	30/01/2012	SI	1	Boraginaceas
163	1480	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Don Avelino Rodríguez	01/05/2010	SI	1	Rubiaceae
164	1363	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores, 13.19263351956153, -86.33130818340169, 863m	01/04/2010	NO	0	
164	1364	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Las Flores	01/04/2010	SI	1	Rhamnaceae
164	1478	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Don Avelino Rodríguez	01/05/2010	SI	0	
164	1483	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Finca Don Avelino Rodríguez	01/05/2010	SI	1	Rhamnaceae
165	2087	Rivas, Sapoá, Finca Guadalupe, 11.18441909056598, -85.6575038815039 163m	12/03/2011	SI	2	Urticaceae, Rubiaceae
*172	1360	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena	14/07/2010	NO	0	
*173	1516	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Cerro La Campana, Los Cerritos, 13.15, -86.316666666666666	01/07/2010	NO	0	
*174	1722	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Isiqui	01/08/2010	NO	0	
*175	1724	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Buena Esperanza	01/08/2010	NO	1	Fabaceae
*176	1738	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflo	01/09/2010	NO	1	Fabaceae
*177	2055	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Matapalo	01/12/2010	NO	0	
*178	2064	Estelí, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Matapalo	01/12/2010	NO	0	
*179	2085	Managua, Montelímar, Reserva Natura	27/02/2011	NO	0	
*180	2692	León, Cerro Negro, 12.53166, -86.728055	27/01/2012	NO	2	<i>Guaiacum</i> , <i>Guaiacum</i>
*181	1739	Esteli, Paisaje Natural Protegido Miraflores-Moropotente, Miraflo	01/09/2010	NO	2	Boraginaceas, Cucurbitaceae
*181	2808	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	NO	0	
*181	2813	Estelí, 4km Estelí, rd to Tisey, Reserva Natural Tisey-Estanzuela, 13.03520, -86.34984, 1015m	31/01/2012	NO	2	Rubiaceae, <i>Guaiacum</i>
*182	2760	Rivas, Cárdenas, Finca Sierra Serena, 11.23527, -85.55388, 69m	07/02/2012	NO	0	
*182	2797	Rivas, San Juan del Sur, Comarca El Bastón, Finca Santa Ana, 11.29218, -85.87467, 149m	13/02/2012	NO	0	

**Apéndice III.** Árboles filogenéticos del gen mitocondrial *cox1* de Cassidinae y Galerucinae s.l. del bosque seco de Nicaragua, obtenidos a partir de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana. Ramas pertenecientes a Cassidinos y Alticinos se muestran en negro, mientras que las de Hispinos y Galerucinos se resaltan en rojo.

*Para la subfamilia Cassidinae*

**Figura S1:** Mejor árbol filogenético de haplotipos de *cox1* de la subfamilia Cassidinae según Máxima Verosimilitud, generado con RAxML, modelo GTR GAMMA y enraizado con *Chelobasis perplexa*, y aplicando la estrategia de partición de codones. El soporte de los nodos se obtuvo a partir de 1000 *bootstraps* y se detallan todos aquellos nodos con soporte >70%.

**Figura S2:** Árbol ultramétrico de haplotipos de *cox1* de la subfamilia Cassidinae generado en BEAST, usando un reloj relajado exponencial y árbol coalescente inicial, asumiendo datos sin particionar. El soporte de los nodos corresponden a probabilidades posteriores >70%.

**Figura S3:** Árbol ultramétrico de haplotipos de *cox1* de la subfamilia Cassidinae generado en BEAST, usando un reloj relajado exponencial y árbol coalescente inicial, aplicando la estrategia de partición por codones. El soporte de los nodos corresponden a probabilidades posteriores >70%.

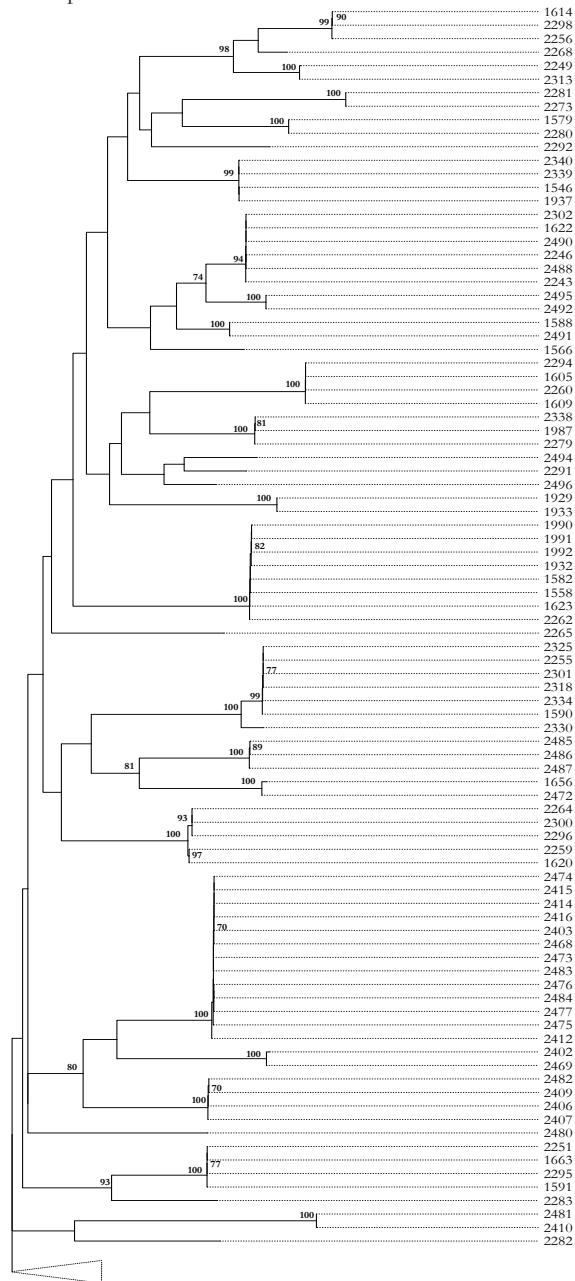
*Para la subfamilia Galerucinae s.l.*

**Figura S4:** Mejor árbol filogenético de haplotipos de *cox1* de la subfamilia Galerucinae s.l. según Máxima Verosimilitud, generado con RAxML, modelo GTR GAMMA y enraizado con *Calligrapha multipunctata bigsbyana*, y aplicando la estrategia de partición de codones. El soporte de los nodos se obtuvo a partir de 1000 *bootstraps* y se detallan todos aquellos con soporte >70%.

**Figura S5:** Árbol ultramétrico de haplotipos de *cox1* de la subfamilia Galerucinae s.l. generado en BEAST, usando un reloj relajado exponencial y árbol coalescente inicial, asumiendo datos sin particionar. El soporte de los nodos corresponden a probabilidades posteriores >70%.

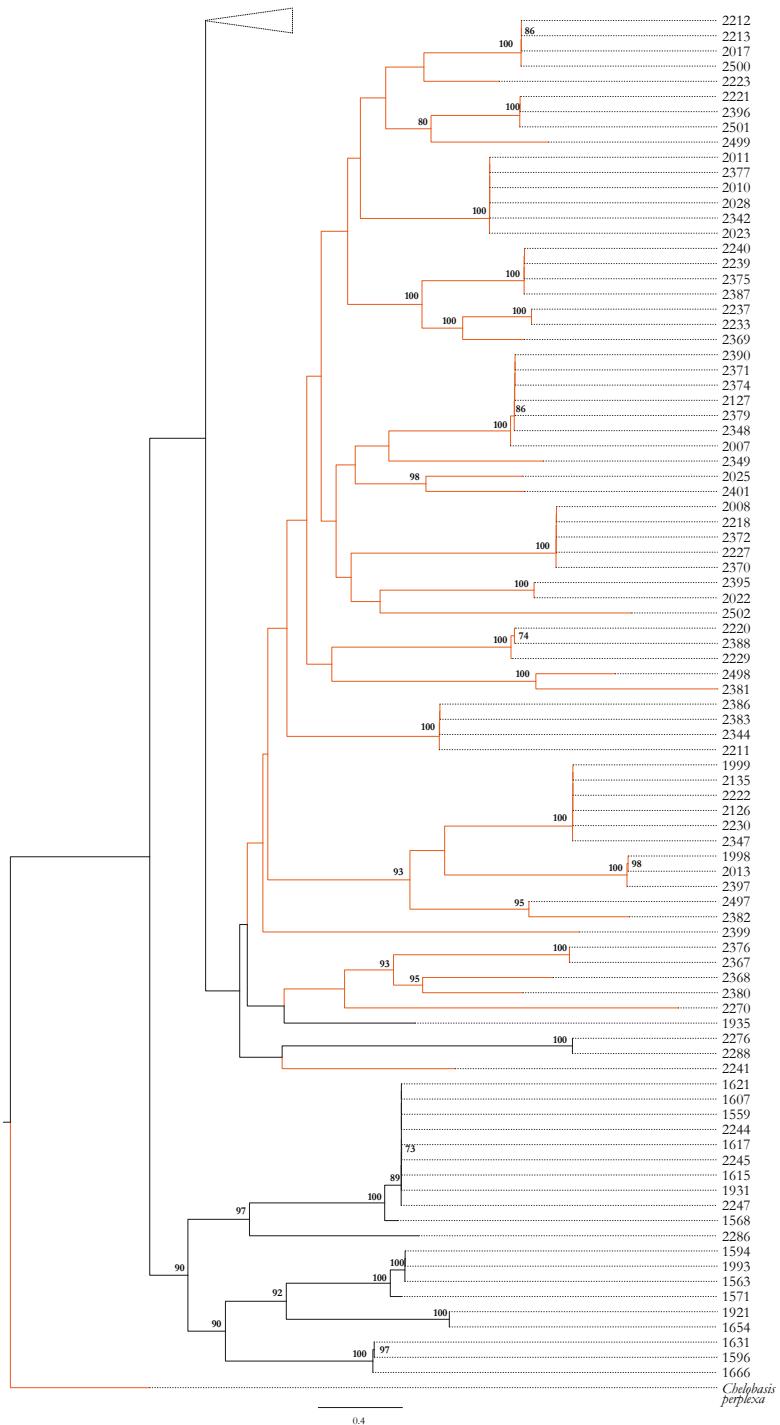
**Figura S6:** Árbol ultramétrico de haplotipos de *cox1* de la subfamilia Galerucinae s.l. generado en BEAST, usando un reloj relajado exponencial y árbol coalescente inicial, aplicando la estrategia de partición por codones. El soporte de los nodos corresponden a probabilidades posteriores >70%.

**Figura S1:** Cassidinae | datos particionados

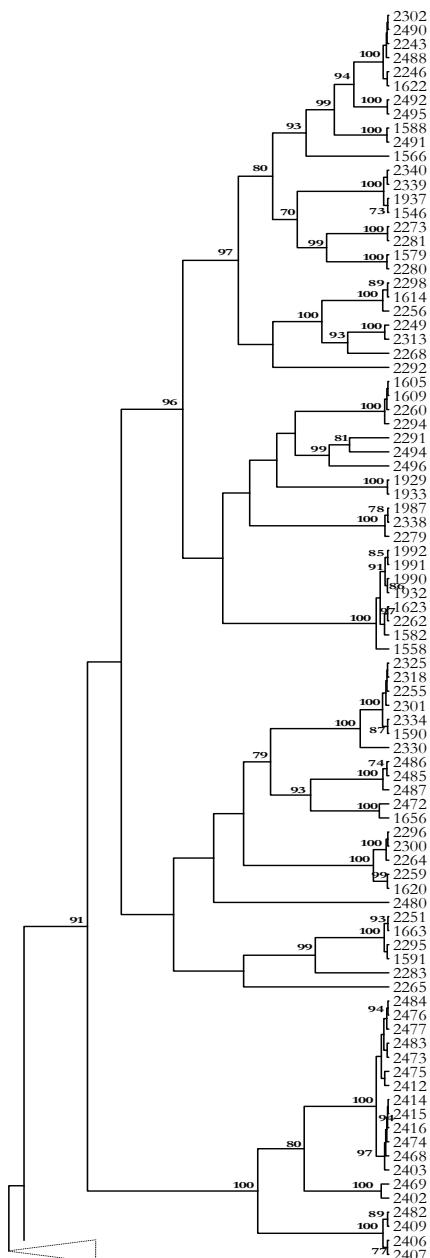


**Figura S1:** Mejor árbol filogenético de haplotipos de *cox1* de la subfamilia Cassidinae según Máxima Verosimilitud, generado con RAxML, modelo GTR GAMMA y enraizado con *Chelobasis perplexa*, y aplicando la estrategia de partición de codones. El soporte de los nodos se obtuvo a partir de 1000 bootstraps y se detallan todos aquellos nodos con soporte >70%.

Continuación Figura S1: Cassidinae | datos particionados

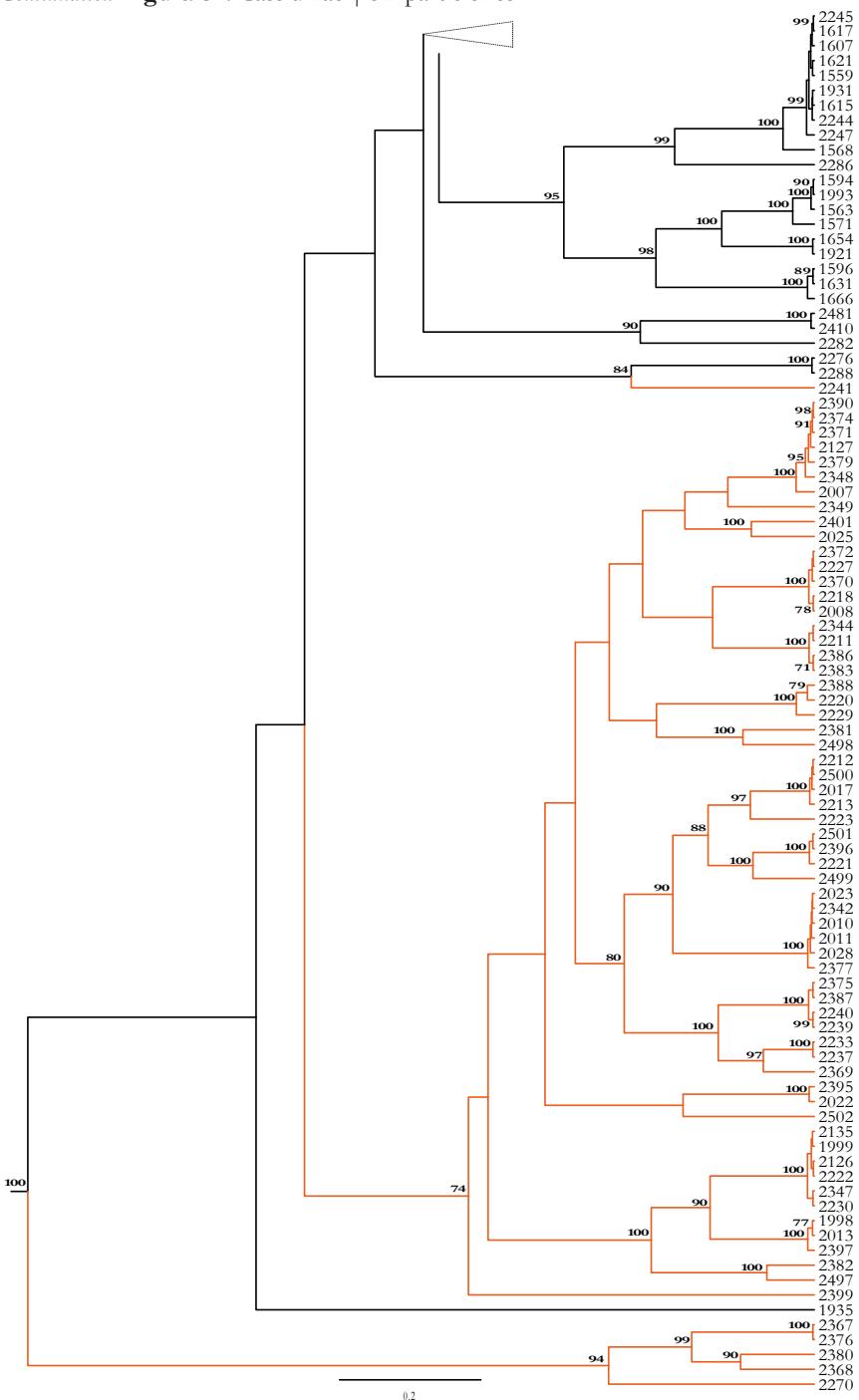


**Figura S2:** Cassidinae | datos sin particiones

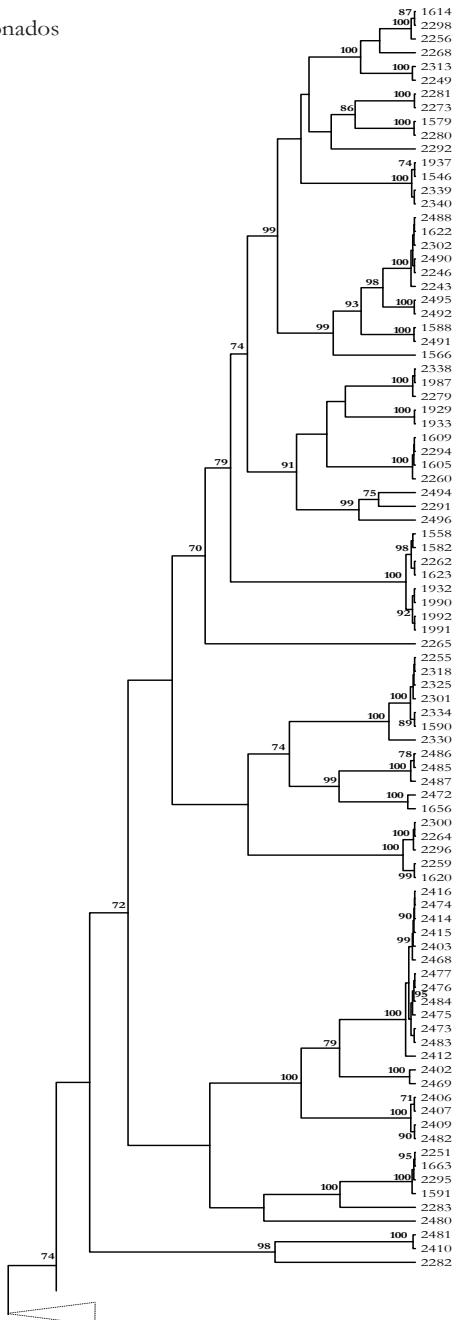


**Figura S2:** Árbol ultramétrico de haplotipos de *cox1* de la subfamilia Cassidinae generado en BEAST, usando un reloj relajado exponencial y árbol coalescente inicial, asumiendo datos sin particionar. El soporte de los nodos corresponden a probabilidades posteriores >70%.

Continuación Figura S2: Cassidinae | sin particiones

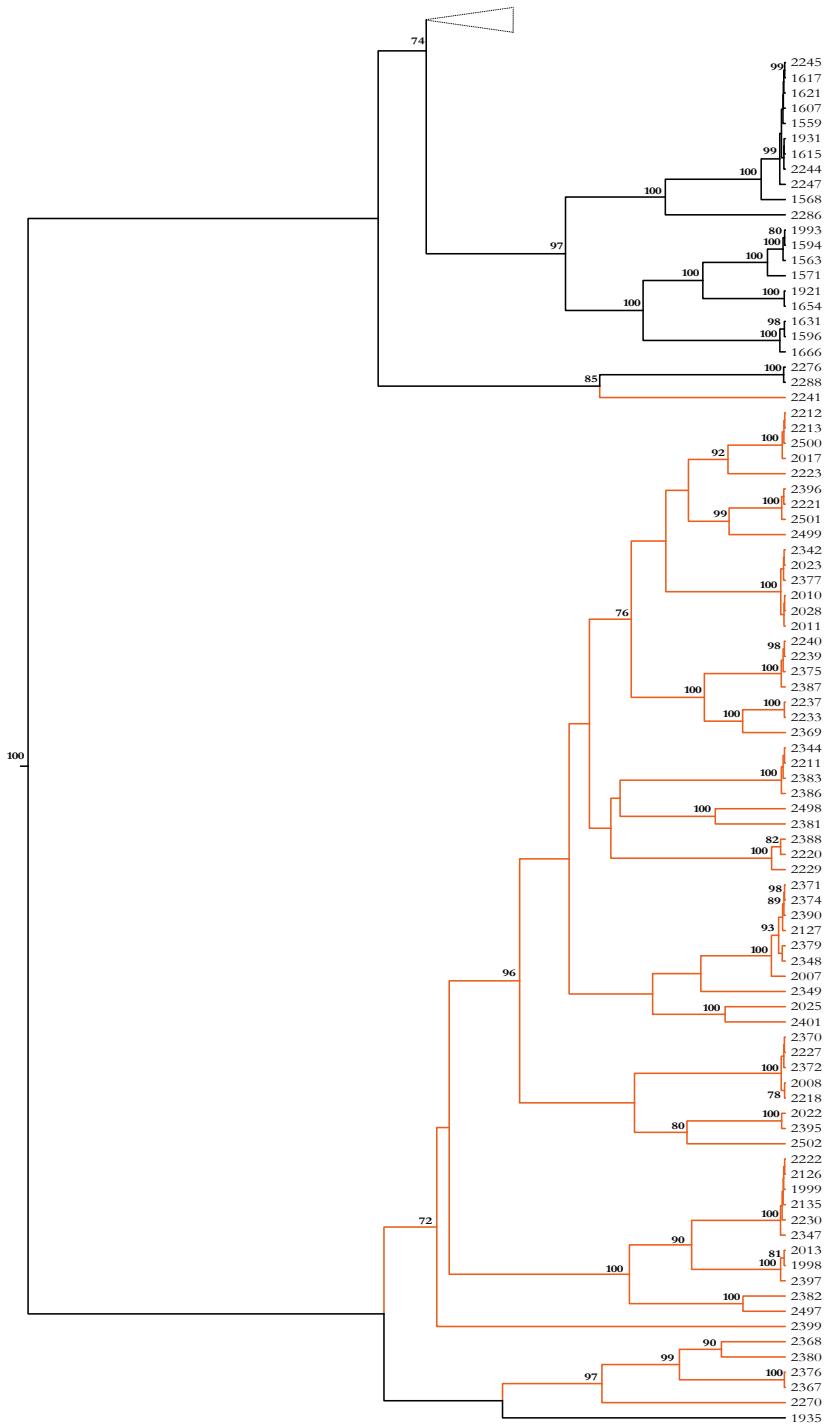


**Figura S3:** Cassidinae | datos particionados



**Figura S3:** Árbol ultramétrico de haplotipos de *cox1* de la subfamilia Cassidinae generado en BEAST, usando un reloj relajado exponencial y árbol coalescente inicial, aplicando la estrategia de partición por codones. El soporte de los nodos corresponden a probabilidades posteriores >70%.

**Continuación Figura S3:** Cassidinae | datos particionados

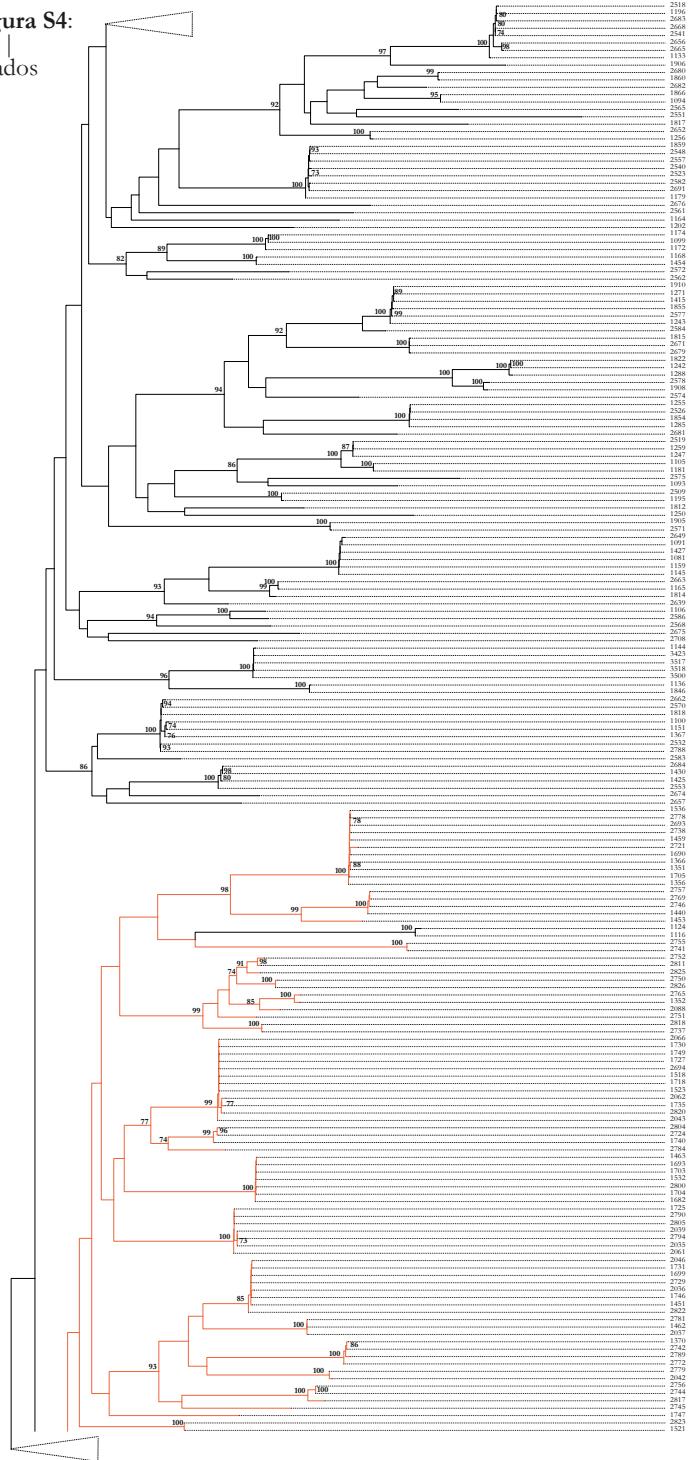


**Figura S4:** Galerucinae s.l. | datos particionados

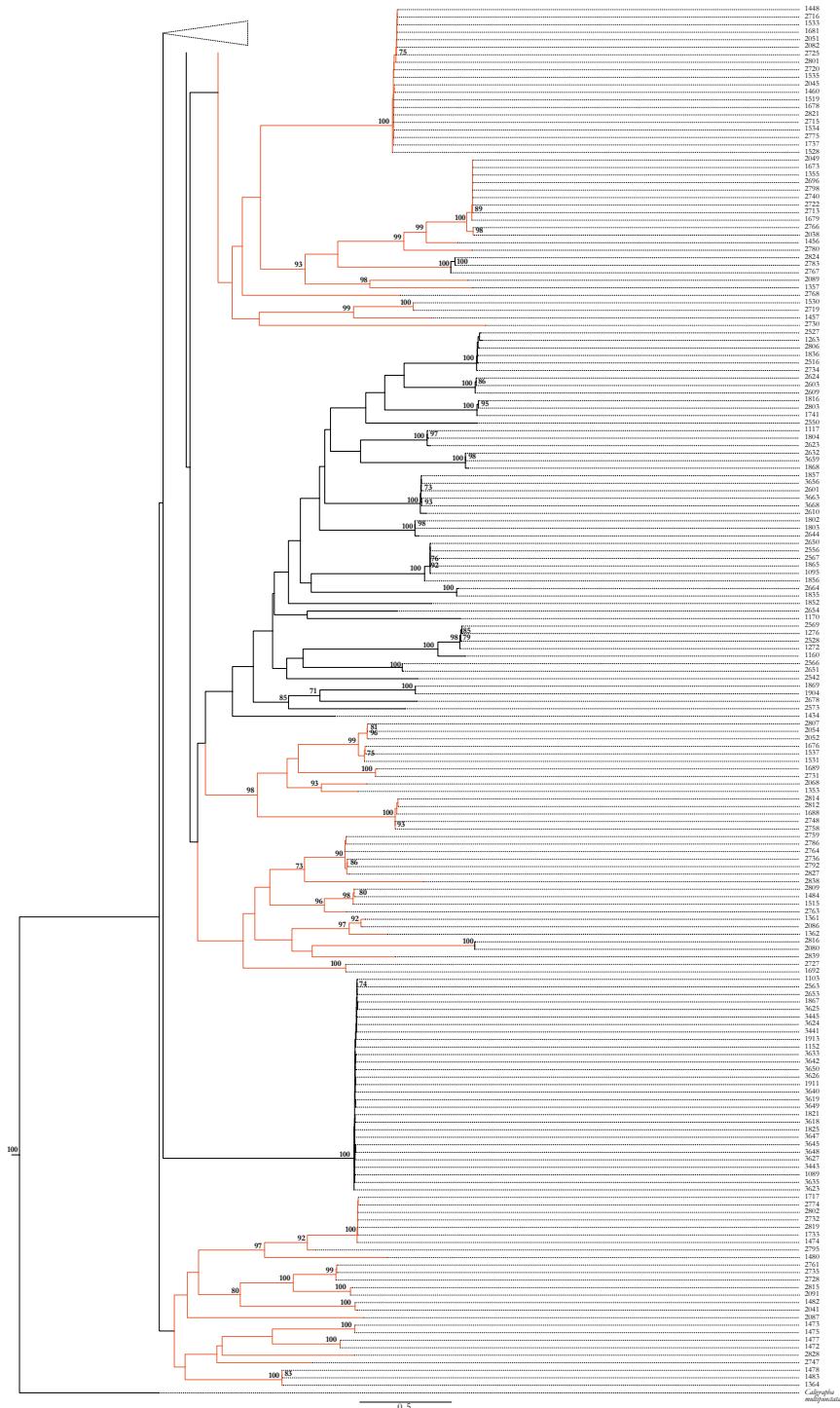


**Figura S4:** Mejor árbol filogenético de haplotipos de *cox1* de la subfamilia Galerucinae s.l. según Máxima Verosimilitud, generado con RAxML, modelo GTR GAMMA y enraizado con *Calligrapha multipunctata bigsbyana*, y aplicando la estrategia de partición de codones. El soporte de los nodos se obtuvo a partir de 1000 *bootstrap*s y se detallan todos aquellos con soporte >70%.

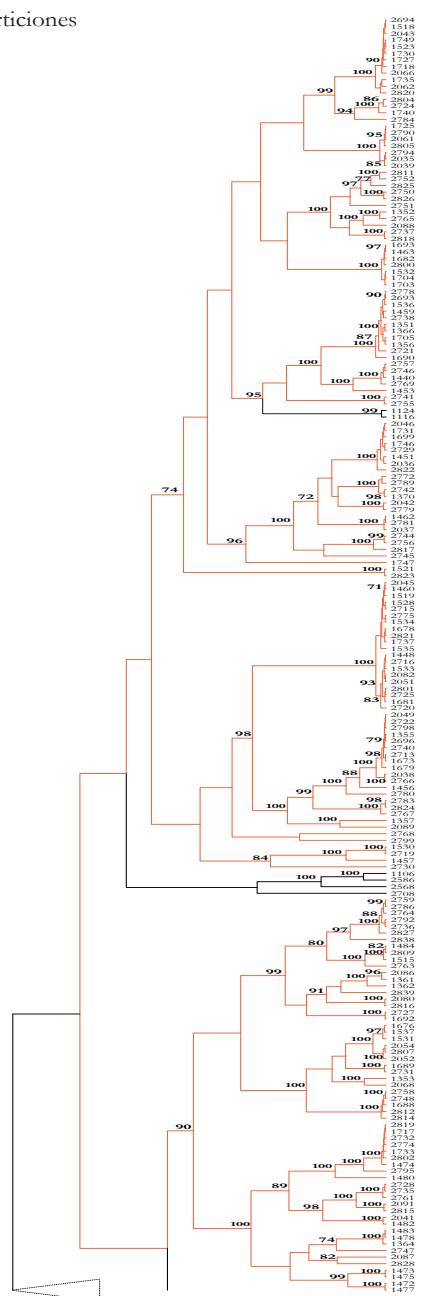
*Continuación Figura S4:*  
Galerucinae s.l. |  
datos particionados



**Continuación Figura S4:** Galerucinae s.l. | datos particionados

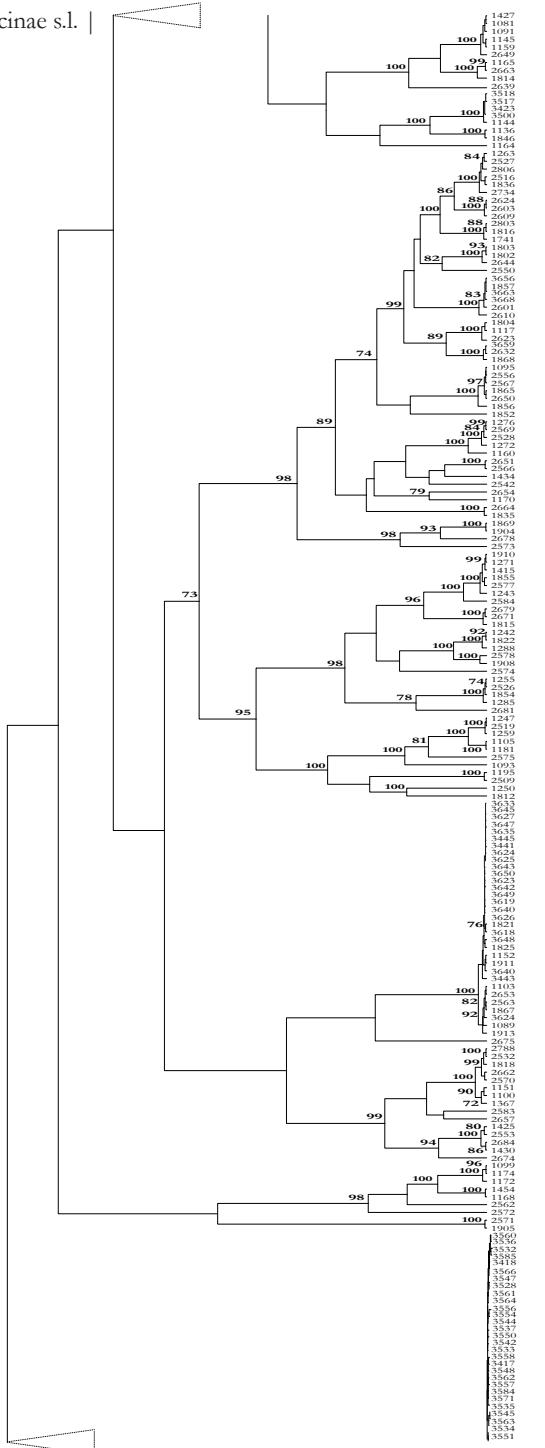


**Figura S5:** Galerucinae s.l. | datos sin particiones

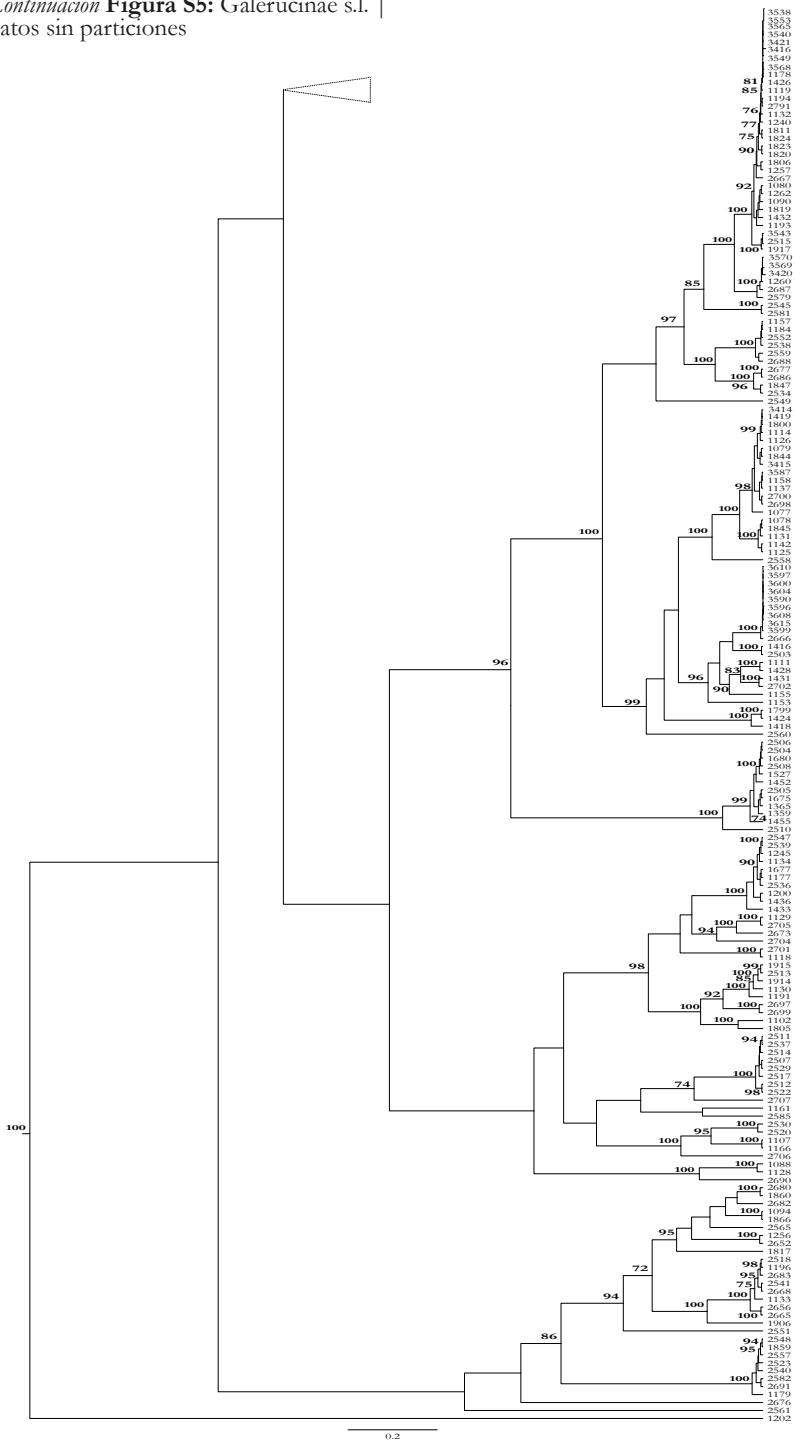


**Figura S5:** Árbol ultramétrico de haplotipos de *cox1* de la subfamilia Galerucinae s.l. generado en BEAST, usando un reloj relajado exponencial y árbol coalescente inicial, asumiendo datos sin particionar. El soporte de los nodos corresponden a probabilidades posteriores >70%.

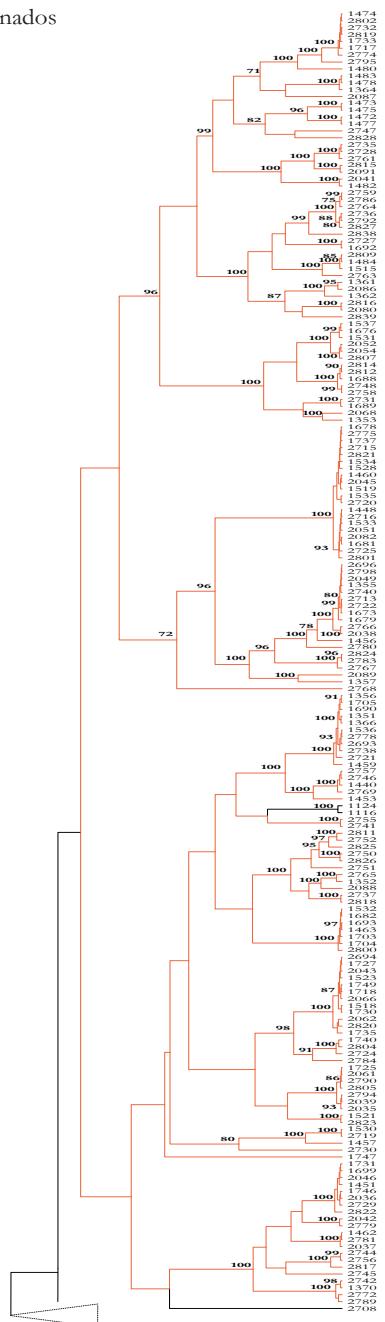
*Continuación Figura S5:* Galerucinae s.l. |  
datos sin particiones



**Continuación Figura S5:** Galerucinae s.l. |  
datos sin particiones

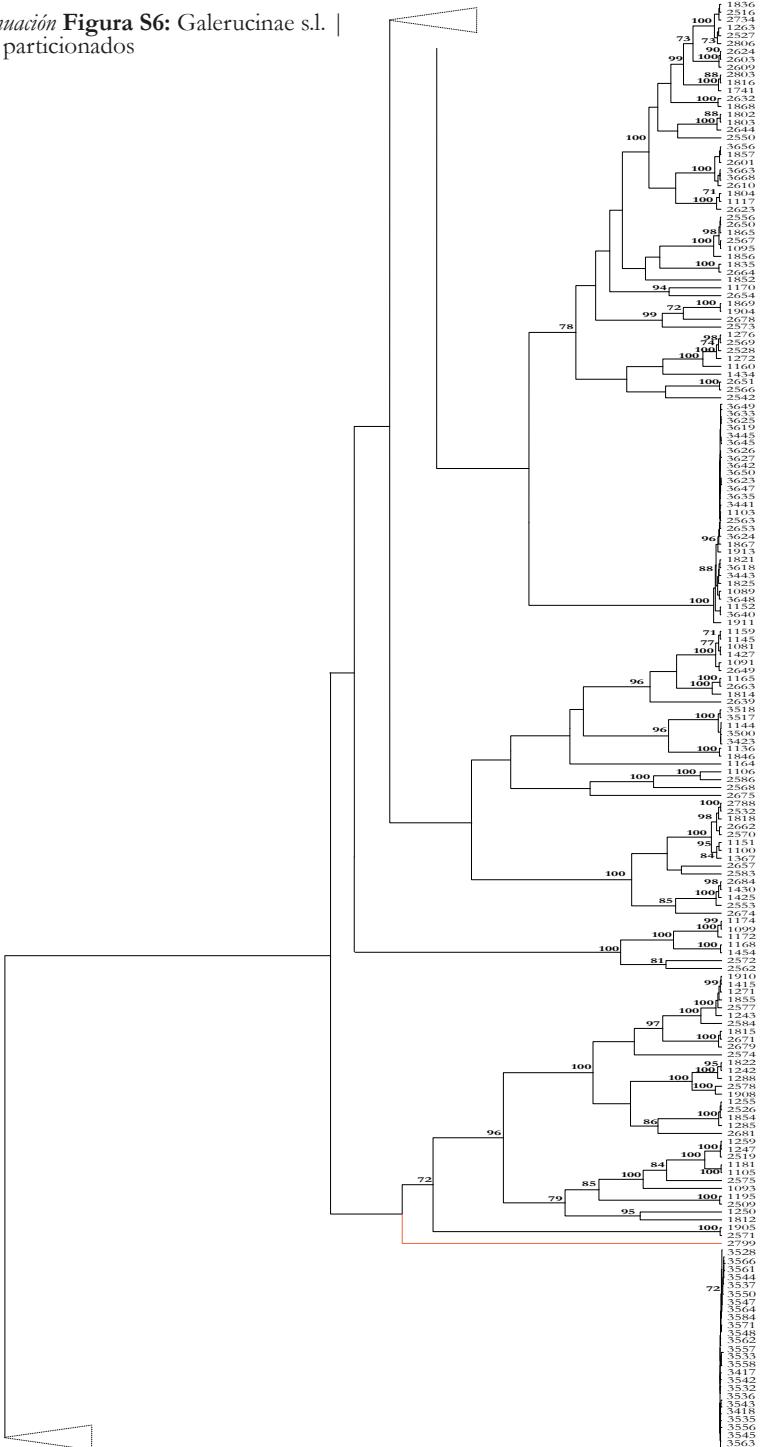


**Figura S6:** Galerucinae s.l. | datos particionados

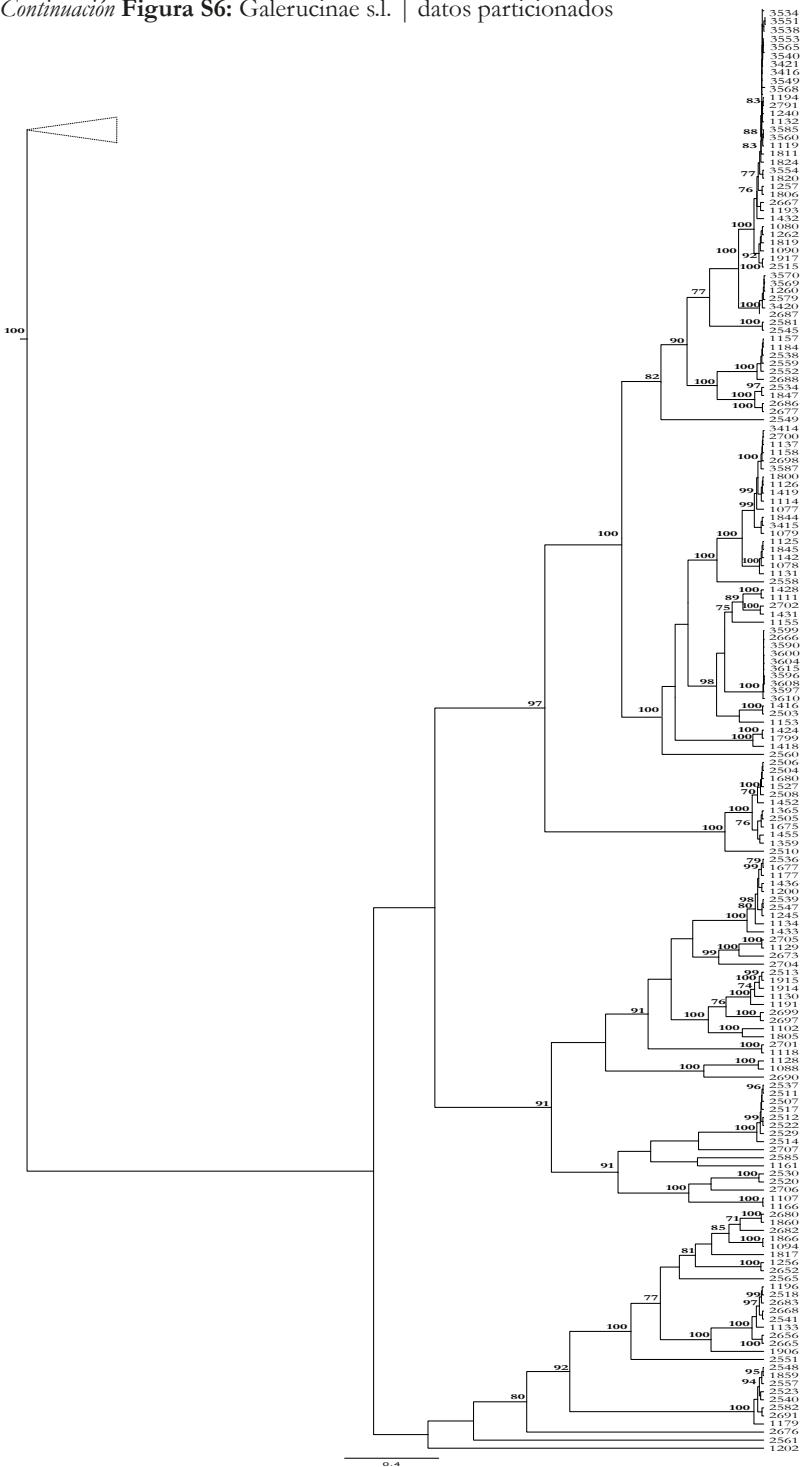


**Figura S6:** Árbol ultramétrico de haplotipos de *cox1* de la subfamilia Galerucinae s.l. generado en BEAST, usando un reloj relajado exponencial y árbol coalescente inicial, aplicando la estrategia de partición por codones. El soporte de los nodos corresponden a probabilidades posteriores >70%.

**Continuación Figura S6:** Galerucinae s.l. |  
datos particionados



**Continuación Figura S6:** Galerucinae s.l. | datos particionados



**Apéndice IV.** Resultados de inferencia taxonómica para un total de 1.133 secuencias de *psbA-trnH*, obtenidas a partir de la extracción de ADN genómico de Chrysomelidae del bosque seco tropical de Nicaragua, aplicando el método de identificación automática BAGpipe. Tipo de amplificación: d=directa, b=secuenciación de bandas múltiples. Las celdas en gris corresponden a secuencias que fueron descartadas por su dudosa procedencia. Ver texto principal en la Sección Resultados, apartado 4.5.3. Mspp. = morfoespecie; Esp = especie; CL = control de laboratorio; TA = tipo de amplificación.

### *Subfamilia: Cassidinae*

#### A. Cassidini

Mspp.	Esp. morfomol	Taxon	Voucher	CL	TA	Mejor coincidencia (distancia)	Distancia 1%	Distancia 4%	Criterio liberal	Criterio estricto
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-1554	No	d	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0.00350) <i>Buddleja americana</i> ,	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-1562A	No	b	Scrophulariaceae sp NPL0007 (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-1562B	No	b	<i>Amaranthus deflexus</i> (0)	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	Amaranthaceae
1	CAS238	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-1566A	No	b	<i>Inga edulis</i> , <i>I. sapindoides</i> (0.00259)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
1	CAS238	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-1566B	No	b	Fabaceae sp NPL0547 (0.00378)	Fabaceae sp NPL0547	NA	Fabaceae sp NPL0547	Fabaceae
1	CAS238	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-1566C	No	b	<i>Amaranthus hybridus</i> , <i>A. retroflexus</i> , <i>A. tricolor</i> (0.00735)	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	Amaranthaceae
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-1616	No	d	<i>Ipomoea aristolochiifolia</i> (0.02083)	NA	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-1622	No	d	<i>Ipomoea clavata</i> (0.00323)	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-1651	No	d	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae

1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-1662A	No	b	<i>Samanea saman</i> , Fabaceae sp NPL0462 (0.00502) Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-1662B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
1	CAS271	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-1664A	No	b	<i>Calopogonium mucunoides</i> (0) Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	<i>Calopogonium mucunoides</i>	<i>Calopogonium mucunoides</i>	<i>Calopogonium mucunoides</i>	Fabaceae
1	CAS271	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-1664B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-2243	No	d	<i>Simsia ovata</i> , <i>S. steyermarkii</i> (0.00284)	Asteraceae	Asteraceae	Asteraceae	Asteraceae
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-2248	No	d	<i>Merremia aegyptia</i> (0)	<i>Merremia</i>	<i>Merremia</i>	<i>Merremia aegyptia</i>	<i>Merremia</i>
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-2250A	No	b	<i>Sida spinosa</i> (0.00446) <i>Euphorbia hyssopifolia</i> ,	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-2250B	No	b	Euphorbiaceae sp NPL0135 (0)	Euphorbiaceae	Euphorbiaceae	Euphorbiaceae	Euphorbiaceae
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-2285A	No	b	<i>Acacia cylindrophora</i> , <i>A. woodmaniorum</i> , <i>A. anthochara</i> , <i>A. gelasina</i> , <i>A. amasilla</i> , <i>A. heterochroa</i> , <i>A. vestita</i> , <i>A. verticillata</i> , <i>A. lycopodiifolia</i> , <i>A. hypermece</i> , <i>A. subulata</i> , <i>A. porcata</i> , <i>A. camptoclada</i> , <i>A. chrysotricha</i> , <i>A. asperulacea</i> , <i>A. adoxa</i> , <i>A. incrassata</i> , <i>A. paradox</i> , <i>Abarema macradenia</i> , <i>Archidendron lucidum</i> , <i>A. grandiflorum</i> , <i>A. turgidum</i> , <i>A. utile</i> , Fabaceae sp NPL0462, <i>Pithecellobium clypearia</i> , <i>Pseudosamanea guachapale</i> , <i>Pararchidendron pruinosum</i> , <i>Samanea saman</i> , <i>Schizolobium parahyba</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-2297A	No	b	<i>Byttneria aculeata</i> (0)	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	Malvaceae

1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-2297B	No	b	<i>Ipomoea aristolochiifolia</i> (0.02092)	NA	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-2297C	No	b	<i>Gouania lupuloides, G. polygama</i> (0)	<i>Gouania</i>	<i>Gouania</i>	<i>Gouania</i>	Rhamnaceae
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-2302A	No	b	<i>Cissus biformifolia, C. verticillata</i> (0)	<i>Cissus</i>	Vitaceae	Vitaceae	Vitaceae
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-2302B	No	b	Fabaceae sp NPL0243 (0.00341)	Fabaceae sp NPL0243	NA	Fabaceae	Fabaceae
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-2337	No	b	<i>Cissus biformifolia, C. verticillata</i> (0)	<i>Cissus</i>	Vitaceae	Vitaceae	Vitaceae
1	CAS223	<i>Charidotella sexpunctata</i>	IBE-JGZ-2341A	No	b	<i>Ipomoea aristolochiifolia</i> (0.04979)	NA	NA	<i>Ipomoea nil</i>	Convolvulaceae
3	CAS222	<i>Charidotella emarginata</i>	IBE-JGZ-1593	No	d	<i>Ipomoea tricolor</i> (0)	<i>Ipomoea trifida</i>	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
4	CAS225	<i>Charidotella tuberculata</i>	IBE-JGZ-1546A	No	b	<i>Inga edulis, I. sapindoides</i> (0.00240)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
4	CAS225	<i>Charidotella tuberculata</i>	IBE-JGZ-1552	No	d	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0.00414)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
4	CAS225	<i>Charidotella tuberculata</i>	IBE-JGZ-1569A	No	b	<i>Amaranthus deflexus</i> (0)	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	Amaranthaceae
4	CAS225	<i>Charidotella tuberculata</i>	IBE-JGZ-1569B	No	b	<i>Momordica charantia</i> (0.00523)	<i>Momordica</i>	Cucurbitaceae	<i>Momordica</i>	Cucurbitaceae
4	CAS225	<i>Charidotella tuberculata</i>	IBE-JGZ-1569C	No	b	<i>Malvastrum guatemalense,</i> <i>Talipariti elatum</i> (0.01503) <i>Buddleja americana,</i> <i>Scrophulariaceae</i> sp NPL0007 (0)	NA	Malvaceae	Gunneridae	Pentapetalae
4	CAS225	<i>Charidotella tuberculata</i>	IBE-JGZ-1576A	No	b	<i>Scrophulariaceae</i> sp NPL0007 (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae
4	CAS225	<i>Charidotella tuberculata</i>	IBE-JGZ-1576B	No	b	<i>Amaranthus albus, A. dubius,</i> <i>A. hybridus, A. deflexus, A.</i> <i>retroflexus, A. tricolor</i> (0.00862)	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	Amaranthaceae
4	CAS225	<i>Charidotella tuberculata</i>	IBE-JGZ-1577A	No	b	<i>Ipomoea tricolor</i> (0)	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
4	CAS225	<i>Charidotella tuberculata</i>	IBE-JGZ-1577B	No	b	<i>Cyclanthera carthagensis,</i> <i>Rytidosperma gracilis</i> (0)	Sicyoae	Sicyoae	Sicyoae	Sicyoae
4	CAS225	<i>Charidotella tuberculata</i>	IBE-JGZ-1630	No	d	<i>Ipomoea tricolor</i> (0)	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
4	CAS225	<i>Charidotella tuberculata</i>	IBE-JGZ-1640A	No	b	Boraginaceae sp NPL0024, <i>Cordia curassavica, Varronia</i> <i>multispicata</i> (0.00571)	Boraginales	Boraginales	Cordiaceae	Cordiaceae
4	CAS225	<i>Charidotella tuberculata</i>	IBE-JGZ-1640C	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058,	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae

Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)										
4	CAS225	<i>Charidotella tuberculata</i>	IBE-JGZ-2267A	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00934)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>
4	CAS225	<i>Charidotella tuberculata</i>	IBE-JGZ-2267B	No	b	<i>Sida rhombifolia</i> (0.01360)	NA	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>
4	CAS225	<i>Charidotella tuberculata</i>	IBE-JGZ-2339B	No	b	<i>Cordia alliodora</i> (0)	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	Boraginales
4	CAS225	<i>Charidotella tuberculata</i>	IBE-JGZ-2339C	No	b	<i>Chiococca alba</i> (0.00387)	<i>Chiococca alba</i>	Chiococceae	Cinchonoideae	Rubiaceae
5	CAS220	<i>Microctenochira sp.1</i>	IBE-JGZ-1539A	No	b	<i>Ipomoea carnea</i> (0.00729)	<i>Ipomoea carnea</i>	<i>Ipomoea</i>	<i>Ipomoea carnea</i>	<i>Ipomoea</i>
5	CAS220	<i>Microctenochira sp.1</i>	IBE-JGZ-1539B	No	b	<i>Amaranthus albus</i> , <i>A. dubius</i> , <i>A. hybridus</i> , <i>A. deflexus</i> , <i>A. retroflexus</i> , <i>A. tricolor</i> (0.00862)	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	Amaranthaceae
5	CAS220	<i>Microctenochira sp.1</i>	IBE-JGZ-1603	No	d	<i>Ipomoea nil</i> (0.00496)	<i>Ipomoea nil</i>	Convolvulaceae	<i>Ipomoea nil</i>	Convolvulaceae
5	CAS220	<i>Microctenochira sp.1</i>	IBE-JGZ-1612	No	d	<i>Ipomoea nil</i> (0.00495)	<i>Ipomoea nil</i>	Convolvulaceae	<i>Ipomoea nil</i>	Convolvulaceae
5	CAS220	<i>Microctenochira sp.1</i>	IBE-JGZ-1614	No	d	<i>Merremia quinquefolia</i> (0)	<i>Merremia</i>	<i>Merremia</i>	<i>Merremia</i>	<i>Merremia</i>
5	CAS220	<i>Microctenochira sp.1</i>	IBE-JGZ-1618A	No	b	<i>Ipomoea aristolochiifolia</i> (0.02092)	NA	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
5	CAS220	<i>Microctenochira sp.1</i>	IBE-JGZ-1618B	No	b	<i>Cordia alliodora</i> (0)	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	Boraginales
5	CAS220	<i>Microctenochira sp.1</i>	IBE-JGZ-1939	No	d	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0.00414)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
5	CAS220	<i>Microctenochira sp.1</i>	IBE-JGZ-1984	No	d	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0.00416)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
5	CAS220	<i>Microctenochira sp.1</i>	IBE-JGZ-2298	No	d	<i>Sida spinosa</i> (0.01680)	NA	Malvoideae	<i>Sida spinosa</i>	Malvoideae
6	CAS243	<i>Microctenochira sp.2</i>	IBE-JGZ-2268	No	b	Convolvulaceae sp NPL0138 (0)	NA	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
7	CAS221	<i>Microctenochira hectica</i>	IBE-JGZ-1550A	No	b	<i>Ipomoea imperati</i> (0.00246)	<i>Ipomoea imperati</i>	<i>Ipomoea imperati</i>	<i>Ipomoea imperati</i>	Convolvulaceae
7	CAS221	<i>Microctenochira hectica</i>	IBE-JGZ-1550B	No	b	<i>Calopogonium mucunoides</i> (0.00699)	<i>Calopogonium mucunoides</i>	<i>Calopogonium mucunoides</i>	<i>Calopogonium mucunoides</i>	Fabaceae
7	CAS221	<i>Microctenochira hectica</i>	IBE-JGZ-1560	No	d	<i>Ipomoea nil</i> (0.005)	<i>Ipomoea nil</i>	Convolvulaceae	<i>Ipomoea nil</i>	Convolvulaceae
7	CAS221	<i>Microctenochira hectica</i>	IBE-JGZ-1561A	No	b	<i>Lantana urticifolia</i> , <i>L. hirta</i> (0)	NA	Lantaneae	Pentapetalae	Lantaneae

7	CAS221	<i>Microctenochira hectica</i>	IBE-JGZ-1561C	No	b	<i>Cyclanthera carthagenaensis</i> , <i>Rytidostylis gracilis</i> (0) <i>Ipomoea aristolochiifolia</i> (0.02845)	Sicyoae	Sicyoae	Sicyoae	Sicyoae
7	CAS221	<i>Microctenochira hectica</i>	IBE-JGZ-1585	No	d	<i>Ipomoea nil</i> (0.00626)	NA	Convolvulaceae	<i>Ipomoea nil</i>	Convolvulaceae
7	CAS221	<i>Microctenochira hectica</i>	IBE-JGZ-1599	No	d	<i>Ipomoea nil</i> (0.00626) Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	<i>Ipomoea nil</i>	<i>Ipomoea</i>	<i>Ipomoea nil</i>	Convolvulaceae
7	CAS221	<i>Microctenochira hectica</i>	IBE-JGZ-1643B	No	b	<i>Ipomoea tricolor</i> (0) Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	<i>Ipomoea trifida</i>	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
7	CAS221	<i>Microctenochira hectica</i>	IBE-JGZ-1647A	No	b	<i>Ipomoea tricolor</i> (0) Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
7	CAS221	<i>Microctenochira hectica</i>	IBE-JGZ-1647B	No	b	<i>Ipomoea tricolor</i> (0) Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
7	CAS221	<i>Microctenochira hectica</i>	IBE-JGZ-1649	No	d	<i>Ipomoea tricolor</i> (0) Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
7	CAS221	<i>Microctenochira hectica</i>	IBE-JGZ-2249B	No	b	<i>Gmelina villosa</i> (0.00845)	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina</i>	Lamiaceae
8	CAS227		IBE-JGZ-2280A	No	b	<i>Gmelina villosa</i> (0.00563) <i>Buddleja americana</i> ,	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina</i>	Lamiaceae
9	CAS226		IBE-JGZ-1574A	No	b	<i>Scrophulariaceae</i> sp NPL0007 (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	<i>Buddleja</i> <i>americana</i>	Scrophulariaceae
9	CAS226		IBE-JGZ-2273A	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00699)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	Zingiberales	Zingiberales
9	CAS226		IBE-JGZ-2274A	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00700)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	Zingiberales	Zingiberales
9	CAS226		IBE-JGZ-2281A	No	b	<i>Sida spinosa</i> (0.05172)	NA	NA	<i>Sida spinosa</i>	Malvoideae
9	CAS226		IBE-JGZ-2281B	No	b	<i>Piper arboreum</i> , <i>P. angustum</i> , <i>P. tuberculatum</i> (0) Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	Piper	Piper	<i>Piper angustum</i>	Piper
9	CAS226		IBE-JGZ-2281C	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
10	CAS249		IBE-JGZ-2292B	No	b	<i>Iresine diffusa</i> (0)	<i>Iresine diffusa</i>	<i>Iresine diffusa</i>	<i>Iresine diffusa</i>	Amaranthaceae
11	CAS230	<i>Microctenochira bonvouloiri</i>	IBE-JGZ-1987	No	d	<i>Samanea saman</i> , Fabaceae sp NPL0462 (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
11	CAS230	<i>Microctenochira bonvouloiri</i>	IBE-JGZ-2279A	No	b	<i>Cestrum scandens</i> (0.00206)	<i>Cestrum scandens</i>	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum scandens</i>	<i>Cestrum</i>

11	CAS230	<i>Microctenochira bonvouloiri</i>	IBE-JGZ-2279C	No	b	<i>Piper arboreum</i> , <i>P. angustum</i> , <i>P. tuberculatum</i> (0)	<i>Piper</i>	<i>Piper</i>	<i>Piper angustum</i>	<i>Piper</i>
11	CAS230	<i>Microctenochira bonvouloiri</i>	IBE-JGZ-2338	No	b	<i>Iresine diffusa</i> (0)	<i>Iresine diffusa</i>	Amaranthaceae	<i>Iresine diffusa</i>	Amaranthaceae
12	CAS229		IBE-JGZ-2260	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00702)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>
12	CAS229		IBE-JGZ-2294	No	d	<i>Lonchocarpus minimijlorus</i> (0)	<i>Lonchocarpus minimijlorus</i>	Fabaceae	<i>Lonchocarpus minimijlorus</i>	<i>Lonchocarpus</i>
13	CAS228		IBE-JGZ-1555	No	d	<i>Baltimora recta</i> (0)	<i>Baltimora recta</i>	Heliantheae	<i>Baltimora recta</i>	Asteraceae
13	CAS228		IBE-JGZ-1564A	No	b	<i>Musa acuminata</i> (0.00370)	<i>Musa</i>	Petrosaviidae	<i>Musa</i>	<i>Musa</i>
13	CAS228		IBE-JGZ-1564B	No	b	<i>Baltimora recta</i> (0)	<i>Baltimora recta</i>	Heliantheae	<i>Baltimora recta</i>	Asteraceae
13	CAS228		IBE-JGZ-1578A	No	b	<i>Leucaena salvadorensis</i> , <i>L. multicapitula</i> (0.00223)	<i>Leucaena</i>	Mimosaceae	<i>Leucaena</i>	Fabaceae
13	CAS228		IBE-JGZ-1578B	No	b	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0.00829)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
13	CAS228		IBE-JGZ-1929	No	d	<i>Melanthera nivea</i> (0.00460)	<i>Melanthera nivea</i>	Asteraceae	<i>Melanthera nivea</i>	Heliantheae
13	CAS228		IBE-JGZ-1933	No	d	<i>Melanthera nivea</i> (0)	Heliantheae	Asteraceae	<i>Melanthera nivea</i>	Heliantheae
14	CAS252	<i>Tapinaspis wesmaeli</i>	IBE-JGZ-2494	No	b	<i>Pithecellobium oblongum</i> (0.00366)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
15	CAS248		IBE-JGZ-2289A	No	b	<i>Bravaisia integrerrima</i> (0.00534)	<i>Bravaisia integrerrima</i>	Acanthaceae	<i>Bravaisia integrerrima</i>	Acanthaceae
15	CAS248		IBE-JGZ-2289B	No	b	Fabaceae sp NPL0243 (0)	Fabaceae sp NPL0243	NA	Fabaceae	Fabaceae
16	CAS253	<i>Charidotella opulenta</i>	IBE-JGZ-2493A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
16	CAS253	<i>Charidotella opulenta</i>	IBE-JGZ-2493B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
17	CAS237	<i>Agroiconota propinquua</i>	IBE-JGZ-1558A	No	b	<i>Cestrum nocturnum</i> (0)	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum nocturnum</i>	<i>Cestrum</i>
17	CAS237	<i>Agroiconota propinquua</i>	IBE-JGZ-1558B	No	b	<i>Cissus microcarpa</i> (0)	Vitaceae	Vitaceae	Vitaceae	Vitaceae
17	CAS237	<i>Agroiconota propinquua</i>	IBE-JGZ-1558C	No	b	Boraginaceae sp NPL0024 (0.00680)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
17	CAS231	<i>Agroiconota propinquua</i>	IBE-JGZ-1604	No	d	<i>Ipomoea nil</i> (0.00251)	<i>Ipomoea nil</i>	<i>Ipomoea</i>	<i>Ipomoea nil</i>	Convolvulaceae
17	CAS231	<i>Agroiconota propinquua</i>	IBE-JGZ-1623	No	d	<i>Ipomoea clarata</i> (0.00403)	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
17	CAS231	<i>Agroiconota propinquua</i>	IBE-JGZ-2262	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00235)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>

18	CAS242	<i>Charidotis auroguttata</i>	IBE-JGZ-1565A	No	b	<i>Cestrum nocturnum</i> (0) <i>Buddleja americana</i> , Scrophulariaceae sp NPL0007 (0)	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum</i> <i>nocturnum</i>	<i>Cestrum</i>
18	CAS242	<i>Charidotis auroguttata</i>	IBE-JGZ-1565B	No	b	<i>Amaranthus deflexus</i> (0)	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	Amaranthaceae
18	CAS242	<i>Charidotis auroguttata</i>	IBE-JGZ-1565C	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00469)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Zingiberales</i>	Zingiberales
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-1545	No	d	<i>Cordia alliodora</i> (0)	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	Boraginales
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-1556A	No	b	<i>Cordia alliodora</i> (0)	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	Boraginales
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-1556B	No	b	<i>Amaranthus deflexus</i> (0)	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	Amaranthaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-1586A	No	b	<i>Lysiloma divaricatum</i> , Fabaceae sp NPL0396 (0.01084)	NA	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-1586B	No	b	<i>Cordia borinquensis</i> (0.01923)	NA	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-1590A	No	b	<i>Vachellia melanoceras</i> , <i>V.</i> <i>pennatula</i> (0)	<i>Vachellia</i>	Acacieae	<i>Vachellia</i>	Mimosoideae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-1590B	No	b	<i>Amaranthus hybridus</i> , <i>A.</i> <i>retroflexus</i> , <i>A. tricolor</i> (0.00657)	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2254B	No	b	<i>Turnera diffusa</i> , <i>T. scabra</i> (0)	<i>Turnera</i>	<i>Turnera</i>	<i>Turnera</i>	Pentapetalae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2293A	No	b	<i>Pithecellobium scleri</i> , <i>P. dulce</i> , <i>P.</i> <i>lanceolatum</i> (0)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2293B	No	b	<i>Cordia dentata</i> (0)	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2293C	No	b	<i>Cayaponia racemosa</i> , Cucurbitaceae sp NPL0060 (0)	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2301A	No	b	<i>Diospyros eriantha</i> (0.02777)	NA	<i>Diospyros</i>	<i>Diospyros</i> <i>salicifolia</i>	<i>Diospyros</i>
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2301B	No	b	<i>Cordia collococca</i> (0.00381)	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2303	No	d	<i>Eugenia acapulcensis</i> , <i>E.</i> <i>axillaris</i> , <i>E. cuprea</i> (0)	<i>Eugenia</i>	Myrtaceae	Myrtaceae	Myrtaceae
19	CAS250	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2304	No	d	<i>Mitrangyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2305B	No	b	<i>Sida spinosa</i> (0.05172)	NA	NA	<i>Sida spinosa</i>	Malvoideae

19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2305C	No	b	Fabaceae sp NPL0243 (0.00340)	Fabaceae sp NPL0243	NA	Fabaceae	Fabaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2306A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2306B	No	b	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2307	No	d	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2308	No	d	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2310	No	d	<i>Sida spinosa</i> (0.05665)	NA	NA	<i>Sida spinosa</i>	Malvoideae
19	CAS250	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2312	No	d	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2314A	No	b	<i>Lasiacis ruscifolia</i> , Poaceae sp NPL0224 (0)	Poaceae	Poaceae	Poaceae	Poaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2314B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2316A	No	b	<i>Persicaria orientalis</i> , <i>P. punctata</i> , <i>P. tomentosa</i> (0.01129)	NA	Polygonoideae	Polygonaceae	Polygonaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2316B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2317A	No	b	<i>Persicaria lapathifolia</i> (0.01201)	NA	Polygonoideae	Polygonaceae	Polygonaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2317B	No	b	<i>Sida acuta</i> (0.01875)	NA	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2317C	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2319A	No	b	<i>Sida acuta</i> (0.02881)	NA	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2319B	No	b	<i>Cordia alliodora</i> (0)	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	Boraginales
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2320	No	d	<i>Sida spinosa</i> (0.05329)	NA	NA	<i>Sida spinosa</i>	Malvoideae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2321A	No	b	<i>Sida spinosa</i> (0.05159)	NA	NA	<i>Sida spinosa</i>	Malvoideae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2321B	No	b	<i>Apheleandra scabra</i> (0)	<i>Apheleandra</i>	<i>Apheleandra</i>	<i>Apheleandra leonardii</i>	<i>Apheleandra</i>
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2321C	No	b	<i>Chiococca alba</i> (0)	Chiococceae	Chiococceae	Cinchonoideae	Cinchonoideae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2322A	No	b	<i>Chiococca alba</i> (0)	Chiococceae	Chiococceae	Cinchonoideae	Cinchonoideae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2323C	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae

19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2325B	No	b	<i>Chiococca alba</i> (0) <i>Cayaponia racemosa</i> , Cucurbitaceae sp NPL0060 (0.01075)	Chiococceae	Cinchonoideae	Cinchonoideae	Cinchonoideae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2325C	No	b	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0) Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0.00829)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2327B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
19	CAS217	<i>Ischnocodia annulus</i>	IBE-JGZ-2329B	No	b	<i>Serjania atrolineata</i> (0.01107)	NA	Sapindaceae	Sapindaceae	Sapindaceae
21	CAS215	<i>Coptocyela leprosa</i>	IBE-JGZ-2472	No	b	<i>Cordia alliodora</i> (0.00327)	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	Boraginales
22	CAS218		IBE-JGZ-1541A	No	b	<i>Celtis iguanaea</i> (0)	<i>Celtis iguanaea</i>	<i>Celtis</i>	<i>Celtis iguanaea</i>	<i>Celtis</i>
22	CAS218		IBE-JGZ-1541B	No	b	<i>Bonellia nervosa</i> (0)	Ericales	Ericales	Ericales	asterids
22	CAS218		IBE-JGZ-2257	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00235)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	Zingiberales	Zingiberales
22	CAS218		IBE-JGZ-2259	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00235)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	Zingiberales	Zingiberales
22	CAS218		IBE-JGZ-2264A	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00467)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	Zingiberales	Zingiberales
22	CAS218		IBE-JGZ-2278A	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00239)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	Zingiberales	Zingiberales
22	CAS218		IBE-JGZ-2287A	No	b	<i>Pithecellobium oblongum</i> (0.00687)	<i>Pithecellobium oblongum</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
22	CAS218		IBE-JGZ-2287C	No	b	<i>Calopogonium caeruleum</i> , Fabaceae sp NPL0211 (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
22	CAS218		IBE-JGZ-2290	No	b	<i>Sida cordifolia</i> (0.05641)	NA	NA	<i>Sida spinosa</i>	Malvoideae
22	CAS218		IBE-JGZ-2296B	No	b	<i>Machlura tinctoria</i> (0)	<i>Machlura tinctoria</i>	<i>Machlura tinctoria</i>	<i>Machlura tinctoria</i>	<i>Machlura tinctoria</i>
22	CAS218		IBE-JGZ-2300A	No	b	<i>Simarouba amara</i> (0.03785)	NA	<i>Simarouba amara</i>	<i>Simarouba amara</i>	Simaroubaceae
23	CAS251	<i>Omocerus caeruleopunctatus</i>	IBE-JGZ-1658	No	b	<i>Cordia collococca</i> (0)	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>
23	CAS251	<i>Omocerus caeruleopunctatus</i>	IBE-JGZ-2480	No	b	<i>Cordia nodosa</i> , <i>C. sp.</i> , <i>C. sagotii</i> , <i>C. naidophila</i> , <i>C. uayaliensis</i> , <i>C. exaltata</i> (0.01069)	NA	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>
24	CAS234	<i>Physsonota alutacea</i>	IBE-JGZ-2403A	No	b	Boraginaceae sp NPL0024 (0.00390)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales

24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-2403B	No	b	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0.01834)	NA	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
24	CAS235	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-2411	No	b	<i>Opismenus burmannii</i> (0)	Poaceae	Poaceae	Poaceae	Poaceae
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-2414	No	b	<i>Varronia sessilifolia</i> (0)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-2418	No	b	Boraginaceae sp NPL0024, <i>Cordia pringlei</i> (0)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS235	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-2473	No	d	<i>Cordia spinescens</i> (0)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-2474	No	d	Boraginaceae sp NPL0024, <i>Cordia pringlei</i> (0)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS235	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-2476	No	d	Boraginaceae sp NPL0024, <i>Cordia pringlei</i> (0)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS235	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-2477	No	b	<i>Cordia spinescens</i> (0)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3446	Si	d	<i>Bursera ovalifolia</i> , <i>B. simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3447	Si	d	Boraginaceae sp NPL0024, <i>Cordia pringlei</i> (0)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3448	Si	d	Boraginaceae sp NPL0024 (0.00359)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3450	Si	d	Boraginaceae sp NPL0024, <i>Cordia pringlei</i> (0)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3451	Si	d	Boraginaceae sp NPL0024 (0.00367)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3452	Si	d	Boraginaceae sp NPL0024, <i>Cordia curassavica</i> , <i>C. pringlei</i> (0)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3453	Si	d	Boraginaceae sp NPL0024, <i>Cordia pringlei</i> (0)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3454	Si	d	<i>Cordia pringlei</i> (0)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3455	Si	d	Boraginaceae sp NPL0024 (0.00361)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3456	Si	d	<i>Cordia pringlei</i> (0)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3457	Si	d	Boraginaceae sp NPL0024 (0.00378)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3458	Si	d	Boraginaceae sp NPL0024 (0.00363)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales

24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3459	Si	d	Boraginaceae sp NPL0024 (0.00366)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3460	Si	d	<i>Cordia pringlei</i> (0)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3461	Si	d	<i>Cordia spinescens</i> (0)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3462	Si	d	<i>Cordia spinescens</i> (0.00492)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3463	Si	d	Boraginaceae sp NPL0024, <i>Cordia pringlei</i> (0)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3465	Si	d	<i>Cordia dentata</i> (0)	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3466	Si	d	<i>Cordia spinescens</i> (0)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3467	Si	d	<i>Varronia inermis</i> , <i>Cordia spinescens</i> (0)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3468	Si	d	<i>Varronia inermis</i> , <i>Cordia spinescens</i> (0)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3479A	Si	b	<i>Cordia dentata</i> (0)	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3479B	Si	b	<i>Cordia dentata</i> (0)	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3481	Si	d	<i>Cordia dentata</i> (0)	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3482	Si	d	<i>Cordia spinescens</i> (0)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3483	Si	d	<i>Cordia spinescens</i> (0)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3484	Si	d	<i>Varronia inermis</i> , <i>Cordia spinescens</i> (0)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3485	Si	d	<i>Lonchocarpus heptaphyllus</i> , <i>L. phlebophyllus</i> (0)	<i>Lonchocarpus</i>	Fabaceae	<i>Lonchocarpus phlebophyllus</i>	<i>Lonchocarpus</i>
24	CAS234	<i>Physonota alutacea</i>	IBE-JGZ-3486	Si	d	<i>Varronia inermis</i> , <i>Cordia spinescens</i> (0)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
25	CAS233	<i>Physonota</i> sp.	IBE-JGZ-2402A	No	b	<i>Iresine diffusa</i> (0.00377)	<i>Iresine diffusa</i>	<i>Iresine diffusa</i>	<i>Iresine diffusa</i>	Amaranthaceae
25	CAS233	<i>Physonota</i> sp.	IBE-JGZ-2402B	No	b	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0.0125)	NA	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
25	CAS233	<i>Physonota</i> sp.	IBE-JGZ-2469	No	b	<i>Bourreria succulenta</i> , <i>B. virgata</i> (0.00320)	<i>Bourreria</i>	<i>Bourreria</i>	<i>Bourreria</i>	Ehretiaceae
26	CAS232	<i>Physonota gigantea</i>	IBE-JGZ-2404A	No	b	<i>Sida acuta</i> (0.02857)	NA	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	Malvaceae
26	CAS232	<i>Physonota gigantea</i>	IBE-JGZ-2405A	No	b	<i>Serjania lobulata</i> , <i>S. triquetra</i>	<i>Serjania</i>	<i>Serjania</i>	<i>Serjania</i>	Sapindaceae

(0.00655)										
26	CAS232	<i>Physonota gigantea</i>	IBE-JGZ-2405B	No	b	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0.00414)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
26	CAS232	<i>Physonota gigantea</i>	IBE-JGZ-2406	No	b	<i>Cordia borinquensis</i> (0.01923)	NA	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>
26	CAS232	<i>Physonota gigantea</i>	IBE-JGZ-2407	No	b	<i>Cordia borinquensis</i> (0.01923)	NA	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>
26	CAS232	<i>Physonota gigantea</i>	IBE-JGZ-3480A	Si	b	<i>Cordia dentata</i> (0)	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>
26	CAS232	<i>Physonota gigantea</i>	IBE-JGZ-3480B	Si	b	<i>Randia armata</i> (0.00760)	<i>Randia armata</i>	Rubiaceae	<i>Randia armata</i>	Rubiaceae
27	CAS219	<i>Chelymorpha gressoria</i>	IBE-JGZ-1551A	No	b	<i>Cestrum nocturnum</i> (0)	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum nocturnum</i>	<i>Cestrum</i>
27	CAS219	<i>Chelymorpha gressoria</i>	IBE-JGZ-1551B	No	b	Fabaceae sp NPL0243 (0)	Fabaceae sp NPL0243	NA	Fabaceae	Fabaceae
27	CAS219	<i>Chelymorpha gressoria</i>	IBE-JGZ-1644	No	b	<i>Hyptis mutabilis</i> , <i>Hyptis pectinata</i> (0.00392)	<i>Hyptis</i>	<i>Hyptis</i>	<i>Hyptis</i>	<i>Hyptis</i>
27	CAS219	<i>Chelymorpha gressoria</i>	IBE-JGZ-1650A	No	b	<i>Hyptis mutabilis</i> , <i>Hyptis pectinata</i> (0)	<i>Hyptis</i>	<i>Hyptis</i>	<i>Hyptis</i>	<i>Hyptis</i>
27	CAS219	<i>Chelymorpha gressoria</i>	IBE-JGZ-1650C	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0.01442)	NA	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
27	CAS219	<i>Chelymorpha gressoria</i>	IBE-JGZ-1663A	No	b	<i>Hyptis mutabilis</i> , <i>Hyptis pectinata</i> (0.00299)	<i>Hyptis</i>	<i>Hyptis</i>	<i>Hyptis</i>	<i>Hyptis</i>
27	CAS219	<i>Chelymorpha gressoria</i>	IBE-JGZ-1663B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
27	CAS219	<i>Chelymorpha gressoria</i>	IBE-JGZ-1922	No	d	<i>Ipomoea tricolor</i> , <i>I. trifida</i> (0)	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
27	CAS219	<i>Chelymorpha gressoria</i>	IBE-JGZ-2242	No	d	<i>Simsia orata</i> (0)	Heliantheae	Asteraceae	Asteraceae	Asteraceae
27	CAS219	<i>Chelymorpha gressoria</i>	IBE-JGZ-2251	No	d	<i>Ipomoea nil</i> (0.00498)	<i>Ipomoea nil</i>	Convolvulaceae	<i>Ipomoea nil</i>	Convolvulaceae
27	CAS219	<i>Chelymorpha gressoria</i>	IBE-JGZ-2295A	No	b	<i>Ipomoea clavata</i> , <i>I. splendor syrae</i> , <i>I. tricolor</i> (0)	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
27	CAS219	<i>Chelymorpha gressoria</i>	IBE-JGZ-2295B	No	b	<i>Cayaponia racemosa</i> , Cucurbitaceae sp NPL0060 (0)	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
27	CAS219	<i>Chelymorpha gressoria</i>	IBE-JGZ-2470	No	b	<i>Ipomoea clavata</i> , <i>I. tricolor</i> (0)	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae

28	CAS246	<i>Chelymorpha testaceomarginata</i>	IBE-JGZ-1570	No	d	<i>Samanea saman</i> , Fabaceae sp NPL0462 (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
28	CAS246	<i>Chelymorpha testaceomarginata</i>	IBE-JGZ-2272A	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00700)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>
28	CAS246	<i>Chelymorpha testaceomarginata</i>	IBE-JGZ-2275A	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00700)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>
28	CAS246	<i>Chelymorpha testaceomarginata</i>	IBE-JGZ-2283A	No	b	<i>Sida spinosa</i> (0.05159)	NA	NA	Malvoideae	Pentapetalae
28	CAS246	<i>Chelymorpha testaceomarginata</i>	IBE-JGZ-2283B	No	b	<i>Chamissoa acuminata</i> (0)	<i>Chamissoa acuminata</i>	<i>Chamissoa acuminata</i>	<i>Chamissoa acuminata</i>	Charpentiera
29	CAS210	<i>Dorynota insidiosa</i>	IBE-JGZ-2410	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
30	CAS245		IBE-JGZ-2269	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00938)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>
30	CAS245		IBE-JGZ-2282	No	d	<i>Tabebuia rosea</i> (0)	<i>Tabebuia rosea</i>	NA	<i>Tabebuia rosea</i>	Tabebuia alliance
59	CAS241	<i>Physonota attenuata</i>	IBE-JGZ-1935	No	d	<i>Cordia dentata</i> (0)	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>
59	CAS241	<i>Physonota attenuata</i>	IBE-JGZ-3464	No	d	<i>Cordia dentata</i> (0)	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>
60	CAS236	<i>Spaethiella marginata</i>	IBE-JGZ-1573	No	d	<i>Juglans ailanthifolia</i> , <i>J. cinerea</i> , <i>J. mandshurica</i> , <i>J. regia</i> , <i>Pterocarya bupehensis</i> , <i>P. macroptera</i> , <i>P. stenoptera</i> , <i>P. tonkinensis</i> (0)	Juglandaceae	Juglandaceae	Juglandaceae	Juglandaceae
60	CAS236	<i>Spaethiella marginata</i>	IBE-JGZ-2263A	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00466)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>
60	CAS236	<i>Spaethiella marginata</i>	IBE-JGZ-2263B	No	b	<i>Sida rhombifolia</i> (0.03825)	NA	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	Malvaceae
60	CAS236	<i>Spaethiella marginata</i>	IBE-JGZ-2271A	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00702)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>
60	CAS236	<i>Spaethiella marginata</i>	IBE-JGZ-2276A	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00704)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>
60	CAS236	<i>Spaethiella marginata</i>	IBE-JGZ-2284	No	d	<i>Sida spinosa</i> (0.05405)	NA	NA	<i>Sida spinosa</i>	Malvoideae
60	CAS236	<i>Spaethiella marginata</i>	IBE-JGZ-2288A	No	b	<i>Opismenus burmannii</i> (0.00176)	Poaceae	Poaceae	Poaceae	Poaceae
60	CAS236	<i>Spaethiella marginata</i>	IBE-JGZ-2288B	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>
60	CAS236	<i>Spaethiella marginata</i>	IBE-JGZ-2288C	No	b	<i>Gmelina villosa</i> (0.00564)	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina</i>	Lamiaceae
62	CAS211	<i>Deloyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-1547	No	d	<i>Ipomoea tricolor</i> (0) <i>Inga sapindoides</i> , <i>I. vera</i> , <i>I. edulis</i> , <i>I. punctata</i> , <i>I. thibaudiana</i> (0.00516)	<i>Ipomoea</i>	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
62	CAS239	<i>Deloyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-1568A	No	b		Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae

62	CAS239	<i>Delyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-1568B	No	b	<i>Cayaponia palmata</i> (0)	<i>Cayaponia</i>	Cucurbitaceae	<i>Cayaponia boliviensis</i>	Cucurbitaceae
62	CAS211	<i>Delyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-1602A	No	b	<i>Inga edulis</i> , <i>I. oerstediana</i> , <i>I. sapindoides</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
62	CAS211	<i>Delyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-1602B	No	b	<i>Amaranthus hybridus</i> , <i>A. retroflexus</i> , <i>A. tricolor</i> (0.0125)	NA	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	Amaranthaceae
62	CAS211	<i>Delyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-1606A	No	b	<i>Inga edulis</i> , <i>I. sapindoides</i> (0.00259)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
62	CAS211	<i>Delyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-1606B	No	b	Fabaceae sp NPL0547 (0.00754)	Fabaceae sp NPL0547	NA	Fabaceae sp NPL0547	Fabaceae
62	CAS211	<i>Delyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-1610A	No	b	<i>Inga sapindoides</i> , <i>I. thibaudiana</i> , <i>I. edulis</i> , <i>I. oerstediana</i> , <i>I. vera</i> , <i>I. punctata</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
62	CAS211	<i>Delyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-1610B	No	b	Fabaceae sp NPL0547 (0.00374)	Fabaceae sp NPL0547	NA	Fabaceae sp NPL0547	Fabaceae
62	CAS211	<i>Delyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-1610C	No	b	<i>Amaranthus deflexus</i> (0)	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	Amaranthaceae
62	CAS211	<i>Delyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-1615	No	d	Fabaceae sp NPL0159, Fabaceae sp NPL0059, Fabaceae sp NPL0188, <i>Mucuna pruriens</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
62	CAS211	<i>Delyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-1617A	No	b	<i>Mimosa albida</i> (0)	<i>Mimosa albida</i>	<i>Mimosa</i>	<i>Mimosa albida</i>	<i>Mimosa</i>
62	CAS211	<i>Delyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-1617B	No	b	<i>Samanea saman</i> , Fabaceae sp NPL0462 (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
62	CAS211	<i>Delyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-1621	No	d	<i>Ipomoea clavata</i> (0.00323)	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
62	CAS272	<i>Delyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-1642	No	b	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
62	CAS272	<i>Delyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-1646A	No	b	<i>Ipomoea clavata</i> , <i>I. splendor sylvae</i> , <i>I. tricolor</i> , <i>I. trifida</i> , Convolvulaceae sp NPL0001 (0)	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
62	CAS272	<i>Delyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-1646B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
62	CAS211	<i>Delyala fuliginosa</i>	IBE-JGZ-2245A	No	b	<i>Aeschynomene rufa</i> , Fabaceae sp NPL0051 (0.00704)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae

62	CAS211	<i>Delyalafuliginosa</i>	IBE-JGZ-2247A	No	b	<i>Actinidia callosa</i> , <i>A. cylindrica</i> , <i>A. deliciosa</i> , <i>A. farinosa</i> , <i>A.</i> <i>fortunatii</i> , <i>A. fulvicoma</i> , <i>A.</i> <i>glaucocallosa</i> , <i>A. hemsleyana</i> , <i>A.</i> <i>henryi</i> , <i>A. indochinensis</i> , <i>A.</i> <i>latifolia</i> , <i>A. laevissima</i> , <i>A.</i> <i>liangguangensis</i> , <i>A. melliana</i> , <i>A.</i> <i>rubricaulis</i> , <i>A. rufis</i> , <i>A.</i> <i>suberifolia</i> , <i>A. sp.</i> , <i>A. venosa</i> (0.00543)	<i>Actinidia</i>	Actinidiaceae	Ericales	Ericales
62	CAS211	<i>Delyalafuliginosa</i>	IBE-JGZ-2247B	No	b	<i>Ipomoea clavata</i> , <i>I. splendor sylvae</i> (0.00460)	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
62	CAS211	<i>Delyalafuliginosa</i>	IBE-JGZ-2258	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00470)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>	<i>Heliconia</i>
62	CAS272	<i>Delyalafuliginosa</i>	IBE-JGZ-2261	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00467)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	Zingiberales	Zingiberales
62	CAS272	<i>Delyalafuliginosa</i>	IBE-JGZ-2489	No	b	<i>Ipomoea clavata</i> (0.00366)	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
63	CAS247		IBE-JGZ-2266A	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00699)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	Zingiberales	Zingiberales
63	CAS247		IBE-JGZ-2266B	No	b	<i>Sida rhombifolia</i> (0.01123)	NA	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	Malvaceae
63	CAS247		IBE-JGZ-2277A	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00735)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	Zingiberales	Zingiberales
63	CAS247		IBE-JGZ-2277B	No	b	<i>Sida rhombifolia</i> (0.02439)	NA	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	Malvaceae
64	CAS213	<i>Helocassis clarata</i>	IBE-JGZ-1563A	No	b	<i>Hyptis mutabilis</i> , <i>Hyptis pectinata</i> (0)	<i>Hyptis</i>	<i>Hyptis</i>	<i>Hyptis</i>	<i>Hyptis</i>
64	CAS213	<i>Helocassis clarata</i>	IBE-JGZ-1563B	No	b	<i>Calopogonium mucunoides</i> (0)	<i>Calopogonium mucunoides</i>	<i>Calopogonium mucunoides</i>	<i>Calopogonium mucunoides</i>	Fabaceae
64	CAS213	<i>Helocassis clarata</i>	IBE-JGZ-1563C	No	b	<i>Amaranthus deflexus</i> (0.01428)	NA	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	Amaranthaceae
64	CAS240	<i>Helocassis clarata</i>	IBE-JGZ-1571	No	d	<i>Cissus microcarpa</i> , Vitaceae sp NPL0177 (0)	Vitaceae	Vitaceae	Vitaceae	Vitaceae
64	CAS213	<i>Helocassis clarata</i>	IBE-JGZ-1594A	No	b	Solanaceae sp NPL0418 (0)	Solanaceae sp NPL0418	Solanaceae	Solanaceae sp NPL0418	Solanaceae
64	CAS213	<i>Helocassis clarata</i>	IBE-JGZ-1594B	No	b	Fabaceae sp NPL0547 (0.01449) <i>Cayaponia racemosa</i> ,	NA	NA	Fabaceae sp NPL0547	Fabaceae
64	CAS213	<i>Helocassis clarata</i>	IBE-JGZ-1594C	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0060 (0)	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae

64	CAS213	<i>Helocassis clarata</i>	IBE-JGZ-1993	No	d	<i>Solanum americanum</i> , <i>S. diphyllum</i> (0) <i>Solanum erianthum</i> , <i>S. lepidotum</i> (0.04935)	<i>Solanum</i>	<i>Solanum</i>	<i>Solanum</i>	<i>Solanum</i>
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1540A	No	b	<i>Samanea saman</i> , Fabaceae sp NPL0462 (0)	NA	NA	<i>Solanum</i>	Solanaceae
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1540B	No	b	<i>Physalis pruinosa</i> (0.00759)	<i>Physalis pruinosa</i>	Solanaceae	Solanaceae	Solanaceae
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1557	No	d	<i>Physalis gracilis</i> (0.00190)	<i>Physalis</i>	Solanaceae	<i>Physalis gracilis</i>	<i>Physalis</i>
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1583	No	d	<i>Physalis angulata</i> , Solanaceae sp NPL0004 (0)	Solanaceae	Solanaceae	Solanaceae	Solanaceae
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1632A	No	b	<i>Buddleja americana</i> , Scrophulariaceae sp NPL0007 (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1632B	No	b	<i>Physalis gracilis</i> (0)	<i>Physalis</i>	Solanaceae	<i>Physalis gracilis</i>	<i>Physalis</i>
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1635	No	d	<i>Physalis gracilis</i> (0)	<i>Physalis</i>	Solanaceae	<i>Physalis gracilis</i>	<i>Physalis</i>
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1636	No	d	<i>Physalis gracilis</i> (0)	<i>Physalis</i>	Solanaceae	<i>Physalis gracilis</i>	<i>Physalis</i>
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1637	No	d	<i>Physalis gracilis</i> (0)	<i>Physalis</i>	Solanaceae	<i>Physalis gracilis</i>	<i>Physalis</i>
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1638	No	d	<i>Physalis gracilis</i> (0)	<i>Physalis</i>	Solanaceae	<i>Physalis gracilis</i>	<i>Physalis</i>
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1639	No	d	<i>Physalis gracilis</i> (0)	<i>Physalis</i>	Solanaceae	<i>Physalis gracilis</i>	<i>Physalis</i>
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1641A	No	b	<i>Hyptis mutabilis</i> , <i>Hyptis pectinata</i> (0.02564)	NA	<i>Hyptis</i>	<i>Hyptis</i>	Lamiaceae
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1654	No	d	<i>Physalis gracilis</i> (0)	<i>Physalis</i>	Solanaceae	<i>Physalis gracilis</i>	<i>Physalis</i>
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1655	No	d	<i>Physalis gracilis</i> (0.00378)	<i>Physalis</i>	<i>Physalis</i>	<i>Physalis gracilis</i>	<i>Physalis</i>
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1659	No	d	<i>Physalis gracilis</i> (0.00207)	<i>Physalis</i>	Solanaceae	<i>Physalis gracilis</i>	<i>Physalis</i>
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1661	No	d	<i>Physalis gracilis</i> (0.00207)	<i>Physalis</i>	Solanaceae	<i>Physalis gracilis</i>	<i>Physalis</i>
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1665	No	d	<i>Physalis pruinosa</i> (0)	<i>Physalis</i>	Solanaceae	<i>Physalis pruinosa</i>	<i>Physalis</i>
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1669A	No	b	<i>Physalis angulata</i> , Solanaceae sp NPL0004 (0)	Solanaceae	Solanaceae	Solanaceae	Solanaceae
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1669C	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1919	No	d	<i>Physalis gracilis</i> (0)	<i>Physalis</i>	Solanaceae	<i>Physalis gracilis</i>	<i>Physalis</i>

65	CAS212	<i>Parorectis rugosa</i>	IBE-JGZ-1921	No	d	<i>Physalis gracilis</i> (0)	<i>Physalis</i>	Solanaceae	<i>Physalis gracilis</i>	<i>Physalis</i>
66	CAS214		IBE-JGZ-1572A	No	b	<i>Cestrum scandens</i> (0)	<i>Cestrum scandens</i>	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum scandens</i>	<i>Cestrum</i>
66	CAS214		IBE-JGZ-1572B	No	b	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i> (0)	<i>Stachytarpheta</i>	<i>Stachytarpheta</i>	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
66	CAS214		IBE-JGZ-1631A	No	b	<i>Cestrum nocturnum</i> (0)	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum nocturnum</i>	<i>Cestrum</i>
66	CAS214		IBE-JGZ-1631B	No	b	<i>Ipomoea tricolor</i> (0)	<i>Ipomoea tricolor</i>	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
66	CAS214		IBE-JGZ-1666A	No	b	<i>Calopogonium mucunoides</i> (0)	<i>Calopogonium mucunoides</i>	<i>Calopogonium mucunoides</i>	<i>Calopogonium mucunoides</i>	Fabaceae
66	CAS214		IBE-JGZ-1666B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
larva	CAS215	<i>Coptocycla leprosa</i>	IBE-JGZ-1656	No	d	<i>Cordia gerascanthus, C. megalantha</i> (0)	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	Boraginales
larva	CAS274		IBE-JGZ-1657	No	d	<i>Cordia dentata</i> (0)	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>

## B. Hispini

Mspp.	Esp. morfomol	Taxon	Voucher	CL	TA	Mejor coincidencia (distancia)	Distancia		Criterio liberal	Criterio estricto
							1%	4%		
31	HIS205		IBE-JGZ-2030	No	d	<i>Oplismenus burmannii</i> (0)	Poaceae	Poaceae	Poaceae	Poaceae
31	HIS205		IBE-JGZ-2212A	No	b	<i>Oplismenus burmannii</i> (0.00727)	<i>Oplismenus burmannii</i>	Poaceae	Poaceae	Poaceae
31	HIS205		IBE-JGZ-2212B	No	b	Malvaceae sp NPL0596, <i>Triumfetta calderonii, T. lappula</i> (0.00263)	Malvaceae	Malvaceae	Malvaceae	Malvaceae
31	HIS205		IBE-JGZ-2212C	No	b	Fabaceae sp NPL0243 (0)	Fabaceae sp NPL0243	NA	Fabaceae	Fabaceae
31	HIS205		IBE-JGZ-2213	No	b	<i>Pfafia aurata</i> (0)	<i>Pfafia aurata</i>	<i>Pfafia aurata</i>	<i>Pfafia aurata</i>	Amaranthaceae
31	HIS205		IBE-JGZ-2393	No	d	<i>Lasiacis ruscifolia</i> , Poaceae sp NPL0224 (0)	Poaceae	Poaceae	Poaceae	Poaceae
32	HIS256		IBE-JGZ-2223A	No	b	<i>Lasiacis ruscifolia</i> , Poaceae sp NPL0224 (0)	Poaceae	Poaceae	Poaceae	Poaceae
32	HIS256		IBE-JGZ-2223B	No	b	<i>Cyclanthera carthaginensis, Rytidostylis gracilis</i>	Sicyoae	Sicyoae	Sicyoae	Sicyoae

					(0)				
33	HIS206	IBE-JGZ-2396A	No	b	<i>Sida spinosa</i> (0.05679)	NA	NA	<i>Sida spinosa</i>	Malvoideae
33	HIS206	IBE-JGZ-2396C	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
34	HIS269	IBE-JGZ-2499A	No	b	<i>Cestrum megalophyllum, C. tomentosum</i> (0)	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum</i>	Solanaceae
34	HIS269	IBE-JGZ-2499B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
35	HIS208	IBE-JGZ-2001	No	d	Fabaceae sp NPL0547 (0.00367)	Fabaceae sp NPL0547	NA	Fabaceae sp NPL0547	Fabaceae
35	HIS208	IBE-JGZ-2009	No	d	<i>Calopogonium caeruleum</i> , Fabaceae sp NPL0211 (0.00306)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
35	HIS208	IBE-JGZ-2016	No	d	<i>Calopogonium caeruleum</i> , Fabaceae sp NPL0211 (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
35	HIS208	IBE-JGZ-2228	No	d	Fabaceae sp NPL0408 (0)	Fabaceae sp NPL0408	NA	Fabaceae sp NPL0408	Fabaceae
35	HIS208	IBE-JGZ-2232A	No	b	<i>Gmelina villosa</i> (0)	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina</i>	<i>Gmelina</i>	Lamiaceae
35	HIS208	IBE-JGZ-2232B	No	b	Fabaceae sp NPL0243 (0)	Fabaceae sp NPL0243	NA	Fabaceae	Fabaceae
35	HIS208	IBE-JGZ-2235	No	d	Fabaceae sp NPL0243 (0)	Fabaceae sp NPL0243	NA	Fabaceae sp NPL0243	Fabaceae
35	HIS208	IBE-JGZ-2236	No	d	Fabaceae sp NPL0547 (0.00749)	Fabaceae sp NPL0547	NA	Fabaceae sp NPL0547	Fabaceae
35	HIS208	IBE-JGZ-2239A	No	b	Fabaceae sp NPL0614 (0.04545)	NA	NA	Fabaceae	Fabaceae
35	HIS208	IBE-JGZ-2239B	No	b	<i>Gmelina villosa</i> (0.00563)	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina</i>	<i>Gmelina</i>	Lamiaceae
35	HIS208	IBE-JGZ-2240A	No	b	<i>Gmelina villosa</i> (0.00563)	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina</i>	<i>Gmelina</i>	Lamiaceae
35	HIS208	IBE-JGZ-2373	No	d	Fabaceae sp NPL0243 (0)	Fabaceae sp NPL0243	NA	Fabaceae	Fabaceae
35	HIS208	IBE-JGZ-2387A	No	b	<i>Mimosa albida</i> (0)	<i>Mimosa albida</i>	<i>Mimosa</i>	<i>Mimosa albida</i>	<i>Mimosa</i>
35	HIS208	IBE-JGZ-2387B	No	b	<i>Cordia dentata</i> (0)	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>
35	HIS208	IBE-JGZ-2387C	No	b	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0.00414)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
36	HIS209	IBE-JGZ-2233	No	d	Fabaceae sp NPL0547 (0.00749)	Fabaceae sp NPL0547	NA	Fabaceae sp NPL0547	Fabaceae
36	HIS209	IBE-JGZ-2237	No	d	Fabaceae sp NPL0547 (0.00749)	Fabaceae sp NPL0547	NA	Fabaceae sp NPL0547	Fabaceae
37	HIS261	IBE-JGZ-1997	No	d	<i>Senna papillosa</i> (0)	<i>Senna papillosa</i>	<i>Senna papillosa</i>	<i>Senna papillosa</i>	<i>Senna</i>
37	HIS261	IBE-JGZ-2369A	No	b	<i>Senna papillosa</i> (0.00280)	<i>Senna papillosa</i>	<i>Senna papillosa</i>	<i>Senna papillosa</i>	<i>Senna</i>

37	HIS261		IBE-JGZ-2369B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
38	HIS207	<i>Chalepus bellulus</i>	IBE-JGZ-2010	No	d	<i>Arthraxon hispidus</i> (0.00325) <i>Arthraxon hispidus</i> , <i>Bothriochloa ischaemum</i> , <i>Chrysopogon gryllus</i> , <i>Sorghastrum nutans</i> (0.00265)	Andropogoneae	Poaceae	<i>Arthraxon hispidus</i>	Poaceae
38	HIS207	<i>Chalepus bellulus</i>	IBE-JGZ-2011	No	d	<i>Digitaria ciliaris</i> , <i>D. macroblephara</i> , <i>D. radicosa</i> , <i>D. bicornis</i> , <i>D. sanguinalis</i> (0)	Andropogoneae	Poaceae	Poaceae	Poaceae
38	HIS207	<i>Chalepus bellulus</i>	IBE-JGZ-2023	No	d	<i>Panicum trichanthum</i> (0)	Poaceae	Poaceae	<i>Panicum trichanthum</i>	Poaceae
38	HIS207	<i>Chalepus bellulus</i>	IBE-JGZ-2342A	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
38	HIS207	<i>Chalepus bellulus</i>	IBE-JGZ-2377B	No	b	<i>Inga sapindoides</i> , <i>I. vera</i> , <i>I. edulis</i> , <i>I. punctata</i> , <i>I. thibaudiana</i> (0.00259)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
39	HIS200		IBE-JGZ-2022A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
39	HIS200		IBE-JGZ-2395	No	d	<i>Lasiacis ruscifolia</i> , Poaceae sp NPL0224 (0)	Poaceae	Poaceae	Poaceae	Poaceae
40	HIS270	<i>Platothispa championi</i>	IBE-JGZ-2502	No	b	<i>Xylosma flexuosa</i> (0.00970)	<i>Xylosma flexuosa</i>	<i>Xylosma flexuosa</i>	<i>Bytneria aculeata</i>	Salicaceae
41	HIS254		IBE-JGZ-2005	No	d	<i>Bytneria aculeata</i> (0)	<i>Bytneria aculeata</i>	<i>Bytneria aculeata</i>	<i>Sida spinosa</i>	Malvaceae
41	HIS254		IBE-JGZ-2007	No	d	<i>Sida spinosa</i> (0.02597)	NA	NA	<i>Sida spinosa</i>	Malvoideae
41	HIS202		IBE-JGZ-2127	No	d	<i>Melochia tomentosa</i> (0.05378)	NA	NA	<i>Melochia tomentosa</i>	Malvaceae
41	HIS202		IBE-JGZ-2345	No	d	<i>Sida spinosa</i> (0.05159)	NA	NA	<i>Sida spinosa</i>	Malvoideae
41	HIS202		IBE-JGZ-2348B	No	b	<i>Calopogonium mucunoides</i> (0)	<i>Calopogonium mucunoides</i>	<i>Calopogonium mucunoides</i>	<i>Calopogonium mucunoides</i>	Fabaceae
41	HIS202		IBE-JGZ-2348C	No	b	<i>Casearia praecox</i> (0.02459)	NA	<i>Casearia praecox</i>	<i>Casearia</i>	Samydeae
41	HIS202		IBE-JGZ-2371B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
41	HIS202		IBE-JGZ-2374A	No	b	Malvaceae sp NPL0596, <i>Triumfetta calderonii</i> , <i>T. lappula</i> (0)	Malvaceae	Malvaceae	Malvaceae	Malvaceae
41	HIS202		IBE-JGZ-2379B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
41	HIS202		IBE-JGZ-2390	No	d	Malvaceae sp NPL0596, <i>Triumfetta calderonii</i> , <i>T. lappula</i> (0)	Malvaceae	Malvaceae	Malvaceae	Malvaceae
42	HIS259	<i>Anisostena</i>	IBE-JGZ-2349	No	b	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna</i>	NA	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae

		<i>pilatei</i>							
43	HIS255	<i>Sumitrosis distinctus</i>	IBE-JGZ-2026	No	d	<i>Delilia biflora</i> (0)	<i>Delilia biflora</i>	<i>Delilia biflora</i>	<i>Delilia biflora</i>
44	HIS266	<i>Sumitrosis pallicens</i>	IBE-JGZ-2207A	No	b	<i>Solanum myriacanthum</i> (0.01224)	NA	<i>Solanum</i>	<i>Solanum</i>
44	HIS266	<i>Sumitrosis pallicens</i>	IBE-JGZ-2365B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
44	HIS266	<i>Sumitrosis pallicens</i>	IBE-JGZ-2401	No	d	Fabaceae sp NPL0243 (0.02372)	NA	NA	Fabaceae
45	HIS201	<i>Ochispa elevata</i>	IBE-JGZ-2220A	No	b	Malvaceae sp NPL0596, <i>Triumfetta calderonii</i> , <i>T. latipula</i> (0)	Malvaceae	Malvaceae	Malvaceae
45	HIS201	<i>Ochispa elevata</i>	IBE-JGZ-2220B	No	b	Fabaceae sp NPL0243 (0)	Fabaceae sp NPL0243	NA	Fabaceae
45	HIS257	<i>Ochispa elevata</i>	IBE-JGZ-2229A	No	b	<i>Serjania lobulata</i> , <i>S. triquetra</i> (0)	<i>Serjania</i>	<i>Serjania</i>	Sapindaceae
45	HIS201	<i>Ochispa elevata</i>	IBE-JGZ-2378B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
45	HIS201	<i>Ochispa elevata</i>	IBE-JGZ-2388	No	d	<i>Serjania lobulata</i> , <i>S. paniculata</i> , <i>S. triquetra</i> (0.00655)	<i>Serjania</i>	<i>Serjania</i>	Sapindaceae
46	HIS263		IBE-JGZ-2381B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
47	HIS268		IBE-JGZ-2498A	No	b	<i>Salvia purpurea</i> (0)	<i>Salvia</i>	Lamiaceae	Salvia purpurea
48	HIS204	<i>Brachycoryna pumila</i>	IBE-JGZ-2029	No	d	<i>Sida rhombifolia</i> (0.02958)	NA	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>
48	HIS204	<i>Brachycoryna pumila</i>	IBE-JGZ-2134	No	d	<i>Sida rhombifolia</i> (0.02597)	NA	<i>Sida rhombifolia</i>	<i>Sida</i>
48	HIS204	<i>Brachycoryna pumila</i>	IBE-JGZ-2210	No	d	<i>Sida rhombifolia</i> (0)	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	Malvaceae
48	HIS204	<i>Brachycoryna pumila</i>	IBE-JGZ-2211	No	d	<i>Sida spinosa</i> (0.05159)	NA	NA	<i>Sida spinosa</i>
48	HIS204	<i>Brachycoryna pumila</i>	IBE-JGZ-2214B	No	b	Fabaceae sp NPL0243 (0)	Fabaceae sp NPL0243	NA	Fabaceae
48	HIS204	<i>Brachycoryna pumila</i>	IBE-JGZ-2344	No	d	<i>Sida rhombifolia</i> (0.00367)	<i>Sida rhombifolia</i>	<i>Sida</i>	Malvaceae
48	HIS204	<i>Brachycoryna pumila</i>	IBE-JGZ-2350	No	b	<i>Chiococca alba</i> (0.00775)	<i>Chiococca alba</i>	Chiococceae	Cinchonoideae
48	HIS204	<i>Brachycoryna</i>	IBE-JGZ-2383	No	d	<i>Sida acuta</i> (0.01799)	NA	<i>Sida acuta</i>	<i>Sida acuta</i>

48	HIS204	<i>Brachycoryna pumila</i>	IBE-JGZ-2386A	No	b	Malvaceae sp NPL0596, <i>Triumfetta calderonii</i> , <i>T. lappula</i> (0) (0.00533)	Malvaceae	Malvaceae	Malvaceae	Malvaceae
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2004	No	d	<i>Sida rhombifolia</i> (0.00267)	<i>Sida rhombifolia</i>	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	Malvaceae
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2209A	No	b	<i>Sida rhombifolia</i> (0)	<i>Sida</i>	Malvoideae	<i>Sida</i>	Malvaceae
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2209B	No	b	<i>Sida rhombifolia</i> , <i>S. acuta</i> (0)	<i>Sida</i>	Malvoideae	<i>Sida</i>	Malvaceae
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2217A	No	b	<i>Malvastrum guatemalense</i> (0)	<i>Malvastrum guatemalense</i>	Malvaceae	<i>Malvastrum guatemalense</i>	Malvaceae
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2217B	No	b	<i>Sida acuta</i> (0.01041)	NA	<i>Sida acuta</i>	<i>Sida acuta</i>	<i>Sida</i>
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2217C	No	b	Fabaceae sp NPL0243 (0)	Fabaceae sp NPL0243	NA	Fabaceae	Fabaceae
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2218	No	d	<i>Malvastrum guatemalense</i> (0)	<i>Malvastrum guatemalense</i>	Malvaceae	<i>Malvastrum guatemalense</i>	Malvaceae
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2227	No	d	Malvaceae sp NPL0220, Malvaceae sp NPL0380 (0.00188)	Malvaceae	Malvaceae	Malvaceae	Malvaceae
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2231	No	d	<i>Malvastrum guatemalense</i> (0), <i>Triumfetta calderonii</i> , <i>T. lappula</i> (0)	Malvaceae	Malvaceae	Malvaceae	Malvaceae
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2343A	No	b	<i>Sida rhombifolia</i> , <i>S. spinosa</i> (0.00515)	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	Malvaceae
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2343B	No	b	<i>Euphorbia hyssopifolia</i> , Euphorbiaceae sp NPL0135 (0)	Euphorbiaceae	Euphorbiaceae	Euphorbiaceae	Euphorbiaceae
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2346A	No	b	<i>Sapranthus palanga</i> , <i>S. violaceus</i> (0)	<i>Sapranthus</i>	Annonaceae	<i>Sapranthus</i>	<i>Sapranthus</i>
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2370B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2372B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2384A	No	b	<i>Oplismenus burmannii</i> (0.00350)	Poaceae	Poaceae	Poaceae	Poaceae
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2384B	No	b	<i>Sida spinosa</i> (0.02884)	NA	<i>Sida</i>	<i>Sida spinosa</i>	Malvoideae
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2384C	No	b	<i>Calopogonium mucunoides</i> (0.01048)	NA	<i>Calopogonium mucunoides</i>	<i>Calopogonium mucunoides</i>	Fabaceae
49	HIS203	<i>Heterispa</i>	IBE-JGZ-2389A	No	b	<i>Pseudosamanea guachapele</i> (0)	Mimosoideae	Fabaceae	<i>Pseudosamanea</i>	Fabaceae

			<i>vinula</i>						<i>guachapele</i>		
49	HIS203	<i>Heterispa vinula</i>	IBE-JGZ-2389B	No	b	<i>Cordia collococca</i> (0)		<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>
50	HIS199	<i>Microrhopala perforata</i>	IBE-JGZ-2130	No	d	<i>Varronia multispicata</i> (0.00769)		Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
50	HIS199	<i>Microrhopala perforata</i>	IBE-JGZ-2208A	No	b	<i>Gmelina villosa</i> (0.00852)		<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina</i>	Lamiaceae
50	HIS199	<i>Microrhopala perforata</i>	IBE-JGZ-2208B	No	b	<i>Calopogonium mucunoides</i> (0)		<i>Calopogonium mucunoides</i>	<i>Calopogonium mucunoides</i>	<i>Calopogonium mucunoides</i>	Fabaceae
50	HIS199	<i>Microrhopala perforata</i>	IBE-JGZ-2222A	No	b	<i>Solanum americanum</i> (0.00205)		<i>Solanum</i>	<i>Solanum</i>	<i>Solanum</i>	<i>Solanum</i>
50	HIS199	<i>Microrhopala perforata</i>	IBE-JGZ-2222B	No	b	<i>Salvia rutilans</i> (0.02849)		NA	Lamiaceae	Lamiaceae	Lamiaceae
50	HIS199	<i>Microrhopala perforata</i>	IBE-JGZ-2230	No	d	<i>Melanthera nivea</i> (0)		Heliantheae	Asteraceae	<i>Melanthera nivea</i>	Heliantheae
50	HIS199	<i>Microrhopala perforata</i>	IBE-JGZ-2400B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)		NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
50	HIS199	<i>Microrhopala perforata</i>	IBE-JGZ-2400C	No	b	<i>Fabaceae</i> sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0.01298)		NA	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
51	HIS198	<i>Pentisia clarckella</i>	IBE-JGZ-1998	No	d	<i>Elephantopus mollis</i> (0.03580)		NA	Asteraceae	Vernonieae	Asteraceae
51	HIS198	<i>Pentisia clarckella</i>	IBE-JGZ-2013	No	d	<i>Synedrella nodiflora</i> (0.00214)		<i>Synedrella nodiflora</i>	Heliantheae	<i>Synedrella nodiflora</i>	Heliantheae
51	HIS198	<i>Pentisia clarckella</i>	IBE-JGZ-2219	No	d	<i>Wedelia tegetis</i> (0.00384)		<i>Wedelia tegetis</i>	Heliantheae	<i>Wedelia tegetis</i>	Heliantheae
51	HIS198	<i>Pentisia clarckella</i>	IBE-JGZ-2234A	No	b	<i>Melanthera nivea</i> (0)		Heliantheae	Asteraceae	<i>Melanthera nivea</i>	Heliantheae
51	HIS198	<i>Pentisia clarckella</i>	IBE-JGZ-2234B	No	b	<i>Phaseolus vulgaris</i> (0)		<i>Phaseolus vulgaris</i>	Fabaceae	<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>
51	HIS198	<i>Pentisia clarckella</i>	IBE-JGZ-2397A	No	b	<i>Lasianthaea macrocephala</i> (0.01131)		NA	Heliantheae	Heliantheae	Heliantheae
52	HIS264	<i>Euprionota aterrima</i>	IBE-JGZ-2382A	No	b	<i>Vernonia deppeana</i> , Asteraceae sp NPL0070 (0)		Asteraceae	Asteraceae	Asteraceae	Asteraceae
52	HIS264	<i>Euprionota aterrima</i>	IBE-JGZ-2382C	No	b	<i>Cucurbitaceae</i> sp NPL0058, <i>Cucurbitaceae</i> sp NPL0017 (0)		NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
53	HIS267		IBE-JGZ-2497A	No	b	<i>Cacosmia harlingii</i> , <i>Stephanbeckia plumosa</i> (0.02661)		NA	Liabeae	Liabeae	Liabeae
53	HIS267		IBE-JGZ-2497B	No	b	<i>Hamelia axillaris</i> (0.05670)		NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae

54	HIS265	IBE-JGZ-2391B	No	b	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0.00414)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	
54	HIS265	IBE-JGZ-2392A	No	b	<i>Cissus biformifolia</i> , <i>C. verticillata</i> (0)	<i>Cissus</i>	Vitaceae	Vitaceae	Vitaceae	
54	HIS265	IBE-JGZ-2392B	No	b	<i>Chiococca alba</i> (0.00387)	<i>Chiococca alba</i>	Chiococceae	Cinchonoideae	Rubiaceae	
54	HIS265	IBE-JGZ-2398	No	d	<i>Cordia alliodora</i> (0)	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	Boraginales	
54	HIS265	IBE-JGZ-2399	No	b	<i>Cordia colluccia</i> (0.00813)	<i>Cordia colluccia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	
56	HIS262	<i>Cephaloleia trinitatis</i>	IBE-JGZ-2380B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
57	HIS197	<i>Cephaloleia belti</i>	IBE-JGZ-2367B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
57	HIS197	<i>Cephaloleia belti</i>	IBE-JGZ-2376B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
58	HIS244	<i>Imatidium thoracicum</i>	IBE-JGZ-2270A	No	b	<i>Heliconia nutans</i> (0.00699)	<i>Heliconia nutans</i>	<i>Heliconia</i>	Zingiberales	Zingiberales
58	HIS244	<i>Imatidium thoracicum</i>	IBE-JGZ-2270B	No	b	<i>Sida rhombifolia</i> (0.03030)	NA	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	Malvaceae
61	HIS258	<i>Sceloenopla ampliata</i>	IBE-JGZ-2003	No	d	<i>Tetracera volubilis</i> (0.00357)	<i>Tetracera volubilis</i>	Dilleniaceae	<i>Tetracera volubilis</i>	Dilleniaceae
61	HIS258	<i>Sceloenopla ampliata</i>	IBE-JGZ-2241	No	d	<i>Tetracera volubilis</i> (0.01158)	NA	Dilleniaceae	<i>Tetracera volubilis</i>	Dilleniaceae
69	HIS273	<i>Xenochalepus rufithorax</i>	IBE-JGZ-2366B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae

## Subfamilia: Galerucinae

### C. Alticini

Mspp.	Esp. morfomol	Taxon	Voucher	CL	TA	Mejor coincidencia (distancia)	Distancia 1%	Distancia 4%	Criterio liberal	Criterio estricto	
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-1119	No	d	<i>Gmelina villosa</i> (0.005)	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina</i>	Lamiaceae	
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-1132	No	d	<i>Cordia dentata</i> (0)	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-1156A	No	b	<i>Salvia rutilans</i> (0.02849)	NA	Lamiaceae	<i>Salvia</i>	Lamiaceae	
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-1156B	No	b	<i>Salix aurita</i> , <i>S. arctica</i> , <i>S. arbusculoides</i> , <i>S. baralayi</i> , <i>S. barrattiana</i> , <i>S. brachycarpa</i> , <i>S. caprea</i> , <i>S. cinerea</i> , <i>S. cordata</i> , <i>S. drummondiana</i> , <i>S. eriocephala</i> , <i>S. glauca</i> , <i>S. lapponum</i> , <i>S. myrsinifolia</i> , <i>S. myrsinites</i> , <i>S. nivalis</i> , <i>S. phyllicifolia</i> , <i>S. polaris</i> , <i>S. pseudomyrsinites</i> , <i>S. pseudomonticola</i> , <i>S. purpurea</i> , <i>S. reticulata</i> , <i>S. sconleriana</i> , <i>S. sitchensis</i> (0)	<i>Salix</i>	<i>Salix</i>	<i>Salix</i>		Salicaceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-1178	No	d	<i>Tabebuia rosea</i> (0)	<i>Tabebuia rosea</i>	NA	<i>Tabebuia rosea</i>	Tabebuia alliance	
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-1193	No	d	<i>Lantana camara</i> (0)	NA	Lantaneae	Pentapetalae	Lantaneae	
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-1240	No	d	<i>Lantana camara</i> (0)	NA	Lantaneae	Pentapetalae	Lantaneae	
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-1426	No	d	<i>Buddleja americana</i> , <i>Scrophulariaceae</i> sp NPL0007 (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae sp NPL0007	Scrophulariaceae	
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-1806	No	d	<i>Tecoma stans</i> (0)	<i>Tecoma stans</i>	<i>Tecoma stans</i>	<i>Tecoma stans</i>	Bignoniaceae	
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-1811	No	d	<i>Tecoma stans</i> (0)	<i>Tecoma stans</i>	<i>Tecoma stans</i>	<i>Tecoma stans</i>	Bignoniaceae	
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-1819A	No	b	<i>Tabebuia rosea</i> (0)	<i>Tabebuia rosea</i>	NA	<i>Tabebuia rosea</i>	Tabebuia alliance	
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-1819B	No	b	<i>Hamelia patens</i> (0)	<i>Hamelia patens</i>	<i>Hamelia</i>	<i>Hamelia patens</i>	<i>Hamelia</i>	
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-1820	No	d	<i>Lantana camara</i> (0)	NA	Lantaneae	Pentapetalae	Lantaneae	

1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-1823	No	d	<i>Priva lappulacea</i> (0.07812)	NA	NA	<i>Priva lappulacea</i>	Verbenaceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-1824	No	d	<i>Ruellia blechum</i> (0.00617)	<i>Ruellia blechum</i>	<i>Ruellia blechum</i>	<i>Ruellia blechum</i>	<i>Ruellia</i>
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-2667	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-2791A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-2791B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3416	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00317)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3417	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00235)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3418	Si	d	<i>Parietaria officinalis</i> (0.015)	NA	<i>Parietaria officinalis</i>	<i>Parietaria officinalis</i>	Rosales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3419A	Si	b	<i>Bursera ovalifolia</i> , <i>B. simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	unclassified Burseraceae	unclassified Burseraceae	unclassified Burseraceae	Burseraceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3419B	Si	b	<i>Vitex rotundifolia</i> , <i>V. trifolia</i> (0)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3421	Si	d	<i>Tabebuia rosea</i> (0.00289)	<i>Tabebuia rosea</i>	NA	<i>Tabebuia rosea</i>	Tabebuia alliance
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3422A	Si	b	<i>Bursera ovalifolia</i> , <i>B. simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	unclassified Burseraceae	unclassified Burseraceae	unclassified Burseraceae	Burseraceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3422B	Si	b	<i>Vitex rotundifolia</i> (0)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3422C	Si	b	<i>Cayaponia jenmanii</i> , <i>C. ophthalmica</i> (0.03703)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3526	Si	d	<i>Vitex trifolia</i> (0.00890)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3527	Si	d	<i>Vitex trifolia</i> (0.00286)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3529	Si	d	<i>Vitex trifolia</i> (0.01173)	NA	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3530	Si	d	<i>Vitex trifolia</i> (0.01183)	NA	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3531	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00264)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3532A	Si	b	<i>Vitex rotundifolia</i> (0.00623)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3532B	Si	b	<i>Cordia dentata</i> (0.00313)	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3533	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00265)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3534	Si	d	<i>Vitex trifolia</i> (0.00859)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3535	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00277)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3536	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00343)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3537	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00275)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3538	Si	d	<i>Vitex trifolia</i> (0.00877)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales

1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3539	Si	d	<i>Vitex trifolia</i> (0.00895)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3540	Si	d	<i>Vitex trifolia</i> (0.00583)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3541	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00265)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3542	Si	d	<i>Vitex trifolia</i> (0.00879)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3543	Si	d	<i>Vitex negundo, V. trifolia</i> (0.00325)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3544	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00236)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3545	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00263)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3547	Si	d	<i>Vitex trifolia</i> (0.00286)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3548	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00262)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3549	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00275)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3550	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00273)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3551	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00249)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3552	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00238)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3553	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00267)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3556	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00234)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3557	Si	d	<i>Vitex trifolia</i> (0)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3558	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00266)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3559	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00236)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3560	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00266)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3561	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00265)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3562	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00264)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3563	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00233)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3564	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00233)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3565	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00233)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3566	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00235)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3567	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00265)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3568	Si	d	<i>Vitex negundo</i> (0.00234)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3571	Si	d	<i>Lantana camara</i> (0) <i>Buddleja americana,</i>	NA	Lantaneae	Pentapetalae	Lantaneae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3572	Si	d	<i>Scrophulariaceae</i> sp NPL0007 (0) <i>Buddleja americana,</i>	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae sp NPL0007	Scrophulariaceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3574	Si	d	<i>Scrophulariaceae</i> sp NPL0007 (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	<i>Buddleja</i> <i>americana</i>	Scrophulariaceae

1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3575	Si	d	<i>Buddleja americana</i> , Scrophulariaceae sp NPL0007 (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae sp NPL0007	Scrophulariaceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3576	Si	d	<i>Buddleja americana</i> , Scrophulariaceae sp NPL0007 (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	<i>Buddleja americana</i>	Scrophulariaceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3577A	Si	b	<i>Rhodomyrtus tomentosa</i> (0)	<i>Rhodomyrtus tomentosa</i>	Myrtaceae	<i>Rhodomyrtus tomentosa</i>	Myrtaceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3577B	Si	d	<i>Buddleja americana</i> , Scrophulariaceae sp NPL0007 (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	<i>Buddleja americana</i>	Scrophulariaceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3578	Si	d	<i>Buddleja americana</i> , Scrophulariaceae sp NPL0007 (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	<i>Buddleja americana</i>	Scrophulariaceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3579	Si	d	<i>Buddleja americana</i> , Scrophulariaceae sp NPL0007 (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae sp NPL0007	Scrophulariaceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3581	Si	d	<i>Buddleja americana</i> , Scrophulariaceae sp NPL0007 (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	<i>Buddleja americana</i>	Scrophulariaceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3582	Si	d	<i>Buddleja americana</i> , Scrophulariaceae sp NPL0007 (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae sp NPL0007	Scrophulariaceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3583	Si	d	<i>Buddleja americana</i> , Scrophulariaceae sp NPL0007 (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae sp NPL0007	Scrophulariaceae
1	ALT18	<i>Walterianella venustula</i>	IBE-JGZ-3584	Si	d	<i>Morus alba</i> (0.05263)	NA	NA	<i>Milicia</i>	Moraceae
2	ALT17	<i>Walterianella exocosta</i>	IBE-JGZ-2687A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
2	ALT17	<i>Walterianella exocosta</i>	IBE-JGZ-2687B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
2	ALT18	<i>Walterianella exocosta</i>	IBE-JGZ-3420	Si	b	<i>Arrabidaea patellifera</i> (0.03076)	NA	Bignonieae	Bignonieae	Bignonieae
3	ALT16	<i>Walterianella tenuicincta</i>	IBE-JGZ-2545A	No	b	<i>Mangifera indica</i> (0.00392)	<i>Mangifera indica</i>	<i>Mangifera indica</i>	<i>Mangifera indica</i>	Anacardiaceae
3	ALT16	<i>Walterianella tenuicincta</i>	IBE-JGZ-2545B	No	b	<i>Momordica charantia</i> (0.00512)	<i>Momordica</i>	Cucurbitaceae	<i>Momordica</i>	Cucurbitaceae
3	ALT16	<i>Walterianella tenuicincta</i>	IBE-JGZ-2581	No	d	<i>Tabebuia rosea</i> (0)	<i>Tabebuia rosea</i>	NA	<i>Tabebuia rosea</i>	Tabebuia alliance

4	ALT20	<i>Walterianella oculeta</i>	IBE-JGZ-1157	No	d	<i>Tabebuia rosea</i> (0)	<i>Tabebuia rosea</i>	NA	<i>Tabebuia rosea</i>	Tabebuia alliance
4	ALT20	<i>Walterianella oculeta</i>	IBE-JGZ-2538	No	b	<i>Callichlamys latifolia</i> (0)	<i>Callichlamys latifolia</i>	<i>Callichlamys latifolia</i>	<i>Callichlamys latifolia</i>	Bignoniaceae
4	ALT20	<i>Walterianella oculeta</i>	IBE-JGZ-2552A	No	b	<i>Callichlamys latifolia</i> (0) <i>Gonzagamnia spicata</i> , <i>Timonius timon</i> ,	<i>Callichlamys latifolia</i>	<i>Callichlamys latifolia</i>	<i>Callichlamys latifolia</i>	Bignoniaceae
4	ALT20	<i>Walterianella sublineata</i>	IBE-JGZ-2688	No	d	<i>Neolaugeria resinosa</i> , <i>Stenostomum lucidum</i> (0.08)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
5	ALT21	<i>Walterianella signata?</i>	IBE-JGZ-1847A	No	b	<i>Bursera ovalifolia</i> , <i>B. simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	unclassified Burseraceae	unclassified Burseraceae	unclassified Burseraceae	Burseraceae
5	ALT21	<i>Walterianella signata?</i>	IBE-JGZ-2677	No	d	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.04945)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
5	ALT21	<i>Walterianella signata?</i>	IBE-JGZ-2686	No	d	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.04945)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
7	ALT102	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-1077	No	d	<i>Aphelandra scabra</i> (0)	<i>Aphelandra scabra</i>	<i>Aphelandra</i>	<i>Aphelandra scabra</i>	<i>Aphelandra</i>
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-1079	No	d	<i>Tabebuia chrysantha</i> (0)	Tabebuia alliance	NA	Bignoniaceae	Bignoniaceae
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-1083B	No	b	<i>Arrabidaea patellifera</i> (0.03076)	NA	Bignonieae	Bignoniaceae	Bignoniaceae
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-1112	No	d	<i>Tecoma stans</i> (0) <i>Lantana urticifolia</i> , <i>L. hirta</i> (0)	<i>Tecoma stans</i>	<i>Tecoma stans</i>	<i>Tecoma stans</i>	Bignoniaceae
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-1126	No	d	<i>Citharexylum candatum</i> , <i>C. fruticosum</i> (0)	NA	Lantaneae	<i>Lantana</i>	<i>Lantana</i>
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-1127	No	d	<i>Citharexylum candatum</i> , <i>C. fruticosum</i> (0)	<i>Citharexylum</i>	<i>Citharexylum</i>	<i>Citharexylum</i>	Verbenaceae
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-1138A	No	b	<i>Poitea florida</i> (0.03571)	NA	<i>Poitea florida</i>	Poitea	Fabaceae
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-1138B	No	b	<i>Dalbergia assamica</i> , <i>D. lanceolaria</i> (0.03508)	NA	<i>Dalbergia</i>	<i>Dalbergia</i>	Fabaceae
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-1140A	No	b	<i>Aralia excelsa</i> , <i>A. soratensis</i> (0.01149)	NA	Araliaceae	Araliaceae	Araliaceae
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-1140B	No	b	<i>Cayaponia caboclia</i> , <i>C. palmata</i> (0) <i>Samanea saman</i> ,	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-1140C	No	b	Fabaceae sp NPL0462 (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae

7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-1150A	No	b	<i>Acanthocereus tetragonus</i> (0)	Echinocereeae	Cactoideae	<i>Acanthocereus tetragonus</i>	Echinocereeae
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-1150B	No	b	<i>Casearia barteri</i> (0.06399)	NA	NA	<i>Samydeae</i>	<i>Samydeae</i>
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-1154	No	d	<i>Priva lappulacea</i> (0.07812)	NA	NA	<i>Priva lappulacea</i>	<i>Verbenaceae</i>
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-1414	No	b	<i>Apbelandra scabra</i> (0)	<i>Apbelandra scabra</i>	<i>Apbelandra</i>	<i>Apbelandra scabra</i>	<i>Apbelandra</i>
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-1800	No	d	<i>Lantana camara</i> (0)	NA	Lantaneae	Pentapetalae	Lantaneae
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-1844	No	d	<i>Priva lappulacea</i> (0.07812)	NA	NA	<i>Priva lappulacea</i>	<i>Verbenaceae</i>
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-2698	No	d	<i>Dolichandra unguis cati</i> (0.06181)	NA	NA	Bignoniaceae	Bignoniaceae
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-2700	No	d	<i>Priva lappulacea</i> (0.07812)	NA	NA	<i>Priva lappulacea</i>	<i>Verbenaceae</i>
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-3414A	Si	b	<i>Morella cerifera</i> (0)	<i>Morella</i>	<i>Morella</i>	<i>Morella</i>	<i>Morella</i>
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-3414B	Si	b	<i>Oxalis latifolia</i> (0)	<i>Oxalis latifolia</i>	<i>Oxalis latifolia</i>	<i>Oxalis latifolia</i>	<i>Oxalis</i>
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-3414C	Si	b	<i>Conostegia xalapensis</i> (0.00507)	<i>Conostegia</i> <i>xalapensis</i>	Melastomataceae	<i>Conostegia</i> <i>xalapensis</i>	Melastomataceae
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-3415	Si	d	<i>Lantana camara</i> (0)	NA	Lantaneae	Pentapetalae	Lantaneae
7	ALT24	<i>Alagoasa longuttata</i>	IBE-JGZ-3587	Si	d	<i>Lantana camara</i> (0)	NA	Lantaneae	Pentapetalae	Lantaneae
8	ALT23	<i>Alagoasa sp.</i>	IBE-JGZ-1125	No	d	<i>Lantana urticifolia</i> , L. <i>birta</i> (0)	NA	Lantaneae	<i>Lantana</i>	<i>Lantana</i>
8	ALT23	<i>Alagoasa sp.</i>	IBE-JGZ-1142	No	d	<i>Vitex trifolia</i> (0.01142)	NA	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
8	ALT23	<i>Alagoasa sp.</i>	IBE-JGZ-1845	No	d	<i>Lantana camara</i> (0)	NA	Lantaneae	Pentapetalae	Lantaneae
9	ALT131		IBE-JGZ-1149A	No	b	<i>Priva lappulacea</i> (0.07812)	NA	<i>Priva lappulacea</i>	Verbenaceae	
10	ALT26	<i>Omophoita octomaculata</i>	IBE-JGZ-1104	No	d	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i> (0)	<i>Stachytarpheta</i>	<i>Stachytarpheta</i>	<i>Stachytarpheta</i> <i>jamaicensis</i>	<i>Stachytarpheta</i> <i>jamaicensis</i>
10	ALT26	<i>Omophoita octomaculata</i>	IBE-JGZ-2666	No	d	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
10	ALT26	<i>Omophoita octomaculata</i>	IBE-JGZ-2672A	No	b	<i>Capraria biflora</i> (0)	<i>Capraria biflora</i>	<i>Capraria biflora</i>	<i>Capraria biflora</i>	Lamiales
10	ALT26	<i>Omophoita octomaculata</i>	IBE-JGZ-2672B	No	b	<i>Leonotis nepetifolia</i> (0)	<i>Leonotis nepetifolia</i>	<i>Leonotis</i>	<i>Leonotis nepetifolia</i>	<i>Leonotis</i>
10	ALT26	<i>Omophoita octomaculata</i>	IBE-JGZ-2703	No	d	<i>Guaiacum sanctum</i> (0.00540)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
10	ALT26	<i>Omophoita octomaculata</i>	IBE-JGZ-3412A	Si	b	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i> (0)	<i>Stachytarpheta</i>	<i>Stachytarpheta</i>	<i>Stachytarpheta</i> <i>jamaicensis</i>	<i>Stachytarpheta</i> <i>jamaicensis</i>
10	ALT26	<i>Omophoita octomaculata</i>	IBE-JGZ-3412B	Si	b	<i>Lonchocarpus phlebophyllus</i> (0.00819)	<i>Lonchocarpus</i> <i>phlebophyllus</i>	Fabaceae	<i>Lonchocarpus</i>	Fabaceae
10	ALT26	<i>Omophoita octomaculata</i>	IBE-JGZ-3413A	Si	b	<i>Bursera ovalifolia</i> , B. <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	unclassified Burseraceae	unclassified Burseraceae	unclassified Burseraceae	Burseraceae
10	ALT26	<i>Omophoita octomaculata</i>	IBE-JGZ-3413B	Si	b	<i>Vitex trifolia</i> (0.01183)	NA	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales



10	ALT26	<i>Omophoita octomaculata</i>	IBE-JGZ-3613	Si	d	<i>Orthosiphon wulfenoides</i> (0.05792)	NA	NA	Hyptis	Lamiaceae
10	ALT26	<i>Omophoita octomaculata</i>	IBE-JGZ-3614	Si	d	<i>Galinsoga parviflora</i> (0.02168)	NA	<i>Galinsoga</i>	<i>Galinsoga quadriradiata</i>	<i>Galinsoga</i>
10	ALT26	<i>Omophoita octomaculata</i>	IBE-JGZ-3615	Si	d	<i>Hyptis mutabilis, H. pectinata</i> (0)	<i>Hyptis</i>	<i>Hyptis</i>	<i>Hyptis</i>	<i>Hyptis</i>
11	ALT25	<i>Omophoita sp. 1</i>	IBE-JGZ-1416	No	d	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
12	ALT27		IBE-JGZ-1111	No	d	Asteraceae sp NPL0026 (0)	Asteraceae	Asteraceae	Asteraceae	Asteraceae
12	ALT27		IBE-JGZ-1423	No	d	Boraginaceae sp NPL0024, <i>Cordia curassavica, Varronia mayoi, V. sessilifolia</i> (0.00813)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
13	ALT28		IBE-JGZ-1431	No	d	<i>Buddleja americana,</i> Scrophulariaceae sp NPL0007 (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae sp NPL0007	Scrophulariaceae
13	ALT28		IBE-JGZ-2702A	No	b	<i>Cestrum megalaophyllum</i> (0)	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum</i>	Solanaceae
13	ALT28		IBE-JGZ-2702B	No	b	<i>Epiphyllum thomasianum</i> (0)	Cactoideae	Cactoideae	<i>Epiphyllum thomasianum</i>	Cactoideae
14	ALT108	<i>Omophoita sp. 2</i>	IBE-JGZ-1155	No	d	<i>Salvia rutilans</i> (0.02544)	NA	Lamiaceae	<i>Salvia</i>	Lamiaceae
16	ALT132		IBE-JGZ-2560	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
17	ALT22	<i>Disonycha sp. 1</i>	IBE-JGZ-1424	No	d	<i>Lantana urticifolia, L. hirta</i> (0)	NA	Lantaneae	<i>Lantana</i>	Lantaneae
18	ALT106	<i>Disonycha sp. 2</i>	IBE-JGZ-1130	No	d	<i>Amaranthus retroflexus, A. spinosus, A. tricolor</i> (0)	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>
18	ALT114	<i>Disonycha sp. 2</i>	IBE-JGZ-1191A	No	b	<i>Amaranthus hybridus, A. retroflexus, A. tricolor</i> (0.00423)	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	Amaranthaceae
18	ALT8	<i>Disonycha sp. 2</i>	IBE-JGZ-1915	No	d	<i>Amaranthus tricolor</i> (0)	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	Amaranthaceae
19	ALT9		IBE-JGZ-1358	No	b	<i>Chamissoa acuminata</i> (0.00348)	<i>Chamissoa acuminata</i>	<i>Chamissoa acuminata</i>	<i>Chamissoa acuminata</i>	Charpentiera
19	ALT9	<i>Disonycha sp. 3</i>	IBE-JGZ-2697	No	d	Fabaceae sp NPL0087, <i>Lonchocarpus phaeolifolius</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae

						(0.00341)				
20	ALT121	<i>Disonycha</i> sp. 4	IBE-JGZ-1805A	No	b	Asteraceae sp NPL0147, Asteraceae sp NPL0374 (0) Fabaceae sp NPL0159, Fabaceae sp NPL0059, Fabaceae sp NPL0188, <i>Mucuna pruriens</i> (0) Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	Asteraceae	Asteraceae	Asteraceae	Asteraceae
20	ALT121	<i>Disonycha</i> sp. 4	IBE-JGZ-1805B	No	b	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	
20	ALT121	<i>Disonycha</i> sp. 4	IBE-JGZ-1805C	No	b	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	
21	ALT104	<i>Disonycha</i> sp. 5	IBE-JGZ-1102A	No	b	<i>Sida rhombifolia</i> , <i>S. spinosa</i> (0.01612)	NA	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	Malvaceae
21	ALT104	<i>Disonycha</i> sp. 5	IBE-JGZ-1102B	No	b	<i>Iresine diffusa</i> (0)	<i>Iresine diffusa</i>	<i>Iresine diffusa</i>	<i>Iresine diffusa</i>	Amaranthaceae
22	ALT10	<i>Disonycha</i> sp. 6	IBE-JGZ-1129A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
22	ALT10	<i>Disonycha</i> sp. 6	IBE-JGZ-1129B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae
22	ALT10	<i>Disonycha</i> sp. 6	IBE-JGZ-2705	No	d	<i>Poiretia latifolia</i> (0.09230)	NA	NA	<i>Amicia</i>	Dalbergiaceae
23	ALT148	<i>Disonycha</i> sp. 7	IBE-JGZ-2673B	No	b	Salicaceae sp NPL0416 (0)	Salicaceae	Salicaceae	Salicaceae	Salicaceae
23	ALT148	<i>Disonycha</i> sp. 7	IBE-JGZ-2673C	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0) <i>Baccharis salicifolia</i> , <i>Conyza canadensis</i> , <i>Diplostephium</i> <i>anactinotum</i> , <i>D. lacunosum</i> , <i>D. phylloides</i> , <i>D.</i> <i>rosmarinifolium</i> , <i>D.</i> <i>rhomboideale</i> , <i>D. schultzii</i> , <i>Ericameria nauseosa</i> , <i>Erigeron annuus</i> , <i>E.</i> <i>philadelphicus</i> , <i>E.</i> <i>sumatrensis</i> , <i>E. strigosus</i> , <i>Euthamia graminifolia</i> , <i>Psiadia altissima</i> , <i>P.</i> <i>agathaeoides</i> , (0.00645)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
24	ALT156	<i>Disonycha</i> sp. 8	IBE-JGZ-2704	No	b	Astereae	Asteraceae	Asteraceae	Asteraceae	

25	ALT12	<i>Disonycha</i> sp. 9	IBE-JGZ-1110A	No	b	<i>Panicum repens</i> (0) <i>Varronia multispicata</i> (0.00819)	Poaceae	Poaceae	<i>Panicum repens</i>	Poaceae
25	ALT12	<i>Disonycha</i> sp. 9	IBE-JGZ-1110B	No	b	<i>Ipomoea aristolochiifolia</i> (0.02928)	Cordiaceae	Boraginales	Cordiaceae	Cordiaceae
25	ALT12	<i>Disonycha</i> sp. 9	IBE-JGZ-1118	No	d	<i>Bidens pilosa</i> (0)	NA	Convolvulaceae	<i>Ipomoea nil</i>	Convolvulaceae
25	ALT12	<i>Disonycha</i> sp. 9	IBE-JGZ-1420A	No	b	<i>Fabaceae</i> sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0)	Asteraceae	<i>Bidens pilosa</i>	Asteraceae	Asteraceae
25	ALT12	<i>Disonycha</i> sp. 9	IBE-JGZ-1420B	No	b	<i>Cestrum megalophyllum</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
25	ALT12	<i>Disonycha</i> sp. 9	IBE-JGZ-2701A	No	b	<i>Salvia purpurea</i> (0.00289)	Cestrum	Cestrum	Cestrum	Solanaceae
25	ALT12	<i>Disonycha</i> sp. 9	IBE-JGZ-2701B	No	b	<i>Salvia purpurea</i> (0.00289)	Lamiaceae	<i>Salvia purpurea</i>	Lamiaceae	Lamiaceae
26	ALT11	<i>Disonycha</i> sp. 10	IBE-JGZ-1134	No	d	<i>Byttneria aculeata</i> (0)	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	Malvaceae
26	ALT11	<i>Disonycha</i> sp. 10	IBE-JGZ-1177	No	d	<i>Byttneria aculeata</i> (0)	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	Malvaceae
26	ALT11	<i>Disonycha</i> sp. 10	IBE-JGZ-1245	No	d	<i>Byttneria aculeata</i> (0)	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	Malvaceae
26	ALT11	<i>Disonycha</i> sp. 10	IBE-JGZ-1248	No	d	<i>Byttneria aculeata</i> (0.00634)	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	Malvaceae
26	ALT118	<i>Disonycha</i> sp. 10	IBE-JGZ-1433A	No	b	<i>Byttneria aculeata</i> (0.00144)	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	Malvaceae
26	ALT11	<i>Disonycha</i> sp. 10	IBE-JGZ-1436A	No	b	<i>Byttneria aculeata</i> (0)	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	Malvaceae
26	ALT11	<i>Disonycha</i> sp. 10	IBE-JGZ-1677	No	d	<i>Byttneria aculeata</i> (0)	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	Malvaceae
26	ALT11	<i>Disonycha</i> sp. 10	IBE-JGZ-2536A	No	b	<i>Byttneria aculeata</i> (0)	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	Malvaceae
26	ALT11	<i>Disonycha</i> sp. 10	IBE-JGZ-2547	No	d	<i>Byttneria aculeata</i> (0.00150)	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	Malvaceae
27	ALT15		IBE-JGZ-2512	No	d	<i>Turnera diffusa</i> , <i>T. scabra</i> (0)	Turnera	Turnera	Turnera	Pentapetalae
27	ALT15		IBE-JGZ-2517	No	d	<i>Turnera diffusa</i> , <i>T. scabra</i> (0)	Turnera	Turnera	Turnera	Pentapetalae
28	ALT158		IBE-JGZ-2707	No	d	<i>Cestrum megalophyllum</i> (0)	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum</i>	Solanaceae
30	ALT14		IBE-JGZ-1107	No	d	<i>Sida rhombifolia</i> (0.00304)	<i>Sida rhombifolia</i>	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	Malvaceae
30	ALT14		IBE-JGZ-1166A	No	b	<i>Ananas comosus</i> , <i>A. ananassoides</i> (0)	Petrosaviidae	Petrosaviidae	Petrosaviidae	Petrosaviidae
30	ALT14		IBE-JGZ-1166B	No	b	<i>Sida rhombifolia</i> (0.02173)	NA	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	Malvaceae
31	ALT13		IBE-JGZ-2530A	No	b	<i>Heteropterys brachiata</i> (0.00781)	<i>Heteropterys brachiata</i>	<i>Heteropterys brachiata</i>	<i>Heteropterys brachiata</i>	Malpighiaceae
32	ALT157		IBE-JGZ-2706A	No	b	<i>Cestrum megalophyllum</i> (0)	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum</i>	Solanaceae

33	ALT7		IBE-JGZ-1088A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625) Asteraceae sp NPL0147, Asteraceae sp NPL0374, <i>Montanoa</i> <i>revealii</i> , <i>Verbesina</i> <i>jacksonii</i> (0.00943)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
33	ALT7		IBE-JGZ-1128A	No	b	<i>Ipomoea clavata</i> , <i>I. tricolor</i> (0) <i>Pithecoctenium crucigerum</i> (0)	Asteraceae	Asteraceae	<i>Verbesina</i> <i>jacksonii</i>	Heliantheae
34	ALT155		IBE-JGZ-2690	No	b	Amaranthaceae sp NPL0337 (0.00373)	Amaranthaceae	Amaranthaceae	Amaranthaceae	Amaranthaceae
35	ALT111		IBE-JGZ-1164	No	d	<i>Ipomoea clavata</i> , <i>I. tricolor</i> (0) <i>Pithecoctenium crucigerum</i> (0)	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
36	ALT4	<i>Heikertingerella</i> sp. 1	IBE-JGZ-1133	No	d	Bignoniaceae sp NPL0387 (0)	<i>Pithecoctenium</i> <i>crucigerum</i> Bignoniaceae sp NPL0387	<i>Pithecoctenium</i> <i>crucigerum</i> Bignoniaceae	<i>Pithecoctenium</i> <i>crucigerum</i> Bignoniaceae sp NPL0387	Bignoniaceae
36	ALT4	<i>Heikertingerella</i> sp. 1	IBE-JGZ-1196	No	d	<i>Pithecoctenium crucigerum</i> (0)	<i>Pithecoctenium</i> <i>crucigerum</i>	<i>Pithecoctenium</i> <i>crucigerum</i>	<i>Pithecoctenium</i> <i>crucigerum</i>	Bignoniaceae
36	ALT4	<i>Heikertingerella</i> sp. 1	IBE-JGZ-2541A	No	b	<i>Amphilophium</i> <i>paniculatum</i> (0.00354)	<i>Amphilophium</i> <i>paniculatum</i>	<i>Amphilophium</i> <i>paniculatum</i>	<i>Amphilophium</i> <i>paniculatum</i>	Bignoniaceae
36	ALT5	<i>Heikertingerella</i> sp. 1	IBE-JGZ-2656	No	d	<i>Solanum aculeatissimum</i> , <i>S.</i> <i>icanum</i> , <i>S. panduriforme</i> (0) Fabaceae sp NPL0087, <i>Lonchocarpus phaselijolius</i> (0)	<i>Solanum</i>	<i>Solanum</i>	Solanaceae	Solanaceae
36	ALT4	<i>Heikertingerella</i> sp. 1	IBE-JGZ-2668A	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae
36	ALT4	<i>Heikertingerella</i> sp. 1	IBE-JGZ-2668B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.06299) <i>Inga sapindoides</i> , <i>I. vera</i> , <i>I.</i> <i>edulis</i> , <i>I. punctata</i> (0.00485)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
38	ALT3		IBE-JGZ-1860A	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
39	ALT135		IBE-JGZ-2680B	No	b	<i>Ruellia blechum</i> (0.00396)	<i>Ruellia blechum</i>	<i>Ruellia</i>	<i>Ruellia blechum</i>	<i>Ruellia</i>
40	ALT154		IBE-JGZ-2565A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.06106)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
41	ALT2		IBE-JGZ-2682	No	d	<i>Lantana camara</i> (0)	NA	Lantaneae	Pentapetalae	Lantaneae
41	ALT2		IBE-JGZ-1094	No	d	<i>Lantana camara</i> (0)	NA	Lantaneae	Pentapetalae	Lantaneae
			IBE-JGZ-1866A	No	b	<i>Lantana camara</i> (0)	NA	Lantaneae	Pentapetalae	Lantaneae

41	ALT2	IBE-JGZ-1866B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0) <i>Dolichandra quadrivalvis</i> (0.04904)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	
42	ALT1	IBE-JGZ-1256	No	d	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Bignoniaceae	Bignoniaceae	
42	ALT1	IBE-JGZ-2652A	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	Rubiaceae	Rubiaceae	
42	ALT1	IBE-JGZ-2652B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae	
43	ALT123	IBE-JGZ-1429	No	d	<i>Tecoma stans</i> (0)	<i>Tecoma stans</i>	<i>Tecoma stans</i>	Tecoma stans	Bignoniaceae	
43	ALT123	IBE-JGZ-1435	No	d	<i>Tecoma stans</i> (0)	<i>Tecoma stans</i>	<i>Tecoma stans</i>	Tecoma stans	Bignoniaceae	
43	ALT123	IBE-JGZ-1809A	No	b	<i>Physalis gracilis</i> (0)	<i>Physalis</i>	Solanaceae	<i>Physalis gracilis</i>	<i>Physalis</i>	
43	ALT123	IBE-JGZ-1809B	No	b	<i>Tecoma stans</i> (0)	<i>Tecoma stans</i>	<i>Tecoma stans</i>	<i>Tecoma stans</i>	Bignoniaceae	
43	ALT123	IBE-JGZ-1813	No	d	<i>Tecoma stans</i> (0)	<i>Tecoma stans</i>	<i>Tecoma stans</i>	<i>Tecoma stans</i>	Bignoniaceae	
44	ALT130	<i>Heikertingerella</i> sp. 2	IBE-JGZ-1858	No	d	<i>Arrabidaea patellifera</i> (0)	<i>Arrabidaea</i> <i>patellifera</i>	Bignonieae	<i>Arrabidaea</i> <i>patellifera</i>	Bignoniaceae
44	ALT130	<i>Heikertingerella</i> sp. 2	IBE-JGZ-2551	No	d	<i>Arrabidaea patellifera</i> (0.00277)	<i>Arrabidaea</i> <i>patellifera</i>	Bignonieae	<i>Arrabidaea</i> <i>patellifera</i>	Bignonieae
45	ALT6		IBE-JGZ-1859A	No	b	<i>Nelsonia campestris</i> (0.00462)	<i>Nelsonia</i> <i>campestris</i>	<i>Nelsonia</i> <i>campestris</i>	<i>Nelsonia</i> <i>campestris</i>	Nelsonioideae
45	ALT6		IBE-JGZ-1859B	No	b	<i>Tabebuia rosea</i> (0)	<i>Tabebuia rosea</i>	NA	<i>Tabebuia rosea</i>	Tabebuia alliance
45	ALT6		IBE-JGZ-2691A	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	Guaiacum
45	ALT6		IBE-JGZ-2691B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	Guaiacum
46	ALT110		IBE-JGZ-1161A	No	b	<i>Pithecellobium oblongum</i> (0.00363)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
46	ALT110		IBE-JGZ-1161B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
47	ALT151		IBE-JGZ-2676A	No	b	<i>Cleome chapalaensis</i> (0.04411)	NA	NA	<i>Cleome</i> <i>chapalaensis</i>	Cleomaceae
47	ALT151		IBE-JGZ-2676B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	Guaiacum
48	ALT133		IBE-JGZ-2561	No	d	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
49	ALT29		IBE-JGZ-1365A	No	b	<i>Sporobolus indicus</i> (0.00228)	Chloridoideae	Poaceae	<i>Sporobolus</i>	Poaceae
49	ALT29		IBE-JGZ-1365B	No	b	<i>Sida rhombifolia</i> (0)	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>
49	ALT29		IBE-JGZ-1365C	No	b	Fabaceae sp NPL0547 (0.00760)	Fabaceae sp NPL0547	NA	Fabaceae sp NPL0547	Fabaceae

49	ALT29	IBE-JGZ-1452	No	d	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
49	ALT120	IBE-JGZ-1455A	No	b	<i>Musa acuminata</i> (0)	<i>Musa</i>	Petrosaviidae	<i>Musa</i>	Zingiberales
49	ALT120	IBE-JGZ-1455B	No	b	Acanthaceae sp NPL0650 (0)	Acanthaceae	Acanthaceae	Acanthaceae sp NPL0650	Acanthaceae
49	ALT29	IBE-JGZ-1527	No	d	<i>Calopogonium mucunoides</i> (0)	<i>Calopogonium</i> <i>mucunoides</i>	Fabaceae	<i>Calopogonium</i> <i>mucunoides</i>	Fabaceae
Bursera altijuga, B. asplenifolia, B. bicolor, B. bonetii, B. cerasifolia, B. crenata, B. coyucensis, B. citronella, B. diversifolia, B. epinnata, B. esparzae, B. excelsa, B. filicifolia, B. graveolens, B. heterosthes, B. hintonii, B. infernidialis, B. macraughiana, B. malacophylla, B. mirandae, B. palmeri, B. penicillata, B. pontiveteris, B. ribana, B. sarcopoda, B. simplex, B. submoniliformis, B. tomentosa, B. vejar vazquezii, B. velutina, B. xochipalensis (0)									
49	ALT29	IBE-JGZ-2504A	No	b	<i>Samanea saman</i> , Fabaceae sp NPL0462 (0)	Bursera	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
49	ALT29	IBE-JGZ-2504B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
51	ALT101	IBE-JGZ-1099A	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
51	ALT101	IBE-JGZ-1099B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
52	ALT100	IBE-JGZ-1167A	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
52	ALT100	IBE-JGZ-1167B	No	b	<i>Hamelia axillaris</i> (0.05181)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae
52	ALT100	IBE-JGZ-1168	No	d		NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae

52	ALT100		IBE-JGZ-1454	No	d	<i>Musa siamensis</i> , <i>M. acuminata</i> , <i>M. rosea</i> , <i>M. laterita</i> , <i>M. viridis</i> , <i>M. rubra</i> (0)	<i>Musa</i>	Petrosaviidae	<i>Musa</i>	Zingiberales	
53	ALT134		IBE-JGZ-2562	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625) <i>Camellia cuspidata</i> , <i>C. elongata</i> , <i>C. euphlebia</i> , <i>C. eryoides</i> , <i>C. flava</i> , <i>C. fraterna</i> , <i>C. forrestii</i> , <i>C. furfuracea</i> , <i>C. kwangsiensis</i> , <i>C. longipedicellata</i> , <i>C. longissima</i> , <i>C. nitidissima</i> , <i>C. oleifera</i> , <i>C. reticulata</i> , <i>C. salicifolia</i> , <i>C. sinensis</i> , <i>C. tamdaoensis</i> , <i>C. tungchinensis</i> , <i>C. yunnanensis</i> (0)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae	
54	ALT33	<i>Glenidion</i> sp.	IBE-JGZ-1120	No	d	<i>Enterolobium cyclocarpum</i> (0.01275)	<i>Camellia anlungensis</i> var <i>acutiperulata</i>	Theaceae	Theaceae	Theaceae	
54	ALT33	<i>Glenidion</i> sp.	IBE-JGZ-1152	No	d	Fabaceae sp NPL0202, <i>Albizia niopoides</i> (0)	NA	Mimosoideae	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	Fabaceae	
54	ALT33	<i>Glenidion</i> sp.	IBE-JGZ-1241	No	d	<i>Enterolobium cyclocarpum</i> (0.00501)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	
54	ALT33	<i>Glenidion</i> sp.	IBE-JGZ-1821	No	d	<i>Inga sapindoides</i> , <i>I. thibaudiana</i> , <i>I. edulis</i> , <i>I. vera</i> , <i>I. punctata</i> (0)	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	Mimosoideae	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	Fabaceae	
54	ALT33	<i>Glenidion</i> sp.	IBE-JGZ-1825A	No	b	<i>Amaranthus retroflexus</i> , <i>A. spinosus</i> , <i>A. tricolor</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	
54	ALT33	<i>Glenidion</i> sp.	IBE-JGZ-1825B	No	b	<i>Amaranthus retroflexus</i> , <i>A. spinosus</i> , <i>A. tricolor</i> (0)	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus</i>	
54	ALT33	<i>Glenidion</i> sp.	IBE-JGZ-1909	No	d	<i>Gmelina villosa</i> (0.00563)	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina</i>	Lamiaceae	
54	ALT33	<i>Glenidion</i> sp.	IBE-JGZ-1911	No	d	<i>Samanea saman</i> , Fabaceae sp NPL0462 (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	
54	ALT33	<i>Glenidion</i> sp.	IBE-JGZ-1912A	No	b	Fabaceae sp NPL0202, <i>Albizia niopoides</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	
54	ALT33	<i>Glenidion</i> sp.	IBE-JGZ-1912B	No	b	<i>Uraria crinita</i> (0.04530)	NA	NA	Fabaceae	Fabaceae	

54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-1913A	No	b	Fabaceae sp NPL0202, Fabaceae sp NPL0453, <i>Albizia niopoides</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-1913B	No	b	<i>Casearia barteri</i> (0.00900)	<i>Casearia barteri</i>	Samydeae	Samydeae	Samydeae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-2555A	No	b	<i>Pithecellobium bipinnatum</i> (0)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	<i>Pithecellobium bipinnatum</i>	Fabaceae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-2669	No	d	<i>Pseudosamanea guachapele</i> (0)	Mimosoideae	Fabaceae	<i>Pseudosamanea guachapele</i>	Fabaceae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-2685	No	d	<i>Lantana camara</i> (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , B.	NA	Lantaneae	Pentapetalae	Lantaneae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3440	Si	d	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , B.	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3441	Si	d	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , B.	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3442A	Si	b	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3442B	Si	b	<i>Vitex negundo</i> , V. <i>trifolia</i> (0.00341) <i>Bursera ovalifolia</i> , B.	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3443A	Si	b	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3443B	Si	b	<i>Vitex negundo</i> (0.00268)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3444	Si	d	<i>Pithecellobium seleri</i> , P. <i>duke</i> , P. <i>lanceolatum</i> (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , B.	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3445A	Si	b	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3445B	Si	b	<i>Vitex rotundifolia</i> , V. <i>trifolia</i> (0)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3620	Si	d	<i>Pithecellobium seleri</i> , P. <i>duke</i> , P. <i>lanceolatum</i> (0)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3621	Si	d	<i>Pithecellobium seleri</i> , P. <i>duke</i> , P. <i>lanceolatum</i> (0)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3623	Si	d	<i>Pithecellobium seleri</i> , P. <i>duke</i> , P. <i>lanceolatum</i> (0)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae

54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3625	Si	d	<i>Inga sapindoides</i> , <i>I. vera</i> , <i>I. edulis</i> , <i>I. punctata</i> (0.00484)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3627	Si	d	<i>Enterolobium cyclocarpum</i> (0.00245)	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	Mimosoideae	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	Fabaceae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3631	Si	d	<i>Vitex rotundifolia</i> (0)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3633	Si	d	<i>Vitex rotundifolia</i> (0)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3636A	Si	b	<i>Cornus sericea</i> (0.00508) <i>Buddleja americana</i> ,	<i>Cornus sericea</i>	Cornaceae	<i>Cornus</i>	<i>Cornus</i>
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3636B	Si	b	Scrophulariaceae sp NPL0007 (0.00604)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3640	Si	d	<i>Enterolobium cyclocarpum</i> (0.00263)	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	Fabaceae	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	Fabaceae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3641	Si	d	<i>Lantana camara</i> (0)	NA	Lantaneae	<i>Lantana camara</i>	Lantaneae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3642B	Si	b	<i>Lantana camara</i> (0)	NA	Lantaneae	<i>Pentapetalae</i>	Lantaneae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3644	Si	d	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i> (0)	<i>Stachytarpheta</i>	<i>Stachytarpheta</i>	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3645	Si	d	<i>Enterolobium cyclocarpum</i> (0.00265) <i>Vitex negundo</i> , <i>V.</i>	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	Fabaceae	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	Fabaceae
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3646	Si	d	<i>rotundifolia</i> , <i>V. sampsonii</i> , <i>V. trifolia</i> (0)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
54	ALT33	<i>Glenidion sp.</i>	IBE-JGZ-3649	Si	d	<i>Pithecellobium seleri</i> , <i>P. dulce</i> , <i>P. lanceolatum</i> (0)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae
55	ALT80		IBE-JGZ-1116A	No	b	<i>Mirragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
55	ALT80		IBE-JGZ-1116B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0.00540)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
56	ALT159		IBE-JGZ-2708	No	d	<i>Cestrum megalophyllum</i> (0)	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum</i>	Solanaceae
57	ALT57		IBE-JGZ-1081	No	d	<i>Croton cortesianus</i> (0)	<i>Croton cortesianus</i>	<i>Croton</i>	<i>Croton cortesianus</i>	<i>Croton</i>
57	ALT57		IBE-JGZ-1145	No	d	<i>Croton cortesianus</i> (0.00211)	<i>Croton cortesianus</i>	<i>Croton</i>	<i>Croton cortesianus</i>	<i>Croton</i>
57	ALT57		IBE-JGZ-1437	No	d	<i>Croton cortesianus</i> (0)	<i>Croton cortesianus</i>	<i>Croton</i>	<i>Croton cortesianus</i>	<i>Croton</i>
57	ALT57		IBE-JGZ-2649	No	d	<i>Croton cortesianus</i> (0)	<i>Croton cortesianus</i>	<i>Croton</i>	<i>Croton cortesianus</i>	<i>Croton</i>
59	ALT56		IBE-JGZ-1814	No	d	<i>Euphorbia heterophylla</i> (0)	<i>Euphorbia heterophylla</i>	<i>Euphorbia heterophylla</i>	<i>Euphorbia heterophylla</i>	<i>Euphorbia heterophylla</i>

					Fabaceae sp NPL0087, <i>Lonchocarpus phaseolifolius</i> (0.00340)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
59	ALT56	IBE-JGZ-2663A	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae
59	ALT56	IBE-JGZ-2663B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05660)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
60	ALT145	IBE-JGZ-2639A	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0.00540)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
60	ALT145	IBE-JGZ-2639B	No	b	<i>Sida rhombifolia</i> (0.05555)	NA	NA	<i>Sida</i>	Malvaceae
61	ALT105	IBE-JGZ-1106A	No	b	<i>Centrosema pubescens</i> (0.02554)	NA	<i>Centrosema</i>	<i>Centrosema pubescens</i>	<i>Centrosema</i>
61	ALT105	IBE-JGZ-1106B	No	b	<i>Lantana urticifolia, L.</i> <i>hirta</i> (0)	NA	Lantaneae	<i>Lantana</i>	Lantaneae
63	ALT136	IBE-JGZ-2568A	No	b	<i>Tournefortia hirsutissima</i> (0)	<i>Tournefortia</i>	Heliotropiaceae	Heliotropiaceae	Boraginales
64	ALT150	IBE-JGZ-2675A	No	b	<i>Cleome chapalaensis</i> (0.04)	NA	<i>Cleome chapalaensis</i>	<i>Cleome chapalaensis</i>	Cleomaceae
64	ALT150	IBE-JGZ-2675B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
65	ALT39	IBE-JGZ-1836A	No	b	<i>Bursera ovalifolia, B.</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	unclassified Burseraceae	unclassified Burseraceae	unclassified Burseraceae	Burseraceae
65	ALT39	IBE-JGZ-1836B	No	b	<i>Cordia dentata</i> (0)	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>
65	ALT39	IBE-JGZ-2527	No	d	<i>Ludwigia octovalvis</i> (0)	<i>Ludwigia octovalvis</i>	<i>Ludwigia octovalvis</i>	<i>Ludwigia octovalvis</i>	<i>Ludwigia octovalvis</i>
65	ALT39	IBE-JGZ-2734	No	b	<i>Ludwigia octovalvis</i> (0)	<i>Ludwigia octovalvis</i>	<i>Ludwigia octovalvis</i>	<i>Ludwigia octovalvis</i>	<i>Ludwigia octovalvis</i>
65	ALT39	IBE-JGZ-2806	No	d	<i>Ludwigia octovalvis</i> (0)	<i>Ludwigia octovalvis</i>	<i>Ludwigia octovalvis</i>	<i>Ludwigia octovalvis</i>	<i>Ludwigia octovalvis</i>
66	ALT38	IBE-JGZ-1732	No	d	<i>Ludwigia octovalvis</i> (0)	<i>Ludwigia octovalvis</i>	<i>Ludwigia octovalvis</i>	<i>Ludwigia octovalvis</i>	<i>Ludwigia octovalvis</i>
66	ALT38	IBE-JGZ-2803	No	d	<i>Ludwigia octovalvis</i> (0)  <i>Andropogon</i> sp., <i>Bothriochloa ischaemum</i> , <i>B.</i> <i>insculpta</i> , <i>Chrysopogon</i>	<i>Ludwigia octovalvis</i>	<i>Ludwigia octovalvis</i>	<i>Ludwigia octovalvis</i>	<i>Ludwigia octovalvis</i>
67	ALT40	IBE-JGZ-1464	No	d	<i>gryllus</i> , <i>Cymbopogon</i> <i>caesius</i> , <i>Digitaria</i> <i>macroblephara</i> , <i>Echinochloa</i> <i>haploclada</i> , <i>Heteropogon</i> <i>contortus</i> (0)	Panicoideae	Poaceae	Poaceae	Poaceae

67	ALT40		IBE-JGZ-2609	No	d	<i>Albizia harveyi</i> , <i>Adenopodia patens</i> , <i>Vachellia nilotica</i> (0) <i>Inga sapindoides</i> , <i>I.</i> <i>tibaudiana</i> , <i>I. edulis</i> , <i>I.</i> <i>oerstediana</i> , <i>I. vera</i> , <i>I.</i> <i>punctata</i> (0)	Mimosoideae	Fabaceae	<i>Adenopodia patens</i>	Fabaceae
68	ALT129		IBE-JGZ-2550A	No	b	<i>Hamelia axillaris</i> (0.05820)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
69	ALT42		IBE-JGZ-1117	No	d	<i>Adenopodia patens</i> (0)	<i>Adenopodia patens</i>	<i>Adenopodia patens</i>	Fabaceae	Fabaceae
70	ALT43		IBE-JGZ-2632	No	d	<i>Acalypha diversifolia</i> (0.00641)	<i>Acalypha</i> <i>diversifolia</i>	<i>Acalypha</i> <i>diversifolia</i>	<i>Acalypha</i> <i>diversifolia</i>	<i>Acalypha</i>
70	ALT*188		IBE-JGZ-3659	No	d	<i>Tecoma stans</i> (0)	<i>Tecoma stans</i>	<i>Tecoma stans</i>	<i>Tecoma stans</i>	Bignoniaceae
71	ALT37		IBE-JGZ-1802	No	b	<i>Acalypha macrostachya</i> (0.04738)	NA	NA	<i>Acalypha</i>	Pentapetalae
71	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-1857	No	d	<i>Acalypha diversifolia</i> (0.00641)	<i>Acalypha</i> <i>diversifolia</i>	<i>Acalypha</i> <i>diversifolia</i>	<i>Acalypha</i> <i>diversifolia</i>	<i>Acalypha</i>
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-2601A	No	b	Malvaceae sp NPL0220, Malvaceae sp NPL0380 (0.00189)	Malvaceae	Malvaceae	Malvaceae	Malvaceae
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-2601B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-2601C	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-2610A	No	b	<i>Cocos nucifera</i> (0)	Arecoideae	<i>Arecaceae</i>	<i>Cocos nucifera</i>	Attaleinae
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-2610B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-3398A	Si	b	<i>Persicaria ferruginea</i> , <i>P.</i> <i>glabra</i> , <i>P. orientalis</i> , <i>P.</i> <i>punctata</i> , <i>P. segetum</i> , <i>P.</i> <i>senegalensis</i> , <i>P. tomentosa</i> (0)	<i>Persicaria</i>	Polygonoideae	Polygonaceae	Polygonaceae
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-3398B	Si	b	<i>Xylosma characantha</i> (0.01098)	NA	Salicaceae	<i>Xylosma</i> <i>characantha</i>	<i>Xylosma</i>
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-3399A	Si	b	<i>Acalypha diversifolia</i> (0.00641)	<i>Acalypha</i> <i>diversifolia</i>	<i>Acalypha</i> <i>diversifolia</i>	<i>Acalypha</i> <i>diversifolia</i>	<i>Acalypha</i>
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-3399B	Si	b	<i>Xylosma characantha</i> (0.02105)	NA	<i>Xylosma</i> <i>characantha</i>	<i>Xylosma</i> <i>characantha</i>	<i>Xylosma</i>

72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-3651B	Si	b	<i>Pithecellobium dulce</i> , <i>P. lanceolatum</i> (0.00554) <i>Acalypha diversifolia</i> (0.00614) <i>Lantana camara</i> (0) <i>Buddleja americana</i> , Scrophulariaceae sp NPL0007 (0)	<i>Pithecellobium</i> <i>Acalypha diversifolia</i> NA	Fabaceae Lantaneae	<i>Pithecellobium</i> <i>Acalypha diversifolia</i> Pentapetalae	Fabaceae Lantaneae
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-3656B	Si	b	<i>Acacia montis usi</i> , <i>A. boliviiana</i> , <i>A. theronii</i> , <i>A. suma</i> , <i>A. jacksonioides</i> , <i>A. kybeanensis</i> , <i>A. scleroxyla</i> , <i>A. fleckii</i> , <i>Albizia julibrissin</i> , <i>A. bermudiana</i> , <i>Albizia harveyi</i> , <i>A. kalkora</i> , <i>Pithecellobium unguis cati</i> , <i>Pithecellobium seleri</i> , <i>P. dulce</i> , <i>P. bipinnatum</i> , <i>P. oblongum</i> , <i>P. lanceolatum</i> , <i>Senegalia senegal</i> , <i>S. galpinii</i> , <i>S. mellifera</i> , <i>S. occidentalis</i> , <i>S. modesta</i> , <i>S. velutina</i> , <i>S. erubescens</i> , <i>S. hereroensis</i> , <i>S. muricata</i> , <i>S. nigrescens</i> , <i>S. caffra</i> , <i>S. charriessa</i> , <i>S. polyantha</i> , <i>S. burkei</i> , <i>Havardia pallens</i> , <i>H. albicans</i> , <i>Calliandra juzepeczukii</i> , <i>Acaciella tequilana</i> , <i>A. angustissima</i> , <i>Ebenopsis ebano</i> , <i>Lysiloma acapulcense</i> , <i>Mariosousa millefolia</i> (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-3657A	Si	b	<i>Vitex negundo</i> , <i>V. trifolia</i> (0.00332)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-3657B	Si	b					

72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-3657C	Si	b	<i>Buddleja americana</i> , Scrophulariaceae sp NPL0007 (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-3658	Si	d	<i>Acalypha diversifolia</i> (0.00641)	<i>Acalypha diversifolia</i>	<i>Acalypha diversifolia</i>	<i>Acalypha diversifolia</i>	<i>Acalypha</i>
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-3660	Si	d	<i>Acalypha diversifolia</i> (0.00641)	<i>Acalypha diversifolia</i>	<i>Acalypha diversifolia</i>	<i>Acalypha diversifolia</i>	<i>Acalypha</i>
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-3661	Si	d	<i>Pithecellobium seleri</i> , <i>P. dulce</i> , <i>P. lanceolatum</i> (0)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-3662	Si	d	<i>Acalypha diversifolia</i> (0.00641)	<i>Acalypha diversifolia</i>	<i>Acalypha diversifolia</i>	<i>Acalypha diversifolia</i>	<i>Acalypha</i>
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-3663A	Si	b	<i>Vitex rotundifolia</i> , <i>V. trifolia</i> (0)	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	Lamiales
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-3663B	Si	b	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i> (0)	<i>Stachytarpheta</i>	<i>Stachytarpheta</i>	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-3667	Si	d	<i>Acalypha diversifolia</i> (0.00727)	<i>Acalypha diversifolia</i>	<i>Acalypha</i>	<i>Acalypha diversifolia</i>	<i>Acalypha</i>
72	ALT41	<i>Syphrea sp.</i>	IBE-JGZ-3668	Si	d	<i>Acalypha diversifolia</i> (0.00641)	<i>Acalypha diversifolia</i>	<i>Acalypha diversifolia</i>	<i>Acalypha diversifolia</i>	<i>Acalypha</i>
						Cucurbitaceae sp				
73	ALT44		IBE-JGZ-1856	No	d	NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
73	ALT44		IBE-JGZ-1863	No	d	NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
74	ALT124		IBE-JGZ-1852A	No	b	<i>Bytneria aculeata</i> (0)	<i>Bytneria aculeata</i>	<i>Bytneria aculeata</i>	<i>Bytneria aculeata</i>	Malvaceae
74	ALT124		IBE-JGZ-1852C	No	b	<i>Piper peltatum</i> (0)	<i>Piper peltatum</i>	<i>Piper peltatum</i>	<i>Piper peltatum</i>	<i>Piper</i>
75	ALT36		IBE-JGZ-1835A	No	b	<i>Poitea florida</i> (0.03743)	NA	<i>Poitea florida</i>	<i>Poitea</i>	Fabaceae
75	ALT36		IBE-JGZ-1835B	No	b	<i>Cordia dentata</i> (0)	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>
75	ALT36		IBE-JGZ-2664A	No	b	<i>Pithecellobium seleri</i> , <i>P. dulce</i> , <i>P. lanceolatum</i> (0)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae
75	ALT36		IBE-JGZ-2664B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
76	ALT112		IBE-JGZ-1170A	No	b	<i>Mimosa pudica</i> (0.01075)	NA	<i>Mimosa pudica</i>	<i>Mimosa pudica</i>	Mimosoideae
76	ALT112		IBE-JGZ-1170B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae

77	ALT146	IBE-JGZ-2654	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05405)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
78	ALT109	IBE-JGZ-1160	No	d	<i>Byttneria aculeata</i> (0.00144)	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	Malvaceae
78	ALT34	IBE-JGZ-1272	No	d	<i>Byttneria aculeata</i> (0)	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	Malvaceae
78	ALT34	IBE-JGZ-1276	No	d	<i>Glycine soja</i> (0.00363)	<i>Glycine soja</i>	<i>Glycine soja</i>	<i>rosids</i>	Fabaceae
80	ALT35	IBE-JGZ-1864	No	d	<i>Dalechampia scandens</i> (0)	<i>Dalechampia scandens</i>	<i>Dalechampia scandens</i>	<i>Dalechampia scandens</i>	Euphorbiaceae
80	ALT35	IBE-JGZ-2651A	No	b	<i>Ricinus communis</i> (0.024)	NA	<i>Ricinus communis</i>	<i>Ricinus communis</i>	Acalyphoideae
81	ALT127	IBE-JGZ-2542A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
81	ALT127	IBE-JGZ-2542B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0.00769)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
83	ALT152	IBE-JGZ-2678	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
84	ALT138	IBE-JGZ-2573	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05797) <i>Physalis angulata</i> ,	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
85	ALT49	IBE-JGZ-1415	No	d	Solanaceae sp NPL0004 (0)	Solanaceae	Solanaceae	Solanaceae	Solanaceae
85	ALT49	IBE-JGZ-1855	No	d	<i>Sida spinosa</i> (0.02409)	NA	<i>Sida spinosa</i>	<i>Sida</i>	Malvaceae
85	ALT142	IBE-JGZ-2584A	No	b	<i>Pithecellobium oblongum</i> (0.00761) <i>Cayaponia racemosa</i> ,	<i>Pithecellobium oblongum</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
85	ALT142	IBE-JGZ-2584C	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0060 (0) <i>Physalis pruinosa</i> (0.00829)	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
86	ALT50	IBE-JGZ-1815	No	d	<i>Physalis pruinosa</i>	<i>Physalis pruinosa</i>	Solanaceae	Solanaceae	Solanaceae
86	ALT50	IBE-JGZ-2525A	No	b	<i>Gouania lupuloides</i> , <i>G. polygama</i> (0)	<i>Gouania</i>	<i>Gouania</i>	<i>Gouania</i>	<i>Gouania</i>
86	ALT50	IBE-JGZ-2655	No	d	<i>Guaiacum sanctum</i> (0.01310)	NA	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
86	ALT50	IBE-JGZ-2679B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
87	ALT139	IBE-JGZ-2574A	No	b	<i>Solanum acerifolium</i> (0.00219)	<i>Solanum acerifolium</i>	<i>Solanum</i>	<i>Solanum acerifolium</i>	<i>Solanum acerifolium</i>
87	ALT139	IBE-JGZ-2574B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae

					Cucurbitaceae sp			
88	ALT46	IBE-JGZ-1907	No	d	NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
89	ALT153	IBE-JGZ-2681	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0) <i>Melochia tomentosa</i> (0.05753)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
90	ALT47	IBE-JGZ-1246	No	d	<i>Theobroma subincanum</i> (0.02255)	NA	NA	<i>Melochia tomentosa</i>
90	ALT47	IBE-JGZ-1288A	No	b	<i>Cordia gerascanthus, C.</i> <i>megalantha</i> (0)	NA	Malvaceae	<i>Melochia tomentosa</i>
90	ALT47	IBE-JGZ-1822	No	d	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	Boraginaceae
91	ALT48	IBE-JGZ-2670	No	d	<i>Pebria compacta</i> (0)	<i>Pebria compacta</i>	<i>Pebria compacta</i>	Lythraceae
91	ALT48	IBE-JGZ-1908A	No	b	<i>Aeschynomene rufis,</i> Fabaceae sp NPL0051 (0.00729)	Fabaceae	Fabaceae	Lythraceae
91	ALT48	IBE-JGZ-1908B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
92	ALT52	IBE-JGZ-1105	No	d	<i>Melampodium divaricatum</i> (0)	<i>Melampodium</i> <i>divaricatum</i>	<i>Melampodium</i> <i>divaricatum</i>	<i>Melampodium</i> <i>divaricatum</i>
92	ALT52	IBE-JGZ-1181A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae
92	ALT52	IBE-JGZ-1181B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	Zygophyllaceae
92	ALT51	IBE-JGZ-1199	No	d	<i>Sida rhombifolia</i> (0.00549)	<i>Sida rhombifolia</i>	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>
92	ALT51	IBE-JGZ-1239	No	d	<i>Sida rhombifolia</i> (0.00292)	<i>Sida rhombifolia</i>	<i>Sida</i>	Malvaceae
92	ALT51	IBE-JGZ-1247	No	d	<i>Sida spinosa</i> (0.04895)	NA	NA	<i>Sida spinosa</i>
93	ALT140	IBE-JGZ-2575A	No	b	<i>Pithecellobium oblongum</i> (0.00363)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	Fabaceae
94	ALT103	IBE-JGZ-1093A	No	b	<i>Inga sapindoides, I. vera, I.</i> <i>edulis, I. punctata</i> (0.00253)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
94	ALT103	IBE-JGZ-1093B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae

95	ALT53		IBE-JGZ-1195A	No	b	<i>Pithecellobium unguis cati</i> (0.00638) <i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05797)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
95	ALT53		IBE-JGZ-1195B	No	d	<i>Ipomoea tricolor</i> (0.00478) <i>Hamelia axillaris</i> (0.05913)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
96	ALT116		IBE-JGZ-1203	No	d	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
96	ALT116		IBE-JGZ-1250	No	d	Cucurbitaceae sp	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
96	ALT116		IBE-JGZ-1287A	No	b	NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0) <i>Digitaria ciliaris</i> , <i>D.</i> <i>macroblephara</i> , <i>D. radicosa</i> , <i>D. bicornis</i> , <i>D. sanguinalis</i> (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
97	ALT122		IBE-JGZ-1812A	No	b	Cucurbitaceae sp	Poaceae	Poaceae	Poaceae	Poaceae
97	ALT122		IBE-JGZ-1812B	No	b	NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , <i>B.</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-1143	No	d	<i>Musa siamensis</i> , <i>M.</i> <i>acuminata</i> , <i>M. rosea</i> , <i>M.</i> <i>laterita</i> , <i>M. viridis</i> , <i>M.</i> <i>rubra</i> (0)	<i>Musa</i>	Petrosaviidae	<i>Musa</i>	<i>Musa</i>
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-1144A	No	b	<i>Bursera ovalifolia</i> , <i>B.</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-1834	No	d	<i>Bursera ovalifolia</i> , <i>B.</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-1837A	No	b	<i>Bursera ovalifolia</i> , <i>B.</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-1837B	No	b	<i>Cordia dentata</i> (0)	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-1838	No	d	<i>Bursera ovalifolia</i> , <i>B.</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae

98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-1839A	No	b	<i>Bursera ovalifolia</i> , B. <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-1839B	No	b	<i>Cordia dentata</i> (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , B.	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia dentata</i>
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-1840	No	d	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-1841A	No	b	<i>Bursera simaruba</i> (0)	<i>Bursera</i>	Burseraceae	<i>Bursera simaruba</i>
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-1841B	No	b	<i>Cordia dentata</i> (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , B.	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia dentata</i>
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-1842A	No	b	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-1842B	No	b	<i>Cordia dentata</i> (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , B.	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia dentata</i>
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-1843	No	d	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , B.	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3423	Si	d	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , B.	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3424	Si	d	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , B.	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3425	Si	d	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , B.	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3426A	Si	b	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3426B	Si	b	<i>Vitex trifolia</i> (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , B.	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>	<i>Vitex</i>
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3427	Si	d	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , B.	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3428	Si	d	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , B.	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3429	Si	d	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae

							NPL0661 (0)			
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3496A	Si	b	<i>Bursera ovalifolia, B.</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3497	Si	d	<i>Bursera ovalifolia, B.</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3498	Si	d	<i>Bursera simaruba (0)</i> <i>Bursera ovalifolia, B.</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	<i>Bursera</i>	Burseraceae	<i>Bursera simaruba</i>	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3499	Si	d	<i>Bursera ovalifolia, B.</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3500	Si	d	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3501	Si	d	<i>Bursera simaruba,</i> Burseraceae sp NPL0556 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3502	Si	d	<i>Bursera ovalifolia, B.</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3503	Si	d	<i>Bursera ovalifolia, B.</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3504A	Si	b	<i>Bursera simaruba,</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3505	Si	d	<i>Burseraceae sp</i> NPL0556 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3507A	Si	b	<i>Bursera ovalifolia, B.</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3507B	Si	b	Boraginaceae sp NPL0024 (0.00881)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3508	Si	d	<i>Bursera simaruba (0)</i>	<i>Bursera</i>	Burseraceae	<i>Bursera simaruba</i>	<i>Bursera simaruba</i>
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3509A	Si	b	<i>Bursera simaruba (0)</i>	<i>Bursera</i>	Burseraceae	<i>Bursera simaruba</i>	<i>Bursera simaruba</i>

98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3509B	Si	b	Boraginaceae sp NPL0024 (0.00362) <i>Bursera ovalifolia</i> , <i>B.</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3510	Si	d	<i>Bursera simaruba</i> (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , <i>B.</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3511	Si	d	<i>Bursera simaruba</i> (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , <i>B.</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	<i>Bursera simaruba</i>	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3512	Si	d	<i>Bursera ovalifolia</i> , <i>B.</i> <i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3513	Si	d	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , <i>B.</i>	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3514	Si	d	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0) <i>Bursera simaruba</i> , <i>Bursera ovalifolia</i> , <i>B.</i>	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3515	Si	d	Burseraceae sp NPL0556 (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , <i>B.</i>	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3516	Si	d	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3517	Si	d	<i>Cordia pringlei</i> (0.00421)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3518	Si	d	<i>Cordia spinescens</i> (0) <i>Bursera ovalifolia</i> , <i>B.</i>	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3522	Si	d	<i>simaruba</i> , Burseraceae sp NPL0661 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
98	ALT55	<i>Blepharida suturalis</i>	IBE-JGZ-3525	Si	d	<i>Bursera simaruba</i> (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
99	ALT54		IBE-JGZ-1136A	No	b	<i>Bursera simaruba</i> (0) <i>Samanea saman</i> ,	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
99	ALT54		IBE-JGZ-1136B	No	b	Fabaceae sp NPL0462 (0) <i>Bursera simaruba</i> ,	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
99	ALT54		IBE-JGZ-1846A	No	b	Burseraceae sp NPL0556 (0)	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae	Burseraceae
99	ALT54		IBE-JGZ-1846B	No	b	<i>Cordia dentata</i> (0)	<i>Cordia dentata</i>	Acanthaceae sp	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>
100	ALT31		IBE-JGZ-1100	No	d	Acanthaceae sp NPL0650 (0)	Acanthaceae	Acanthaceae sp NPL0650	Acanthaceae	Acanthaceae

100	ALT31	IBE-JGZ-1151A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
100	ALT31	IBE-JGZ-1151B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0.01081)	NA	<i>Guaiacum</i>	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae
100	ALT31	IBE-JGZ-1367	No	d	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0.00829)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
100	ALT32	IBE-JGZ-1818	No	d	<i>Ruellia blechum</i> (0.00797)	<i>Ruellia blechum</i>	<i>Ruellia blechum</i>	<i>Ruellia blechum</i>	<i>Ruellia</i>
100	ALT32	IBE-JGZ-2532A	No	b	<i>Ruellia blechum</i> (0.00370)	<i>Ruellia blechum</i>	<i>Ruellia blechum</i>	<i>Ruellia blechum</i>	<i>Ruellia</i>
100	ALT32	IBE-JGZ-2570A	No	b	Acanthaceae sp NPL0650 (0)	Acanthaceae	Acanthaceae	Acanthaceae sp NPL0650	Acanthaceae
100	ALT32	IBE-JGZ-2662	No	b	NPL0151, <i>Tetramerium nervosum</i> (0.00312)	Acanthaceae	Acanthaceae	Acanthaceae	Acanthaceae
100	ALT32	IBE-JGZ-2788	No	d	Acanthaceae sp NPL0145, <i>Justicia carthagrenensis</i> (0)	Acanthaceae	Acanthaceae	Acanthaceae	Acanthaceae
101	ALT147	IBE-JGZ-2657	No	b	<i>Pluchea carolinensis</i> (0)	<i>Pluchea carolinensis</i>	Plucheinae	<i>Pluchea carolinensis</i>	Plucheinae
102	ALT141	IBE-JGZ-2583	No	d	<i>Mimosa pudica</i> (0.00890)	<i>Mimosa pudica</i>	<i>Mimosa pudica</i>	<i>Mimosa pudica</i>	Mimosoideae
103	ALT30	IBE-JGZ-1425	No	d	<i>Milleria quinqueflora</i> (0.00210)	<i>Milleria quinqueflora</i>	Millerieae	<i>Milleria quinqueflora</i>	<i>Milleria quinqueflora</i>
103	ALT30	IBE-JGZ-1430	No	d	<i>Ipomoea tricolor</i> , <i>I. trifida</i> (0)	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
103	ALT30	IBE-JGZ-2684	No	b	<i>Vachellia melanoceras</i> , <i>V. pennatula</i> (0)	<i>Vachellia</i>	Acacieae	<i>Vachellia</i>	Mimosoideae
104	ALT149	IBE-JGZ-2674B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0.01212)	NA	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
105	ALT99	IBE-JGZ-1861	No	d	<i>Gmelina villosa</i> (0.00845)	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina</i>	Lamiaceae
105	ALT99	IBE-JGZ-1905A	No	b	<i>Pluchea carolinensis</i> (0.00262)	<i>Pluchea carolinensis</i>	Plucheinae	<i>Pluchea carolinensis</i>	Plucheinae
105	ALT99	IBE-JGZ-1905B	No	b	<i>Clematis acapulcensis</i> , <i>C. grossa</i> , <i>C. tashiroi</i> , <i>C. virginiana</i> (0.00558)	<i>Clematis</i>	Anemoneae	Ranunculoideae	Ranunculoideae
105	ALT99	IBE-JGZ-1905C	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae

NPL0017 (0)										
106	ALT115	IBE-JGZ-1173	No	d	<i>Ulmus minor</i> (0.00473) <i>Pithecellobium unguis cati</i> , <i>P. oblongum</i> (0.00877)	<i>Ulmus minor</i>	<i>Ulmus</i>	<i>Ulmus minor</i>	<i>Ulmus minor</i>	
106	ALT115	IBE-JGZ-1202A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	
106	ALT115	IBE-JGZ-1202B	No	b	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae	Rubiaceae	
166	ALT189	IBE-JGZ-1123	No	d	<i>Sida acuta</i> (0.02005)	NA	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	Malvaceae	
168	ALT190	<i>Heikertingerella</i> sp. 4	IBE-JGZ-1101A	No	b	<i>Musa acuminata</i> (0)	<i>Musa</i>	Petrosaviidae	<i>Musa</i>	Zingiberales
168	ALT190	<i>Heikertingerella</i> sp. 4	IBE-JGZ-1101B	No	b	<i>Ruellia blechum</i> (0.01183)	NA	<i>Ruellia blechum</i>	<i>Ruellia blechum</i>	<i>Ruellia</i>
170	ALT191		IBE-JGZ-1190	No	d	<i>Mangifera indica</i> (0)	<i>Mangifera indica</i>	<i>Mangifera indica</i>	<i>Mangifera indica</i>	Anacardiaceae
171	ALT192		IBE-JGZ-1417	No	d	<i>Physalis gracilis</i> (0)	<i>Physalis</i>	Solanaceae	<i>Physalis gracilis</i>	<i>Physalis</i>
171	ALT192		IBE-JGZ-1421	No	d	<i>Physalis gracilis</i> (0)	<i>Physalis</i>	Solanaceae	<i>Physalis gracilis</i>	<i>Physalis</i>

## D. Galerucini

Mspp.	Esp. morfomol	Taxon	Voucher	CL	TA	Mejor coincidencia (distancia)	Distancia 1%	Distancia 4%	Criterio liberal	Criterio estricto
107	GAL182	IBE-JGZ-2799	No	b	<i>Lonchocarpus minimiflorus</i> (0)	<i>Lonchocarpus minimiflorus</i>	Fabaceae	<i>Lonchocarpus minimiflorus</i>	Fabaceae	
108	GAL75	IBE-JGZ-1699	No	d	<i>Cayaponia attenuata</i> (0.01395)	NA	Cucurbitaceae	<i>Cayaponia attenuata</i>	Cucurbitaceae	
108	GAL75	IBE-JGZ-1731	No	d	<i>Cucurbitaceae</i> sp NPL0058, <i>Cucurbitaceae</i> sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	
108	GAL75	IBE-JGZ-1746B	No	b	<i>Parsonsia paulforsteri</i> (0.04918) <i>Handroanthus impetiginosus</i> , <i>H. ocraeae</i> , <i>H. guayanac</i> ,	NA	NA	Apocynaceae	Apocynaceae	
108	GAL75	IBE-JGZ-2729	No	b	<i>Bignoniaceae</i> sp NPL0327, <i>Tabebuia rosea</i> , <i>T. chrysanth</i> , <i>Amphitecna latifolia</i> , <i>Crescentia linearifolia</i> , <i>C. cujete</i> (0)	NA	Bignoniaceae	Bignoniaceae	Bignoniaceae	

108	GAL75	IBE-JGZ-2822A	No	b	<i>Cestrum megalophyllum</i> (0)	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum</i>	<i>Cestrum</i>	Solanaceae
108	GAL75	IBE-JGZ-2822B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05797)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
108	GAL75	IBE-JGZ-2822C	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae
109	GAL76	IBE-JGZ-2042	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
109	GAL76	IBE-JGZ-2779	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
110	GAL79	IBE-JGZ-2744	No	d	<i>Hamelia axillaris</i> (0.05670)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
110	GAL79	IBE-JGZ-2753B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
110	GAL79	IBE-JGZ-2756A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
110	GAL79	IBE-JGZ-2756B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
110	GAL183	IBE-JGZ-2817A	No	b	<i>Pithecellobium seleri</i> , <i>P. dulce</i> , <i>P. lanceolatum</i> (0)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae
110	GAL183	IBE-JGZ-2817B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
110	GAL183	IBE-JGZ-2817C	No	b	<i>Melothria pendula</i> , <i>M. scabra</i> (0)	<i>Melothria</i>	Cucurbitaceae	<i>Melothria</i>	Cucurbitaceae
111	GAL174	IBE-JGZ-1439	No	d	Cucurbitaceae sp NPL0262 (0)	NA	NA	Cucurbitaceae sp NPL0262	Cucurbitaceae
111	GAL174	IBE-JGZ-2745A	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0262 (0)	NA	NA	Cucurbitaceae sp NPL0262	Cucurbitaceae
111	GAL174	IBE-JGZ-2745B	No	b	<i>Hamelia axillaris</i> (0.05181)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
112	GAL78	IBE-JGZ-1462	No	d	<i>Cyclanthera carthaginensis</i> , <i>Rytidostylis gracilis</i> (0) <i>Cayaponia racemosa</i> ,	Sicyoae	Sicyoae	Sicyoae	Sicyoae
112	GAL78	IBE-JGZ-2781	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0060 (0)	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
113	GAL77	IBE-JGZ-1370	No	d	<i>Cayaponia citrullifolia</i> , <i>C. glandulosa</i> , <i>C. sp.</i> (0)	<i>Cayaponia</i>	Cucurbitaceae	<i>Cayaponia</i>	Cucurbitaceae
113	GAL77	IBE-JGZ-2742A	No	b	<i>Handroanthus impetiginosus</i> , <i>H. ochraceus</i> , <i>H. guayanus</i> , Bignoniaceae sp NPL0327, <i>Tabea guayanensis</i> , <i>T. chrysanthia</i> , <i>Amphilophia latifolia</i> , <i>Crescentia linearifolia</i> , <i>C. cujete</i> (0)	NA	Bignoniaceae	Bignoniaceae	Bignoniaceae

113	GAL77	IBE-JGZ-2742B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
113	GAL77	IBE-JGZ-2789	No	b	<i>Cayaponia attenuata</i> (0.00975)	<i>Cayaponia attenuata</i>	Cucurbitaceae	<i>Cayaponia attenuata</i>	Cucurbitaceae
114	GAL82	IBE-JGZ-1356	No	d	<i>Oplismenus burmannii</i> (0)	Poaceae	Poaceae	Poaceae	Poaceae
114	GAL82	IBE-JGZ-1366	No	d	<i>Delilia biflora</i> (0)	<i>Delilia biflora</i>	<i>Delilia biflora</i>	<i>Delilia biflora</i>	<i>Delilia biflora</i>
114	GAL82	IBE-JGZ-1705A	No	b	<i>Gmelina villosa</i> (0.00847)	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina</i>	Lamiaceae
114	GAL82	IBE-JGZ-2693	No	d	<i>Simsia ovata</i> , <i>S. steyermarkii</i> (0.00255)	Asteraceae	Asteraceae	Asteraceae	Asteraceae
114	GAL82	IBE-JGZ-2714	No	b	Fabaceae sp NPL0408 (0)	Fabaceae sp NPL0408	NA	Fabaceae sp NPL0408	Fabaceae
114	GAL82	IBE-JGZ-2721	No	b	<i>Handroanthus ochraceus</i> (0.00362)	Tabebuia alliance	NA	Bignoniaceae	Bignoniaceae
114	GAL82	IBE-JGZ-2738	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
114	GAL82	IBE-JGZ-2778A	No	b	<i>Pebria compacta</i> (0)	<i>Pebria compacta</i>	Lythraceae	<i>Pebria compacta</i>	Lythraceae
114	GAL82	IBE-JGZ-2778B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625) <i>Cayaponia racemosa</i> ,	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
114	GAL82	IBE-JGZ-2778C	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0060 (0)	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
115	GAL81	IBE-JGZ-2746A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
115	GAL81	IBE-JGZ-2746B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
115	GAL81	IBE-JGZ-2757A	No	b	<i>Inga edulis</i> , <i>I. sapindoides</i> (0.00242)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
115	GAL81	IBE-JGZ-2757B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
115	GAL81	IBE-JGZ-2769	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
116	GAL163	IBE-JGZ-1368A	No	b	<i>Delilia biflora</i> (0)	<i>Delilia biflora</i>	<i>Delilia biflora</i>	<i>Delilia biflora</i>	<i>Delilia biflora</i>
116	GAL163	IBE-JGZ-1368B	No	b	Bignoniaceae sp NPL0387 (0.00361)	Bignoniaceae sp NPL0387	Bignoniaceae	Bignoniaceae sp NPL0387	Bignoniaceae
116	GAL163	IBE-JGZ-1368C	No	b	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septentrionalis</i> (0.00829)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
117	GAL83	IBE-JGZ-2741	No	b	<i>Chamissoa acuminata</i> (0)	<i>Chamissoa acuminata</i>	<i>Chamissoa acuminata</i>	<i>Chamissoa acuminata</i>	<i>Chamissoa</i>

117	GAL83	IBE-JGZ-2755A	No	b	<i>Inga sapindooides</i> , <i>I. vera</i> , <i>I. edulis</i> , <i>I. punctata</i> , <i>I. thibaudiana</i> (0.00272)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
117	GAL83	IBE-JGZ-2755B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae
119	GAL92	IBE-JGZ-2811	No	d	<i>Lantana camara</i> (0)	NA	Lantaneae	Pentapetalae
120	GAL184	IBE-JGZ-2825A	No	b	<i>Wamalchitamia aurantiaca</i> (0)	<i>Wamalchitamia aurantiaca</i>	Asteraceae	<i>Wamalchitamia aurantiaca</i>
121	GAL91	IBE-JGZ-2750A	No	b	<i>Inga sapindooides</i> , <i>I. thibaudiana</i> , <i>I. oerstediana</i> , <i>I. vera</i> , <i>I. punctata</i> , <i>I. feuillei</i> (0.00772)	Inga	Fabaceae	Fabaceae
121	GAL91	IBE-JGZ-2750B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625) <i>Inga sapindooides</i> , <i>I. thibaudiana</i> , <i>I. edulis</i> , <i>I. oerstediana</i> , <i>I. vera</i> , <i>I. punctata</i> (0)	NA	NA	Rubiaceae
123	GAL176	IBE-JGZ-2751A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	Fabaceae	Fabaceae
123	GAL176	IBE-JGZ-2751B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
124	GAL89	IBE-JGZ-1352A	No	b	<i>Mahaviscus arboreus</i> (0)	<i>Mahaviscus arboreus</i>	Malvoideae	<i>Mahaviscus arboreus</i>
124	GAL89	IBE-JGZ-1352B	No	b	<i>Inga sapindooides</i> , <i>I. vera</i> , <i>I. edulis</i> , <i>I. punctata</i> , <i>I. thibaudiana</i> (0.00775)	Inga	Fabaceae	Fabaceae
124	GAL89	IBE-JGZ-1352C	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae
124	GAL171	IBE-JGZ-2088	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae
125	GAL88	IBE-JGZ-1693B	No	b	<i>Stenostomum lucidum</i> (0.00377)	Guettardeae	Guettardeae	Cinchonoideae
125	GAL88	IBE-JGZ-1703B	No	b	<i>Acanthaceae</i> sp NPL0145, <i>Justicia carthagensis</i> (0)	Acanthaceae	Acanthaceae	Acanthaceae
125	GAL88	IBE-JGZ-1704A	No	b	<i>Gmelina villosa</i> (0.00563)	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina villosa</i>	Lamiaceae
125	GAL88	IBE-JGZ-1704B	No	b	<i>Cayaponia attenuata</i> (0.00975)	<i>Cayaponia attenuata</i>	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
125	GAL88	IBE-JGZ-2749A	No	b	<i>Inga sapindooides</i> , <i>I. vera</i> , <i>I. edulis</i> , <i>I. punctata</i> , <i>I. thibaudiana</i> (0.00262)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
125	GAL88	IBE-JGZ-2749B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae
125	GAL88	IBE-JGZ-2800A	No	b	<i>Aeschynomene rufis</i> , Fabaceae sp NPL0051 (0.00862)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
126	GAL87	IBE-JGZ-1422	No	d	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae

126	GAL87	IBE-JGZ-1481	No	d	<i>Machura tinctoria</i> (0) <i>Datura quercifolia</i> (0.00199)	<i>Machura tinctoria</i> <i>Datura</i>	<i>Machura tinctoria</i> <i>Solanoidae</i>	<i>Machura tinctoria</i> <i>Datura</i>	<i>Machura tinctoria</i> <i>Datura</i>
126	GAL87	IBE-JGZ-1523	No	d	<i>Buddleja americana</i> , Scrophulariaceae sp NPL0007 (0)	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae	Scrophulariaceae
126	GAL87	IBE-JGZ-1718C	No	b	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0) <i>Gmelina villosa</i> (0.00566)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
126	GAL87	IBE-JGZ-1720B	No	b	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
126	GAL87	IBE-JGZ-1723A	No	b	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0)	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina</i>	Lamiaceae
126	GAL87	IBE-JGZ-1723B	No	b	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
126	GAL87	IBE-JGZ-1730A	No	b	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
126	GAL86	IBE-JGZ-1735C	No	b	Boraginaceae sp NPL0024 (0.00370)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales
126	GAL86	IBE-JGZ-1735D	No	b	<i>Salix famelica</i> , <i>S. caprea f pendula</i> (0.00588)	<i>Salix</i>	<i>Salix</i>	<i>Salix</i>	Salicaceae
126	GAL87	IBE-JGZ-2043	No	b	<i>Aeschynomene rufa</i> , Fabaceae sp NPL0051 (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
126	GAL86	IBE-JGZ-2820A	No	b	<i>Inga sapindoides</i> , <i>I. vera</i> , <i>I. edulis</i> , <i>I. punctata</i> , <i>I. thibaudiana</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
127	GAL85	IBE-JGZ-1740	No	d	<i>Solanum lycopersicum</i> (0.00460)	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>Solanum</i>	<i>Lycopersicon</i>	<i>Lycopersicon</i>
127	GAL85	IBE-JGZ-2782	No	b	<i>Pebria compacta</i> (0) <i>Cayaponia racemosa</i> , Cucurbitaceae sp NPL0060 (0)	<i>Pebria compacta</i>	Lythraceae	<i>Pebria compacta</i>	Lythraceae
128	GAL180	IBE-JGZ-2784	No	b	<i>Cleome chapalaensis</i> (0.04285)	NA	NA	<i>Cleome chapalaensis</i>	Cleomaceae
127	GAL85	IBE-JGZ-2804	No	d	<i>Ipomoea tricolor</i> (0)	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae	Convolvulaceae
129	GAL84	IBE-JGZ-1725C	No	b	<i>Datura quercifolia</i> (0.00219)	<i>Datura</i>	Solanoidae	<i>Datura</i>	Datura
129	GAL84	IBE-JGZ-1748A	No	b	<i>Gmelina villosa</i> (0.01412)	NA	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina</i>	Lamiaceae
129	GAL84	IBE-JGZ-1748B	No	b	<i>Vachellia melanocerasus</i> , <i>V. pennatula</i> (0)	<i>Vachellia</i>	Acacieae	<i>Vachellia</i>	Mimosoideae
129	GAL84	IBE-JGZ-1748C	No	b	<i>Solanum torrum</i> (0.00240)	<i>Solanum</i>	<i>Solanum</i>	<i>Solanum torrum</i>	<i>Solanum</i>
129	GAL84	IBE-JGZ-2790A	No	b	<i>Hamelia axillaris</i> (0.05759)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
129	GAL84	IBE-JGZ-2790B	No	b	<i>Pithecellobium scleri</i> , <i>P. dulce</i> , <i>P. lanceolatum</i> (0)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae
129	GAL84	IBE-JGZ-2794	No	d					

129	GAL84	IBE-JGZ-2805	No	d	<i>Persicaria ferruginea</i> , <i>P. glabra</i> , <i>P. orientalis</i> , <i>P. punctata</i> , <i>P. senegalensis</i> , <i>P. tomentosa</i> (0) <i>Inga edulis</i> , <i>I. sapindoides</i> (0.00259)	Polygonoideae	Polygonoideae	Polygonaceae	Polygonaceae
130	GAL74	IBE-JGZ-2823A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05769)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
130	GAL74	IBE-JGZ-2823B	No	b	<i>Aeschynomene rufis</i> , Fabaceae sp NPL0051 (0.00375)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
131	GAL94	IBE-JGZ-1448	No	d	<i>Afgekia filipes</i> (0.00287)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
131	GAL93	IBE-JGZ-1460	No	d	<i>Afgekia filipes</i> (0.00287)	<i>Afgekia filipes</i>	<i>Afgekia filipes</i>	<i>Afgekia filipes</i>	Fabaceae
131	GAL93	IBE-JGZ-1519A	No	b	<i>Solanum chrysotrichum</i> (0.00588)	<i>Solanum</i>	<i>Solanum</i>	<i>Solanum</i>	<i>Solanum</i>
131	GAL94	IBE-JGZ-1529	No	d	<i>Calopogonium mucunoides</i> (0)	<i>Calopogonium mucunoides</i>	Fabaceae	<i>Calopogonium mucunoides</i>	Fabaceae
131	GAL94	IBE-JGZ-1533	No	d	<i>Sida rhombifolia</i> (0)	<i>Sida rhombifolia</i>	<i>Sida</i>	<i>Sida</i>	Malvaceae
131	GAL93	IBE-JGZ-1674A	No	b	<i>Byttneria aculeata</i> (0.00150) Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	<i>Byttneria aculeata</i>	Malvaceae
131	GAL93	IBE-JGZ-1674D	No	b	<i>Aeschynomene rufis</i> , Fabaceae sp NPL0051 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
131	GAL93	IBE-JGZ-2715	No	d	<i>Aeschynomene rufis</i> , Fabaceae sp NPL0051 (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
131	GAL94	IBE-JGZ-2716A	No	b	<i>Aeschynomene rufis</i> , Fabaceae sp NPL0051 (0.00381)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
131	GAL94	IBE-JGZ-2716B	No	b	<i>Turnera diffusa</i> , <i>T. scabra</i> (0)	<i>Turnera</i>	<i>Turnera</i>	<i>Turnera</i>	Pentapetalac
131	GAL93	IBE-JGZ-2717A	No	b	<i>Calopogonium mucunoides</i> (0)	<i>Calopogonium mucunoides</i>	<i>Calopogonium mucunoides</i>	<i>Calopogonium mucunoides</i>	Fabaceae
131	GAL93	IBE-JGZ-2717B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum sanctum</i>	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae
131	GAL93	IBE-JGZ-2718A	No	b	<i>Bravaisia integriforma</i> (0.01744)	NA	<i>Bravaisia integriforma</i>	<i>Bravaisia integriforma</i>	Acanthaceae
131	GAL93	IBE-JGZ-2718B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum sanctum</i>	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae
131	GAL94	IBE-JGZ-2720	No	b	<i>Chamaecrista nictitans</i> (0) Fabaceae sp NPL0159, Fabaceae sp NPL0059, Fabaceae sp NPL0188, <i>Mucuna pruriens</i> (0)	<i>Chamaecrista nictitans</i>	Cassieae	<i>Chamaecrista nictitans</i>	Cassieae
131	GAL94	IBE-JGZ-2725	No	d	<i>Pithecellobium seleri</i> , <i>P. dulce</i> , <i>P.</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
131	GAL93	IBE-JGZ-2775A	No	b	<i>Pithecellobium seleri</i> , <i>P. dulce</i> , <i>P.</i>	Ingeae	Fabaceae	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae

lanceolatum (0)									
131	GAL93	IBE-JGZ-2775B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
131	GAL94	IBE-JGZ-2801B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae
131	GAL93	IBE-JGZ-2821A	No	b	<i>Inga edulis, I. sapindoides</i> (0.00254)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
132	GAL164	IBE-JGZ-1456A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.0625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
132	GAL164	IBE-JGZ-1456B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0.00540)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
132	GAL95	IBE-JGZ-1670	No	d	<i>Calopogonium mucunoides</i> (0)	<i>Calopogonium mucunoides</i>	Fabaceae	<i>Calopogonium mucunoides</i>	Fabaceae
132	GAL95	IBE-JGZ-1679	No	d	Fabaceae sp NPL0547 (0.00366)	Fabaceae sp NPL0547	NA	Fabaceae sp NPL0547	Fabaceae
132	GAL95	IBE-JGZ-2695A	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae
132	GAL95	IBE-JGZ-2695B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae
132	GAL95	IBE-JGZ-2713A	No	b	<i>Aeschynomene rufida</i> , Fabaceae sp NPL0051 (0.00381)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
132	GAL95	IBE-JGZ-2713B	No	b	<i>Luffa aegyptiaca</i> (0) <i>Handroanthus impetiginosus, H. guayacan</i> , Bignoniaceae sp NPL0327, <i>Tabebuia rosea, T. chrysantha, Amphiloea latifolia, Crescentia linearifolia, C. cujete</i> (0)	<i>Luffa</i>	Cucurbitaceae	Luffa	Cucurbitaceae
132	GAL95	IBE-JGZ-2722	No	b	Fabaceae sp NPL0159, Fabaceae sp NPL0059, Fabaceae sp NPL0188, <i>Mucuna pruriens</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
132	GAL95	IBE-JGZ-2726	No	b	<i>Pithecellobium oblongum</i> (0.00314)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
132	GAL95	IBE-JGZ-2740A	No	b	<i>Centrosema pubescens</i> (0.02554)	NA	<i>Centrosema</i>	<i>Centrosema pubescens</i>	<i>Centrosema</i>
133	GAL179	IBE-JGZ-2780	No	b	<i>Cayaponia racemosa</i> , Cucurbitaceae sp NPL0060 (0)	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
134	GAL97	IBE-JGZ-2767	No	d	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
134	GAL97	IBE-JGZ-2783	No	b	<i>Cayaponia racemosa</i> , Cucurbitaceae sp NPL0060	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae

(0)									
135	GAL161	IBE-JGZ-1357	No	d	Fabaceae sp NPL0087, <i>Lonchocarpus phaseolifolius</i> (0.00305)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
136	GAL172	IBE-JGZ-2089A	No	b	<i>Pithecellobium oblongum</i> (0.00675)	<i>Pithecellobium oblongum</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
136	GAL172	IBE-JGZ-2089B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
137	GAL178	IBE-JGZ-2768	No	d	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
138	GAL98	IBE-JGZ-1530A	No	b	<i>Pithecellobium oblongum</i> (0.00358)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
138	GAL98	IBE-JGZ-1530B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05882)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
138	GAL98	IBE-JGZ-2719	No	b	<i>Calopogonium caeruleum</i> , Fabaceae sp NPL0211 (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
139	GAL165	IBE-JGZ-1371	No	d	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
140	GAL173	IBE-JGZ-2730	No	b	<i>Machaerium biorulatum</i> (0.02061)	NA	Dalbergieae	Fabaceae	Fabaceae
141	GAL168	IBE-JGZ-1747B	No	b	<i>Gmelina villosa</i> (0.00563)	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina villosa</i>	<i>Gmelina</i>	Lamiaceae
142	GAL66	IBE-JGZ-2736A	No	b	<i>Pithecellobium seleri</i> , <i>P. dulce</i> , <i>P. lanceolatum</i> (0)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae
142	GAL66	IBE-JGZ-2736B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05732)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
142	GAL66	IBE-JGZ-2743A	No	b	<i>Pithecellobium oblongum</i> (0.00359)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
142	GAL66	IBE-JGZ-2743B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05696)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
142	GAL66	IBE-JGZ-2754	No	d	<i>Pithecellobium oblongum</i> (0.00715)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
142	GAL66	IBE-JGZ-2759	No	d	<i>Pithecellobium oblongum</i> (0.01015)	NA	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
142	GAL66	IBE-JGZ-2764	No	d	<i>Pithecellobium oblongum</i> (0.00475)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
142	GAL66	IBE-JGZ-2786A	No	b	<i>Pithecellobium oblongum</i> (0.00364)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
142	GAL66	IBE-JGZ-2786B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
142	GAL66	IBE-JGZ-2792	No	d	<i>Pithecellobium oblongum</i> (0.00265)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
142	GAL66	IBE-JGZ-2827	No	b	<i>Pithecellobium seleri</i> , <i>P. dulce</i> , <i>P.</i>	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae

<i>lanceolatum</i> (0)								
143	GAL186	IBE-JGZ-2838A	No	b	<i>Hamelia axillaris</i> (0.05699)	NA	NA	Rubiaceae
143	GAL186	IBE-JGZ-2838B	No	b	<i>Fabaceae</i> sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
144	GAL65	IBE-JGZ-1484	No	b	<i>Lantana urticifolia</i> , <i>L. hirta</i> (0)	NA	Lantaneae	<i>Lantana</i>
144	GAL65	IBE-JGZ-1515A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae
144	GAL65	IBE-JGZ-2809	No	d	<i>Lantana camara</i> (0)	NA	Lantaneae	Pentapetalae
145	GAL177	IBE-JGZ-2763	No	b	<i>Vachellia collinsii</i> (0)	<i>Vachellia</i>	Acacieae	<i>Vachellia collinsii</i>
146	GAL69	IBE-JGZ-1361A	No	b	<i>Inga thibaudiana</i> (0.00259)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
146	GAL69	IBE-JGZ-1361B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae
146	GAL162	IBE-JGZ-1362A	No	d	<i>Musa acuminata</i> (0)	<i>Musa</i>	Petrosaviidae	<i>Musa</i>
146	GAL69	IBE-JGZ-2086	No	b	<i>Samanea saman</i> , <i>Fabaceae</i> sp NPL0462 (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
147	GAL187	IBE-JGZ-2810A	No	b	<i>Mimosa albida</i> (0)	<i>Mimosa albida</i>	<i>Mimosa</i>	<i>Mimosa albida</i>
147	GAL187	IBE-JGZ-2810B	No	b	<i>Lantana camara</i> (0)	NA	Lantaneae	<i>Lantana camara</i>
147	GAL187	IBE-JGZ-2839	No	d	<i>Mimosa albida</i> (0)	<i>Mimosa albida</i>	<i>Mimosa</i>	<i>Mimosa</i>
148	GAL68	IBE-JGZ-2723	No	b	<i>Cordia alliodora</i> (0)	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	Boraginales
148	GAL68	IBE-JGZ-2733A	No	b	<i>Fabaceae</i> sp NPL0202, <i>Albizia niopoides</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
148	GAL68	IBE-JGZ-2733B	No	b	<i>Handroanthus ochraceus</i> (0.00357)	Tabebuia alliance	NA	Bignoniaceae
148	GAL68	IBE-JGZ-2762	No	d	<i>Cordia collococca</i> (0)	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia</i>
148	GAL68	IBE-JGZ-2771A	No	b	<i>Pithecellobium dulce</i> (0.00261)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	Fabaceae
149	GAL67	IBE-JGZ-1692A	No	b	<i>Solanum erianthum</i> (0.00209)	<i>Solanum</i>	Solanaceae	<i>Solanum asperum</i>
149	GAL67	IBE-JGZ-1692B	No	b	<i>Stenostomum lucidum</i> (0.00323)	Guettardeae	Guettardeae	<i>Cinchonoideae</i>
149	GAL67	IBE-JGZ-2727	No	d	<i>Inga sapindoides</i> , <i>I. vera</i> , <i>I. edulis</i> , <i>I. punctata</i> , <i>I. thibaudiana</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
150	GAL72	IBE-JGZ-1524	No	d	<i>Datura quercifolia</i> (0.00199)	<i>Datura</i>	Solanoideae	<i>Datura</i>
150	GAL72	IBE-JGZ-2807	No	d	<i>Salicaceae</i> sp NPL0416 (0.00390)	Salicaceae	Salicaceae	Salicaceae
151	GAL160	IBE-JGZ-1353A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae
151	GAL160	IBE-JGZ-1353B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
152	GAL169	IBE-JGZ-2068A	No	b	<i>Pithecellobium oblongum</i> (0.00374)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	Fabaceae

152	GAL169	IBE-JGZ-2068B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
153	GAL70	IBE-JGZ-1689	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
153	GAL70	IBE-JGZ-2731	No	b	<i>Iresine diffusa</i> (0.00719)	<i>Iresine diffusa</i>	<i>Iresine diffusa</i>	<i>Iresine diffusa</i>	Amaranthaceae
154	GAL73	IBE-JGZ-2748A	No	b	<i>Chamissoa acuminata</i> (0)	<i>Chamissoa acuminata</i>	<i>Chamissoa acuminata</i>	<i>Chamissoa acuminata</i>	<i>Chamissoa acuminata</i>
154	GAL73	IBE-JGZ-2758A	No	b	<i>Inga edulis</i> , <i>I. oerstediana</i> , <i>I. sapindoides</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
154	GAL73	IBE-JGZ-2812A	No	b	<i>Malvariscus arboreus</i> (0.00609)	<i>Malvariscus arboreus</i>	Malvoideae	<i>Malvariscus arboreus</i>	Malvoideae
154	GAL73	IBE-JGZ-2812B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
154	GAL73	IBE-JGZ-2814B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0.00543)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
155	GAL58	IBE-JGZ-2728A	No	b	<i>Solanum myriacanthum</i> (0.00268) <i>Handroanthus impetiginosus</i> , <i>H. ochraceus</i> , <i>H. guayacan</i> ,	<i>Solanum</i>	<i>Solanum</i>	<i>Solanum</i>	<i>Solanum</i>
155	GAL58	IBE-JGZ-2728C	No	b	<i>Bignoniaceae</i> sp NPL0327, <i>Tabebuia rosea</i> , <i>T. chrysantha</i> , <i>Amphitecna latifolia</i> , <i>Crescentia linearifolia</i> , <i>C. cujete</i> (0)	NA	Bignoniaceae	Bignoniaceae	Bignoniaceae
156	GAL59	IBE-JGZ-2091A	No	b	<i>Pithecellobium oblongum</i> (0.00363)	<i>Pithecellobium</i>	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
156	GAL59	IBE-JGZ-2091B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
156	GAL59	IBE-JGZ-2091C	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0.00689)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae
156	GAL59	IBE-JGZ-2815	No	d	<i>Varronia inermis</i> , <i>Cordia spinescens</i> (0) <i>Lundellianthus jalicensis</i> (0.00230)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
157	GAL60	IBE-JGZ-1482	No	d		Heliantheae	Asteraceae	Heliantheae	Asteraceae
157	GAL60	IBE-JGZ-2041A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
157	GAL60	IBE-JGZ-2041B	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
158	GAL63	IBE-JGZ-1473	No	b	<i>Zanthoxylum culantrillo</i> (0.00228)	<i>Zanthoxylum culantrillo</i>	Rutaceae	<i>Zanthoxylum culantrillo</i>	Rutaceae
158	GAL63	IBE-JGZ-1475A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
158	GAL63	IBE-JGZ-1475B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>

159	GAL64	IBE-JGZ-1472A	No	b	<i>Zanthoxylum culantrillo</i> (0.00227)	<i>Zanthoxylum culantrillo</i>	Rutaceae	<i>Zanthoxylum culantrillo</i>	Rutaceae
159	GAL64	IBE-JGZ-1472B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625) <i>Inga sapindooides</i> , <i>I. thibaudiana</i> ,	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
160	GAL185	IBE-JGZ-2828A	No	b	<i>I. edulis</i> , <i>I. oerstediana</i> , <i>I. vera</i> , <i>I. punctata</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
160	GAL185	IBE-JGZ-2828B	No	b	<i>Machaonia portoricensis</i> (0.09375)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
161	GAL175	IBE-JGZ-2747A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
162	GAL61	IBE-JGZ-1474	No	d	<i>Cordia spinescens</i> (0)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
162	GAL61	IBE-JGZ-1514	No	d	<i>Cordia curassavica</i> (0.00353)	Boraginaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
162	GAL61	IBE-JGZ-1517	No	d	<i>Cordia pringlei</i> (0.00416)	Boraginaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
162	GAL61	IBE-JGZ-1717	No	d	<i>Cordia spinescens</i> (0)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
162	GAL61	IBE-JGZ-1733	No	d	<i>Cordia pringlei</i> (0)	Boraginaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
162	GAL61	IBE-JGZ-2732	No	b	<i>Cordia spinescens</i> (0)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
162	GAL61	IBE-JGZ-2774	No	b	<i>Varronia inermis</i> , <i>Cordia spinescens</i> (0)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
162	GAL181	IBE-JGZ-2795	No	d	<i>Cordia dentata</i> (0)	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>	<i>Cordia dentata</i>	<i>Cordia</i>
162	GAL61	IBE-JGZ-2802	No	b	<i>Cordia spinescens</i> (0)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
162	GAL61	IBE-JGZ-2819	No	b	<i>Cordia spinescens</i> (0)	Cordiaceae	Boraginales	Boraginales	Boraginales
163	GAL166	IBE-JGZ-1480	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05660)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
164	GAL62	IBE-JGZ-1364	No	d	<i>Karwinskia calderonii</i> (0)	<i>Karwinskia calderonii</i>	Rhamnaceae	<i>Karwinskia calderonii</i>	Rhamnaceae
164	GAL62	IBE-JGZ-1483	No	b	<i>Karwinskia calderonii</i> (0)	<i>Karwinskia calderonii</i>	Rhamnaceae	<i>Karwinskia calderonii</i>	Rhamnaceae
165	GAL170	IBE-JGZ-2087A	No	b	<i>Cecropia longipes</i> (0)	<i>Cecropia</i>	<i>Cecropia</i>	<i>Cecropia</i>	Urticaceae
165	GAL170	IBE-JGZ-2087B	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
175	GAL193	IBE-JGZ-1724B	No	b	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
176	GAL194	IBE-JGZ-1738	No	d	Fabaceae sp NPL0002, <i>Senna septemtrionalis</i> (0)	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae
180	GAL195	IBE-JGZ-2692A	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
180	GAL195	IBE-JGZ-2692B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0)	<i>Guaiacum sanctum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>
181	GAL196	IBE-JGZ-1739B	No	b	<i>Cordia spinescens</i> , <i>Varronia inermis</i> , <i>V. leucomalloides</i> , <i>V. multispicata</i> (0)	Boraginales	Boraginales	Boraginales	Boraginales

181	GAL196	IBE-JGZ-1739C	No	b	Cucurbitaceae sp NPL0058, Cucurbitaceae sp NPL0017 (0)	NA	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
181	GAL196	IBE-JGZ-2813A	No	b	<i>Mitragyna parvifolia</i> (0.05625)	NA	NA	Rubiaceae	Rubiaceae
181	GAL196	IBE-JGZ-2813B	No	b	<i>Guaiacum sanctum</i> (0.01081)	NA	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>	<i>Guaiacum</i>

*Apéndice V.* Artículo publicado en la revista *Insect Science*.



*Insect Science* (2015) 00, 1–16, DOI 10.1111/1744-7917.12303

ORIGINAL ARTICLE

## Evaluation of bias on the assessment of diet breadth of herbivorous insects using molecular methods

Gissela De la Cadena<sup>1</sup>, Anna Papadopoulou<sup>1,2</sup>, Jean-Michel Maes<sup>3</sup> and Jesús Gómez-Zurita<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Animal Biodiversity and Evolution, Institut de Biología Evolutiva (CSIC-Univ. Pompeu Fabra), Barcelona, Spain; <sup>2</sup>Department of Integrative Ecology, Estación Biológica de Doñana (EBD-CSIC), Seville, Spain and <sup>3</sup>Museo entomológico de León, León, Nicaragua

**Abstract** The interactions between herbivores and their host plants play a key role in ecological processes. Understanding the width and nature of these interactions is fundamental to ecology and conservation. Recent research on DNA-based inference of trophic associations suggests that the host range of phytophagous insects in the tropics may be wider than previously thought based on traditional observation. However, the reliability of molecular inference of ecological associations, still strongly dependent on PCR and thus exposed to the risk of contamination with environmental DNA, is under debate. Here, we explored alternative procedures to reduce the chance of amplification of external, nondiet DNA, including surface decontamination and analysis of mid/hind guts, comparing the results with those obtained using the standard protocol. We studied 261 specimens in eight species of Neotropical Chrysomelidae that yielded 316 *psbA-trnH* intergenic spacer sequences (cpDNA marker of putative diets) from unique and multiple-band PCR results. The taxonomic identity of these sequences was inferred using the automated pipeline BAGpipe, yielding results consistent with 31 plant families. Regardless of the protocol used, a wide taxonomic spectrum of food was inferred for all chrysomelid species. Canonical Correspondence Analysis using these data revealed significant differences attributed mainly to species (expectedly, since they represent different ecologies), but also to treatment (untreated vs. cleaned/gut samples) and PCR results (single vs. multiple bands). Molecular identification of diets is not straightforward and, regardless of the species' niche breadth, combining approaches that reduce external contamination and studying multiple individuals per species may help increasing confidence in results.

**Key words** food-webs; gut content; insect–plant interaction; molecular ecology; molecular taxonomy; *psbA-trnH* intergenic spacer

### Introduction

The analysis of ecological interactions and community ecology has experienced a fruitful renaissance in recent years (Montoya *et al.*, 2006; Carreón-Martínez & Heath, 2010; Joly *et al.*, 2014; Symondson & Harwood, 2014;

Kress *et al.*, 2015). This is fundamentally owing to theoretical advances, with the development of powerful analytical strategies based on properties of interaction networks (Bascompte, 2009; Dormann *et al.*, 2009; Novotny, 2009; Cagnolo *et al.*, 2011), but also thanks to progress in empirical methods. As for the latter, the main methodological boost has been the use of molecular methods to characterize these ecological interactions (Symondson, 2002; King *et al.*, 2008; Carreón-Martínez & Heath, 2010). In the case of trophic associations, these methods rely heavily on PCR and sequencing of diagnostic markers amplified typically from degraded organic material present in the gut or feces of the animals of interest (Symondson,

Correspondence: Jesús Gómez-Zurita, Animal Biodiversity and Evolution, Institut de Biología Evolutiva (CSIC-UPF), Pg. Marítim de la Barceloneta 37, 08003 Barcelona, Spain. Tel: +34 93 230 9643; fax: +34 93 221 1011; email: j.gomez-zurita@csic.es

2002; King *et al.*, 2008; Pompanon *et al.*, 2012; Zarzoso-Lacoste *et al.*, 2013). Phenetic or phylogenetic sequence comparisons against a reference database that includes taxonomically relevant information provide the required identification of the food source (e.g., Valentini *et al.*, 2009; García-Robledo *et al.*, 2013; Gibson *et al.*, 2014; Papadopoulou *et al.*, 2015). This approach has found great applicability in ecological studies of invertebrates that are difficult to study with traditional methodologies, particularly in insects of cryptic ecology. Some examples include saproxylc insects and predators (Eitzinger & Traugott, 2011; Klimaszewski *et al.*, 2013; Brown *et al.*, 2015) as well as herbivorous insects (Jurado-Rivera *et al.*, 2009; Pinzón-Navarro *et al.*, 2010; Hereward & Walter, 2012; Kitson *et al.*, 2013; Wallinger *et al.*, 2013).

Given their ease of implementation, molecular methods have facilitated the objective acquisition of large amounts of interaction data even for entire communities without the need for impractical, often unattainable field observations (Jurado-Rivera *et al.*, 2009; García-Robledo *et al.*, 2013; Burgar *et al.*, 2014). Conversely, earlier studies on food habits typically relied on visual records and field or laboratory trials, focusing on a few easily recognizable species (e.g., for Neotropical Chrysomelidae: Basset *et al.*, 1996; Flowers & Janzen, 1997; Descampe *et al.*, 2008). Besides being time-consuming, there are other serious drawbacks to this traditional approach, including difficulties for observation of cryptic species or cryptic behaviors, biases due to manipulation, taxonomic misidentifications in the field, temporary or accidental associations, or alterations of behavior in captivity, among others (Sheppard *et al.*, 2005; Valentini *et al.*, 2009; Hereward & Walter, 2012). These problems can introduce undesirable biases in the establishment of ecological associations. On the contrary, forthright molecular approaches potentially represent a relatively unbiased methodology that can be applied to any sample and sample size and overcomes most of the previous shortcomings. Even though certain technical limitations have been reported, mostly associated with the degraded nature of template DNA (King *et al.*, 2008) or the limited coverage and reliability of reference barcode libraries for species identification (e.g., Ekrem *et al.*, 2007; Jinbo *et al.*, 2011; Gariepy *et al.*, 2014; Symondson & Harwood, 2014; Papadopoulou *et al.*, 2015), improvements in laboratory methodologies and the steady growth of reference databases are expected to alleviate these technical constraints.

The wide application of molecular methods to infer trophic associations during the last few years has revealed some surprises, suggestive of unexpectedly broad spectra of food sources for many species. For example,

Kitson *et al.* (2013) reported 13 plant species as food source for two *Cratopus* weevils in Mauritius, and Burgar *et al.* (2014) counted 26–60 potential prey items consumed by the amphipod *Themisto abyssorum* in Arctic thermal vents. Moreover, even in cases where the number of inferred diets is low, these often represent highly divergent taxa, which is difficult to explain from an adaptive or physiological viewpoint and occasionally contradicts field observations (Hereward & Walter, 2012). For example, Gómez-Zurita & Cardoso (2014) consistently retrieved a mixed legume and fern diet for several species of *Taophila* leaf beetles in New Caledonia, when these species are exclusively known as fern specialists (Samuelson, 2010). Herbivorous tropical insects are precisely at the center of the ongoing debate on ecological implications of niche width (Basset *et al.*, 1996; Novotny *et al.*, 2002; Novotny & Basset 2005; Singer, 2008; Singer *et al.*, 2014). Current views have shifted from a general perception of highly specialized insect–plant associations to one highlighting that polyphagy may be more widespread than previously thought (Basset, 1992; Novotny *et al.*, 2002; Descampe *et al.*, 2008). Resolving this question, which is now testable at exceedingly larger scales thanks to DNA-based diet inference, has far-reaching consequences. For example, it could potentially affect the perception of global species diversity, whereby a dominance of narrowly specialized species would imply higher diversity in the highly stratified and spatially structured tropical forests (Erwin, 1982; Stork, 1993; Basset *et al.*, 1996). At present, molecular evidence seems to support generalist ecologies in many cases, thus pushing estimates of species diversity in the tropics to more conservative positions, as those proposed by Novotny *et al.* (2002) or Novotny & Basset (2005). The accuracy in establishing ecological interactions is also critical in order to take full and meaningful advantage of the study of food-webs, as archetypical example of interaction networks (e.g., Meskens *et al.*, 2011). In summary, whether DNA-based results reflect real ecological discoveries owing to the higher sensitivity of molecular methods or they are a mere consequence of analytical biases in the methodologies used is a highly relevant matter.

With the accretion of data, the question thus remains whether there are biases affecting PCR-based inference of trophic links, therefore retrieving associations that do not represent host or prey–predator interactions. These biases may be the result of other interactions, such as accidental ingestion of nonfood material, active ingestion of this material but not for feeding purposes (e.g., probing, tasting, moisturizing, secondary predation, etc.), or plainly environmental contamination of the sample with DNA from other sources. While there are several

examples of studies testing PCR performance under different degradation scenarios, usually focusing on detectability half-life (Sint *et al.*, 2011; Wallinger *et al.*, 2013; review in Greenstone *et al.*, 2014), there is a paucity of literature on PCR biases related to sampling or laboratory protocols (e.g., Greenstone *et al.*, 2011; Furlong *et al.*, 2015) or to the nature of targeted material (e.g., see Wallinger *et al.*, 2013, for effects of plant identity; Thomas *et al.*, 2014, for effects of fat content in prey). Instead, the reliability of host inferences is usually not contended (e.g., Hereward & Walter, 2012; Kishimoto-Yamada *et al.*, 2013) or at most with some cautionary statement *a posteriori* when the obtained inference is eccentric (e.g., Gómez-Zurita *et al.*, 2010; Kitson *et al.*, 2013). Here, we address this question and try to ascertain whether particular analytical procedures in the laboratory can introduce artefacts, explaining in part the unexpected breadth or oddity of food choices described in PCR-based studies. In particular, in this study we will compare DNA-based diet inference results of alternative laboratory protocols (different sample preparation and amplification methods) using several species of herbivorous beetles in the family Chrysomelidae from seasonally deciduous dry forests in Nicaragua. Our main goal is providing empirical evidence to assess the confidence in previous results and facilitate sound planning of future work.

## Materials and methods

### *Samples, experimental groups, and treatments*

We considered three groups of beetles to investigate differences in diet breadth inference using molecular methods. All specimens were collected by hand, sweeping or beating vegetation, and were sacrificed and stored directly in 100% ethanol in the field. Specimens collected in the same collection event were stored in the same vial and no special measure was taken to alter the presence of environmental DNA naturally carried by the insects (to be removed in the laboratory). Upon returning to the laboratory, ethanol was changed and specimens stored in the freezer at -20 °C until DNA extraction for molecular analyses.

The first group consisted of 20 specimens of tortoise beetles *Ischnocodina annulus* (Fabricius, 1781) collected on, but not necessarily feeding on, five different plant species in the Tisey-La Estanzuela Natural Reserve (13.0352°N 86.3498°W) in January 2012: *Ardisia revoluta* (Primulaceae; 4 specimens), *Chiococca alba* (Rubiaceae; 5 specimens), *Eugenia acapulcensis* (Myrtaceae; 8 specimens), *Gouania lupuloides* (Rhamnaceae;

1 specimen), and *Trophis racemosa* (Moraceae; 2 specimens). In this case, we applied our conventional procedures (e.g., Jurado-Rivera *et al.*, 2009; Papadopoulou *et al.*, 2015), directly extracting DNA from each specimen without any treatment and using a PCR-product sequencing approach to assess the success rate in retrieving these plants as source of DNA, either because of ingestion or because of physical contact as established in the field.

The second group included 204 specimens of six species of Afälleinae (Table 1). Part of the specimens (57) was analyzed without treatment, in a way similar to the *I. annulus* specimens. The rest were subjected to a decontamination protocol of external surfaces prior to DNA extraction to exclude the possibility of plant DNA being attached to the beetle body, particularly to the claws and tarsal pads, which are almost permanently in contact with plant substrate. Decontamination was based on the recommendations of Greenstone *et al.* (2012) and the specific protocol of Montagna *et al.* (2015): (i) the specimens with opened elytra and wings were washed with autoclaved distilled water for 2 min; (ii) this was followed by 3 iterations of 2 min in a diluted solution of 4% sodium hypochlorite and 2 min in a 0.1% Triton-X-100 solution in PBS IX (Sigma-Aldrich Química S.L., Madrid, Spain), both with frequent and vigorous vortexing; and (iii) a final rinsing with autoclaved distilled water for 2 min, letting the specimens to dry before DNA extraction.

The third group consisted of 37 specimens of the Casidinae *Physonota alutacea* (Boheman, 1854). Nine were devoid of treatment and subject to the standard whole-specimen DNA extraction protocol. In the remainder, DNA was extracted exclusively from their dissected mid- and hindgut, thus ensuring that the PCR products were amplified from the ingested plant material (Table 1). Prior to gut dissection with sterilized forceps, the specimens were decontaminated externally as before, after removing their elytra.

### *DNA extraction and sequencing*

Total genomic DNA was extracted from the whole body of each individual specimen (or organ, in the case of *P. alutacea*) using a nondestructive protocol with the DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen Iberia S.L., Madrid, Spain). After extraction, specimens were mounted dry and retained as vouchers as part of the IBE-JGZ leaf beetle collection (Barcelona, Spain). DNA extractions were used as template for PCR amplification of chloroplast *psbA-trnH* intergenic spacer as a host-plant marker, and following the same protocol as in Papadopoulou

**Table 1** Geographic source and number of specimens in each experimental group of leaf beetles ( $N_u$ , without treatment;  $N_t$ , with surface decontamination treatment in Alticinae and additional gut dissection in *Physonota alutacea*).

Species	Locality	Lat.	Long.	$N_u$	$N_t$
Alticinae					
<i>Alagoasa decemguttata</i> (Fabricius, 1801)	Estelí, Miraflores-Moropotente Granada, Reserva Privada Domitila Rivas, Finca Guadalupe Rivas, Finca Sierra Serena	13.1884 °N 11.7084 °N 11.1844 °N 11.2334 °N	86.3245 °W 85.9536 °W 85.6575 °W 85.5512 °W	6 7 0 1	0 3 1 0
<i>Blepharida suturalis</i> (Jacoby, 1885)	Granada, Reserva Privada Domitila Rivas, Finca Sierra Serena	11.7084 °N 11.2334 °N	85.9536 °W 85.5512 °W	7 2	31 0
<i>Glenidion</i> sp.	Estelí, Miraflores-Moropotente Granada, Reserva Privada Domitila León, Jardín Botánico Managua, Reserva Natura Rivas, Finca Escamequita Rivas, Finca Guadalupe Rivas, Finca Sierra Serena	13.1884 °N 11.7084 °N 12.4100 °N 11.8675 °N 11.2400 °N 11.1844 °N 11.2334 °N	86.3245 °W 85.9536 °W 86.9588 °W 86.5140 °W 85.8407 °W 85.6575 °W 85.5512 °W	2 1 6 1 1 0 1	12 1 4 1 0 3 0
<i>Omophoita octomaculata</i> (Crotch, 1873)	Estelí, Miraflores-Moropotente Granada, Reserva Privada Domitila Rivas, Finca Escamequita Rivas, Finca Guadalupe Rivas, Finca Sierra Serena	13.1884 °N 11.7084 °N 11.2334 °N 11.1844 °N 11.2334 °N	86.3245 °W 85.9536 °W 86.3245 °W 85.6575 °W 85.5512 °W	2 0 2 1 1	3 1 11 16 0
<i>Syphrea</i> sp.	Rivas, Finca Sierra Serena	11.2334 °N	85.5512 °W	3	14
<i>Walterianella venustula</i> (Schaufuss, 1874)	Estelí, Miraflores-Moropotente Granada, Reserva Privada Domitila León, Jardín Botánico Managua, Reserva Natura Masaya, Las Flores Rivas, Finca Escamequita Rivas, Finca Sierra Serena	13.1884 °N 11.7084 °N 12.4100 °N 11.8675 °N 11.9833 °N 11.2400 °N 11.2334 °N	86.3245 °W 85.9536 °W 86.9588 °W 86.5140 °W 86.0333 °W 85.8407 °W 85.5512 °W	4 2 4 2 0 1 2	11 1 0 2 41 1 1
Cassidinae					
<i>Physonota alutacea</i> (Bohemian, 1854)	Estelí, Miraflores-Moropotente Granada, Reserva Privada Domitila Managua, Reserva Natura	13.1884 °N 11.7084 °N 11.8675 °N	86.3245 °W 85.9536 °W 86.5140 °W	7 1 1	14 7 7

et al. (2015) without modifications. Some samples yielded PCR products directly with universal primers, some required reamplification with custom internal primers (Papadopoulou *et al.*, 2015), and some generated multiple bands, which were isolated from 1.5% agarose gels, reamplified with internal primers and sequenced. All PCR products were sequenced in both directions using their corresponding PCR primers and the BigDye Terminator 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Sequences were edited, primers removed and complementary strands assembled using Geneious Pro 5.3.6 (Drummond *et al.*, 2010). Sequences newly obtained for this study were deposited in the European Nucleotide Archive database (EMBL-

EBI, Hinxton) with accession numbers LN898972–LN899274.

#### Diet inference

The taxonomic identification of potential host-plants based on *psbA-trnH* sequences obtained from leaf beetle extractions was performed using the automated identification pipeline BAGpipe (Papadopoulou *et al.*, 2015). In brief, BAGpipe collects sequence data from public nucleotide sequence databases for a marker of interest, polishes heterogeneous sequence data to remove intraspecific redundancy, alternative orientations and

nonhomologous ends, and links reference sequences to the taxonomy supplied by the source database. This provides with a reference database further partitioned in customized clusters based on sequence similarity and allows for taxonomic assignment of query homologous sequences with an automatic procedure that generates identifications based on phylogenetic (using maximum likelihood and bootstrap support from RAxML 7.2.8; Stamatakis, 2006; Stamatakis *et al.*, 2008) and phenetic criteria. In principle, we considered all identification strategies, including the phenetic best-match criterion and the liberal (highly supported sister-group relationships between query and database sequences) and strict (common taxonomy of terminals within a highly supported clade including the previous group) phylogenetic methods (Papadopoulou *et al.*, 2015).

The reference database for BAGpipe was generated using the latest available release from GenBank (August 19, 2014). These public sequence data were supplemented with our local *psbA-trnH* database from the flora of Nicaragua where the beetles had been collected, in order to increase the chance of correct identifications by enriching the coverage of relevant plant taxonomic diversity (Papadopoulou *et al.*, 2015). Two intermediate stages in the automatic procedure were checked prior to accepting taxonomic inferences: (i) sequence alignments for each sequence cluster were visually inspected in Geneious Pro 5.3.6 to identify and correct obvious misaligned regions, and (ii) maximum likelihood trees for each sequence cluster to verify dubious taxonomic inferences, often resulting from problematic taxon IDs in GenBank, which were removed or corrected in our reference database.

#### Treatment comparisons

A nonstatistical validation of results was achieved by contrasting diet inferences against the previously existing literature on host-plant records for the leaf beetle species or genera investigated here (Table S1). Additionally, we formally tested the hypothesis that our alternative laboratory procedures, including bleaching and/or reamplification, had an effect on the inference using multivariate analysis. Specifically, we compiled a presence/absence matrix of diets inferred for each sample (individual) of Alticinae and *P. alutacea*, which was analyzed by means of Canonical Correspondence Analysis (CCA; ter Braak, 1986) using functions of the R package "vegan" version 2.2-1 (Oksanen *et al.*, 2015) in R Studio (R Development Core Team, 2013). The response matrix of diets was considered either by distinguishing different inferences at the lowest available taxonomic level (different species, albeit

imprecisely labeled taxonomically) or exclusively at plant family level. The former resulted in high dispersion of observations and, in order to reduce the number of columns in the response matrix and achieve a better-balanced sampling (i.e., with less empty cells), we opted for the latter. This strategy is also a biologically sound alternative, since host specificity is rarely realized at the species level, but at supraspecific ranks instead (e.g., Novotny & Basset, 2005; Barrett & Heil, 2012). We tested how three factors (explanatory variables) may affect the response matrix: insect species, pre-extraction conditions and PCR characteristics. As pre-extraction conditions we considered the treatment applied to each sample, that is, no treatment versus decontamination/gut dissection (both treatments were lumped as a single external-DNA exclusion variable). Possible effects of the amplification protocol considered the results from direct sequencing of unique PCR products, either with universal or internal primers (again to balance sample sizes), separately from those obtained from reamplification of excised agarose gel bands. Significance of the effect of variables on the response matrix was assessed using ANOVA on the CCA axes with 999 data permutations, and the potential effect of the order of inclusion of explanatory variables in the analysis was controlled trying alternative ordinations of these variables. Results from the test were graphically represented as a distance biplots for significant CCA axes.

## Results

#### *Retrieval of putative diet sequences*

The 261 beetle specimens analyzed (72% of total available) yielded 316 *psbA-trnH* sequences ranging in length between 93 and 573 nucleotides. Of these, 194 sequences were the result of direct sequencing of a single PCR product using either universal (57 sequences) or reamplification with custom internal primers (137 sequences), and 122 were obtained from reamplification of excised agarose gel bands. Mononucleotide repeats (deoxyadenosine and thymidine) affected 15% of the sequences, and they were removed before using the sequences for taxonomic inference. Table 2 shows the amount of sequences obtained for each experimental group and sequencing strategy.

#### *Building up and refinement of psbA-trnH reference database for BAGpipe*

The latest GenBank public release at the time of preparation of this study (August 2014) together with our

**Table 2** Number of *psbA-trnH* sequences obtained in each experimental group of leaf beetles (*N*, number of specimens), discriminating between direct sequencing of PCR products (either with original or internal primers) and those requiring previous excision and reamplification of multiple agarose gel bands.

Experimental group	<i>N</i>	Direct sequencing	Excised bands
<i>Ischnocodia annulus</i>	20	7	23
Alticinae untreated	57	36	39
Alticinae decontaminated	147	122	48
<i>Physsonota alutacea</i> untreated	9	3	8
<i>P. alutacea</i> guts	28	26	4
Total	261	194	122

Nicaraguan plant *psbA-trnH* database produced a reference database with 34 686 *psbA-trnH* sequences. The initial step of the pipeline with a default 90% identity threshold split the data, that is, the 316 *psbA-trnH* sequences, into 48 query groups. Five of these groups included more than 500 and up to 2103 homologues to one or several putative diet sequences, four of them with more than 1000 sequences corresponding to three abundant and well represented plant families in GenBank (Asteraceae, Fabaceae, and Poaceae) and the fifth group to the monocot family Musaceae. The putative diet sequences in these clusters were run through the initial step of the pipeline with increased identity thresholds (93%–99%) to produce query groups smaller than 500 sequences for efficient processing. Conversely, 12 query groups retrieved less than 10 sequences from the reference database and in some cases no sequence at all. In these cases, initial identity thresholds were decreased (80%–89%) and 10 query groups obtained 10–24 homologues for subsequent steps. Three of the query groups remained smaller and an alternative strategy was used by allowing the reference database to include shorter fragments, down to 150 nt long (default in pipeline settings = 200 nt). This modification allowed inclusion of the putative diet sequences in these groups into larger query groups with 11–22 homologues. Once each query group had a suitable size for analysis, the rest of the BAGpipe identification pipeline could be run using default settings.

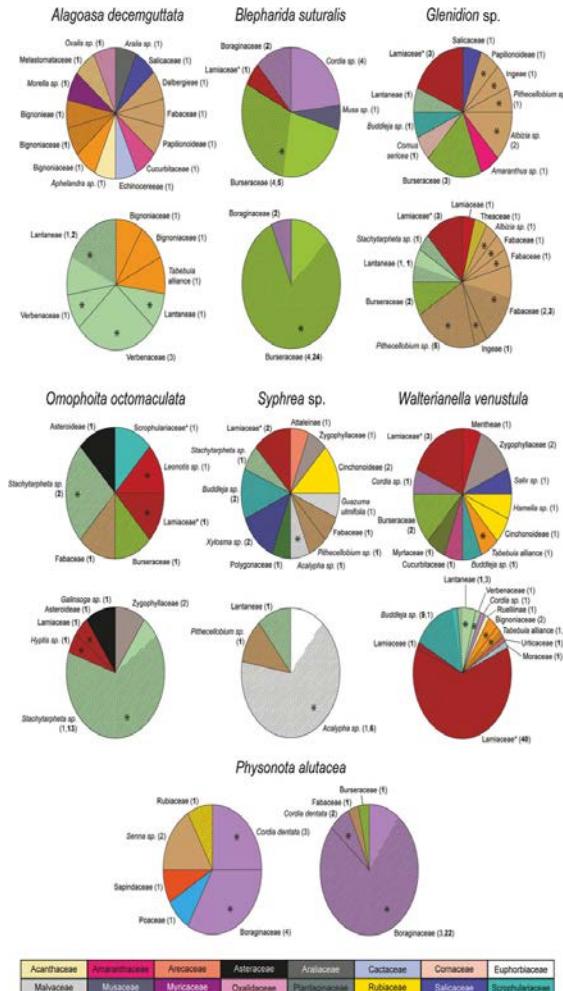
As in our first study using BAGpipe (Papadopoulou et al., 2015), some inferences were compromised by seemingly erroneous taxonomic metadata in GenBank or by unresolved nomenclature discrepancies. These problems were detected after running the analysis and obtaining taxonomically lax identifications suggestive of very divergent taxonomic ranks included in the same query

group. Problematic sequences were identified and excluded from their respective query groups before rerunning the pipeline (Table S2).

#### Inference of insect–plant associations

The BAGpipe analysis of 316 *psbA-trnH* sequences from the three experimental groups yielded 77 different plant sources (species), which belonged to 31 botanical families in 21 orders (Fig. 1 & Table S3). Different taxonomic identification criteria had an impact on the accuracy of the identification, whereby the strict tree-based method had in general terms lower precision (i.e., inferred higher taxonomic ranks) and higher accuracy (i.e., inferences were more reliable), while the opposite was generally true for a best-match phenetic approach (Table 3). All sequences were confidently placed in their plant family regardless of the procedure used, while inferences to tribal or equivalent suprageneric rank dropped to 42.4% using a tree-based strict criterion and to 79.0% using a tree-based liberal criterion. Genera were unequivocally assigned in 27.0% of cases using the strict criterion or tentatively to 68.0% of cases based on the relaxed liberal criterion.

The 20 specimens of *Ischnocodia annulus* collected on five species of five plant families yielded inferences of 15 plant species in nine plant families, but only two of them represented taxonomic matches between field observations and laboratory inferences (Table 4). The results from the experimental groups of Alticinae and the inferred plant associations for *Physsonota alutacea* are shown in Fig. 1. Data obtained for *Alagoasa decemguttata* were consistent with associations with 20 plant species in 11 families, with Verbenaceae and Bignoniacae dominating the inferences. The sequences obtained from *Blepharida suturalis* belonged to five plant species in four families, with most inferences corresponding to Burseraceae. In the case of *Glenidion* sp., we inferred 17 species in nine families, with Fabaceae and Lamiaceae being the most recurrent. For *Omophoita octomaculata*, we found 11 species in seven families, mainly in the Verbenaceae. For *Syphrea* sp., there were 13 species in 11 families, and the most abundant record was one species of Euphorbiaceae. Finally, for *Walterianella venustula*, we inferred 19 species in 14 families, but mainly in Lamiaceae. In the case of the tortoise beetle *P. alutacea*, data suggested interaction with eight plant species in six plant families, with most inferences corresponding to several species of *Cordia* (Boraginaceae). Excised bands always produced more inferences than direct sequencing and, with only few exceptions, the inferences from direct sequencing were a proper subset of those obtained from excised and reamplified bands.



**Fig. 1** Taxonomic identity and diversity of plant *psbA-trnH* sequences amplified from DNA extracts of six species of Alticinae (*A. decemguttata*, *B. suturalis*, *Glenidion* sp., *O. octomaculata*, *Sypheira* sp., and *W. venustula*) and one of Cassidinae (*P. alutacea*). Top (Alticinae) or left (*P. alutacea*) pie charts show data obtained from reamplification of excised agarose gel bands, and bottom (Alticinae) or right (*P. alutacea*), those obtained from direct sequencing with or without reamplification. For clarity, sequences obtained from treated specimens (i.e., decontaminated for Alticinae or dissected guts for *P. alutacea*) are hatched, and the number of sequences obtained with and without treatment given as boldface and plain font, respectively. An asterisk denotes plant families reported as host-plants of the respective species in the literature. Inferences labeled as "Lamiaceae\*" are indistinguishable and phylogenetically nested within *Vitex* spp., but the strict inference criterion in BAGpipe failed to recover this inference. Different colors are used for different plant families, and the ones that are not mentioned by name in some of the pie charts are shown in the legend.

**Table 3** Taxonomic precision of BAGpipe plant identifications based on *psbA-trnH* sequence data obtained from different leaf beetle species (*N*, number of specimens). The number of sequences placed by different identification criteria in specific (S), generic (G), suprageneric (T), or familial (F) categories is given, showing a trend toward reduced precision when applying more stringent criteria (while increasing accuracy in the prediction).

Beetle taxon	<i>N</i>	Best-match				1% threshold <sup>†</sup>				Tree-based liberal				Tree-based strict				
		S	G	T <sup>‡</sup>	F	S	G	T <sup>‡</sup>	F	S	G	T <sup>‡</sup>	F	S	G	T <sup>‡</sup>	F	
		25	17	8	0	0	7	2	2	1	9	3	9	4	0	3	9	13
<i>Alagoasa</i>	47	18	29	0	0	4	43	0	0	4	42	0	1	0	5	0	42	
<i>Blepharida</i>	40	26	14	0	0	11	22	2	0	13	15	5	7	0	13	6	21	
<i>Glenidion</i>	30	27	2	1	0	6	3	0	1	10	5	11	4	0	7	18	5	
<i>Ischnocodia</i>	28	26	2	0	0	7	18	0	0	24	3	0	1	0	19	2	7	
<i>Onthophoita</i>	41	32	9	0	0	7	32	0	1	8	31	0	2	5	2	0	34	
<i>Physonota</i>	25	22	2	0	1	12	5	2	1	14	4	3	4	1	15	4	5	
<i>Syphrea</i>	80	76	4	0	0	24	44	0	0	23	6	8	43	0	15	10	55	
<i>Walterianella</i>	Total	316	244	70	1	1	78	169	6	4	105	109	36	66	6	79	49	182

<sup>†</sup>Not all sequences grouped in named assemblages, therefore these results represent a subset of all sequences available.

<sup>‡</sup>Tribe or suprageneric assemblage.

**Table 4** Taxonomic inferences based on *psbA-trnH* data for a sample of specimens (*N*) of *Ischnocodia annulus* collected on different plants.

Inference	<i>N</i>	Source of specimens				
		Mora- ceae	Myrta- ceae	Primu- laceae	Rhamn- aceae	Rubi- aceae
Acanthaceae	1					1
Boraginaceae	1			1		
Cucurbitaceae	2					2
Fabaceae	2	2	2			
Malvaceae	2		1, 1	2		1, 1
Myrtaceae	1		1*			
Poaceae	1			1		
Polygonaceae	2			2		
Rubiaceae	3		4, 1	3	1	3*
Total	15	2	10	9	1	8

Note: Boldface font indicates data obtained by direct sequencing of PCR products and round font those requiring previous excision and reamplification of multiple agarose gel bands. Asterisks (\*) highlight matches between source plant and inferred association.

#### Statistical assessment of treatment effects

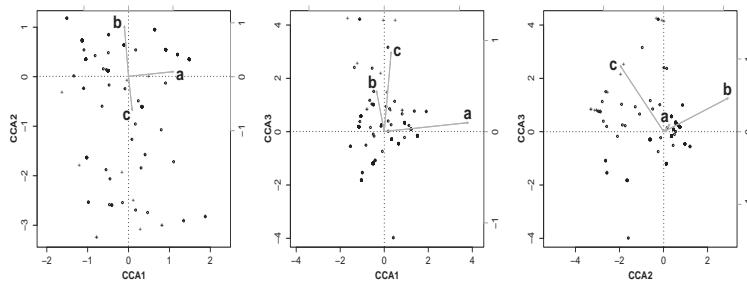
Our main aim was testing whether plant inferences were significantly different between laboratory treatments, incorporating two relevant binary explanatory variables to the analysis, besides a control for the beetle species: (i) no

or special treatment of samples to avoid external contamination and (ii) obtaining single or multiple PCR products. The CCA model showed that there were significant differences between samples (chi-square [3 df] = 1.2321,  $P = 0.001$ ), with a 6.08% of variation nonrandomly distributed according to the explanatory variables. The first 3 canonical axes were significant ( $P_{CCA1, CCA2} = 0.001$ ,  $P_{CCA3} = 0.007$ ) and explained 57.8%, 27.3%, and 14.9%, respectively, of total variation, and the 3 explanatory variables were highly significant too ( $P < 0.002$ ). Fig. 2 shows the distance biplots resulting from the CCA, highlighting that most of the variation represented on the first axis corresponds to the species, whereby second and third axes accumulate most of the variation determined by laboratory procedures, with a major contribution of treatment on the second axis and of PCR characteristics on the third axis.

#### Discussion

##### Wide breadth of DNA-based trophic ecologies

All our inferences of host–plant associations show a similar pattern as those already reported in the literature using PCR-based methods: the breadth of inferred associations is remarkably high, even for species considered particularly conservative in their food choice. For example, we obtained data compatible with up to 14 plant families putatively ingested by *Walterianella venustula* or 11 by *Alagoasa decemguttata* and *Syphrea* sp., in



**Fig. 2** Correspondence analysis distance biplots according to the first 3 ordination axes of leaf beetle DNA-based diet inference data, with *a posteriori* projection of explanatory variables (a, species; b, treatment; c, amplification protocol). Crosses mark the tip of vectors representing response variables ("species scores" in CCA), and circles the ordinated weighted averages of individuals as expressed in the space of response variables ("site scores" in CCA). The first CCA1 axis ordinates data mainly according to species, while the CCA2 and CCA3 axes ordinate according to the other two variables.

every case representing deeply divergent angiosperm lineages. Moreover, for species known to be narrowly specialized in their food choice, such as *Blepharida suturalis*, expected to feed on Burseraceae like all of its close relatives (Furth, 1998), or *Physoneta alutacea*, that is known to feed on the borage *Cordia* spp. (e.g., Flowers & Janzen 1997; J.-M. Maes, pers. obs.), the number of inferred food plants is also relatively high: four and six divergent angiosperm plant families, respectively. Given the lack of reliable prior information on the ecology of these species (except maybe for *P. alutacea*) and the fragmented nature of the existing records, there is no reason *a priori* to cast doubt on these results, that is, these species might be indeed highly polyphagous. Interestingly, while DNA-based results contrast with the scant information published on these species, they generally confirm the previous records, as in most cases (apart from *Ischnocodia annulus* and *W. venustula*) the prevalent inference precisely coincides with one or more host-plant families already identified in the literature (Table S1).

Indeed, it is an extremely common pattern that DNA-based analyses of diets, regardless of the organism and feeding strategy, produce a higher number of prey species than those obtained by other methods. Among predator vertebrates there are several examples including fish (Taguchi *et al.*, 2014), lizards (Kartzinel & Pringle, 2015), birds (Alonso *et al.*, 2014), felines (Shehzad *et al.*, 2012), and bats (Clare *et al.*, 2014; Krüger *et al.*, 2014). In the case of marine invertebrates, examples can be found for squid (Braley *et al.*, 2010) and amphipods (Olsen

*et al.*, 2014), among others. But it is precisely the case of herbivore insects, particularly beetles, where we find this effect more consistently, in part because their ecologies are less well studied. Jurado-Rivera *et al.* (2009) already found a few divergent and difficult to explain trophic links for Australian Chrysomelinae specialists, and subsequent work on a range of specialist and generalist leaf beetle and weevil groups consolidated the pattern (Gómez-Zurita *et al.*, 2010; Pinzón-Navarro *et al.*, 2010; García-Robledo *et al.*, 2013; Kishimoto-Yamada *et al.*, 2013; Kitson *et al.*, 2013; Gómez-Zurita & Cardoso, 2014; Papadopoulou *et al.*, 2015). Such wide trophic spectra reported in the literature using molecular methods, as well as our current results, could simply reflect the uniformity and durability of DNA relative to other characters for identification (e.g., some food sources will not leave morphologically identifiable remains) or the high sensitivity of PCR even with small quantities of starting DNA (Symondson, 2002; Zarzoso-Lacoste *et al.*, 2013; Paula *et al.*, 2014). Yet, it is also well known that PCR introduces biases when applied to heterogeneous samples with multiple DNA templates, which commonly produces an opposite trend, that is, it reduces the number of inferred diets (false negatives). Alternatively, PCR biases may select against the true diet in favor of other sources of DNA, being also prone to artefacts and confounding results (King *et al.*, 2008; Ji *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2013; Symondson & Harwood, 2014; Ficetola *et al.*, 2015). Thus, the question still remains whether the increased spectra of inferences observed here and in other recent DNA-based studies are reliable or heavily biased by PCR artifacts.

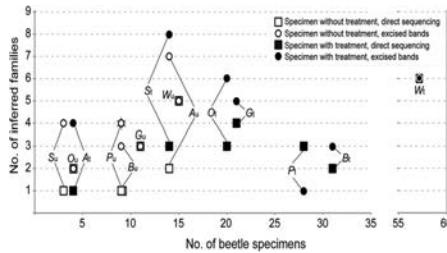
### Interpreting wide DNA-based trophic spectra

Most authors interpret the kind of results described above as hard evidence for spectacularly wide host ranges, for example covering from ferns and gymnosperms to several groups of angiosperms for a single leaf beetle species (e.g., Kishimoto-Yamada *et al.*, 2013). However, in certain cases the results are questioned to some degree by the authors, especially when the obtained inferences are odd in a particular geographic context. For example, Gómez-Zurita *et al.* (2010) raised concerns about exotic gymnosperm sequences putatively representing the food of *Arisipoda* flea beetles in New Caledonia, as well as sequences of angiosperm plant species that had not been recorded in the island, otherwise intensively researched by botanists. If such results represent analytical biases, they may be addressed using modifications of experimental protocols (e.g., PCR enrichment techniques; O'Rorke *et al.*, 2012), deep-sequencing (e.g., Piñol *et al.*, 2014), PCR replication (Ficiolà *et al.*, 2015), or abandoning PCR-based approaches altogether (e.g., Zhou *et al.*, 2013; Paula *et al.*, 2014). However, none of these proposed strategies can deal effectively with the problem of contaminating DNA from a source other than food, including secondary predation in the case of predators (Sheppard *et al.*, 2005), although this problem is unlikely to affect insect herbivores.

A small number of experiments have been specifically designed in the recent past to investigate this important concern, the impact of external contamination on molecular inference of ecological associations. For example, Harwood & Greenstone (2008), Chapman *et al.* (2010), Greenstone *et al.* (2011), and King *et al.* (2012) tested the proposition that certain collecting techniques may increase the chances of external contamination (King *et al.*, 2008). These studies found contradictory results, with only the latter two reporting an effect of the collecting method. Interestingly and alarmingly, Greenstone *et al.* (2011) failed to entirely discard effects of external contamination even under experimental conditions expected to exclude this possibility. Following up on these results, Greenstone *et al.* (2012) evaluated bleaching protocols to oxidize external DNA contamination and verified the mitigation (but not exclusion, again) of the risk of cross-contamination (similar approach with similar conclusions but avoiding bleaching of delicate marine organisms was developed by O'Rorke *et al.*, 2013). All in all, the results of these tests are not entirely conclusive on the real prevalence and danger that external contamination poses to large-scale analyses of feeding ecology, and this risk is deemed unpredictable (Greenstone *et al.*, 2012). In this respect, the results obtained for *Ischnocodia tortoise*

beetles are particularly intriguing, as molecular inference fails to recover in most cases the expected host-plants reported in the literature for these beetles, neither it detects the closest and most recent source of potential external contamination, that is, the plant upon which the insects were captured in the field.

In our study, decontaminated samples still produce a high diversity of diet inferences in some cases, but proportionally lower relatively to the number of individuals analyzed (Fig. 3). If these results are an extension of those of Greenstone *et al.* (2012) they may suggest that the exact external DNA oxidation protocol requires optimization for every type of sample, or alternatively that these extra inferences indeed represent real host-plant associations. In particular, in the case of *Physonota tortoise* beetles, given our results based on externally decontaminated specimens and the exclusive use of guts as source of DNA, it appears reasonable to assume multiple sources of food. However, the combination of results for known specialist beetle taxa, yield of multiple products from a single PCR with an overall increased diversity of inferences from these multiple bands, and statistically significant differences among treatments, cast a reasonable doubt on the quality and reliability of our molecular inferences and by extension on those of similar studies. Hereward & Walter (2012) proposed that a sound strategy to disentangle real trophic ecology from methodological biases laid on a quantitative approach considering large samples of individual incidence on potential hosts, potential host diversity, considerations on different life stages and the match of molecular diet analyses with field data. This procedure, ideal as it sounds, is nonetheless impracticable for large-scale biodiversity studies, particularly in the tropics, where neither the flora nor the insect diversity can be properly sampled or identified in the field (e.g., Burgar *et al.*, 2014; Kartzinel & Pringle, 2015; Papadopoulou *et al.*, 2015), and it still does not solve the problem of contamination of samples with environmental DNA. However, in agreement with Hereward & Walter (2012), our experience shows that part of the answer may reside indeed in the analyses of large samples of individuals belonging to the same species. The taxonomically bounded repetition of the same experiment may reveal qualitatively reliable trophic associations, including generalist ecologies, using frequency-dependent argumentation, whereas rare inferences can be considered only tentatively. For example, our reiterated inference of Fabaceae and Lamiaceae as food plants for the relatively well-sampled *Glenidion* sp. or Lamiaceae and Scrophulariaceae for *Walterianella venustula*, are strongly suggestive of these species being able to feed on at least two divergent plant families (and possibly some others). In summary, many circumstantial



**Fig. 3** Absolute number of inferred plant families putatively used as food by several species of leaf beetle (*A*, *Alagoasa decemguttata*; *B*, *Blepharida suturalis*; *G*, *Glenidion* sp.; *O*, *Omophoita octomaculata*; *P*, *Physotoma alutacea*; *S*, *Syphrea* sp.; *W*, *Walterianella venustula*), distinguishing between untreated (subscript u and white symbols) or treated samples (subscript t and black symbols) and direct sequencing (squares) or from excised bands (circles). The absolute number of plant families inferred as putative leaf beetle diet does not show a consistent pattern, with some species producing clear increments (*A*, *G*, *S*, *O*) and some a negligible increase or a reduction (*B*, *P*, *W*). Excised bands (circles) typically generate more inferences than direct sequencing (squares) within the same experimental group.

behavioral and environmental factors limit the quantitative utility of molecular approaches to diet assessment (Furlong, 2015). It may be tempting to consider the use of real-time PCR to quantify the contribution to PCR of different templates per individual sample, under the assumption that contaminant DNA will be less abundant than diet DNA. However, this approach would not be efficient for medium- and large-scale studies, as it would require recognizing first which barcode variants are present in each individual sample in order to design probes (e.g., TaqMan) and subsequently quantify each specific product. Moreover, the assumption that diet DNA should be overrepresented may not be realistic in all cases. Nevertheless, the qualitative value of presence/absence data can be certainly improved with increased sample sizes, under the assumption that the biasing factors (e.g., external DNA contamination) will not affect all specimens and in the same direction, that is, they will produce random, rather than systematic error.

#### Empirical, methodological, and conceptual considerations

King *et al.* (2008) proposed a valid and rather comprehensive catalogue of good practices for molecular assessment of diet. Empirical data, including our results here, suggest that there is indeed an effect of certain procedures on the outcome of the analyses. Yet, it is unclear how to evaluate the reliability of results (e.g., based on the persistence of external contamination; Greenstone *et al.*, 2012). According to our empirical results, certain proce-

dures, such as working with singly and effortlessly obtained PCR products, especially if the same inference is reiterated for several individuals, appears as a more reliable strategy than forcing the PCR to work with degraded templates and increasing the chances of amplifying contaminating DNA. We can only speculate on the reasons for the obtained pattern, but the inclusion of results based on multiple bands had a significant effect on the outcome and also on the range of inferences, also with very reduced redundancy of results (Figs. 1 and 3). PCR-free methodologies (Paula *et al.*, 2014) exploiting the benefits of next-generation sequencing for diet assessment (Harwood & Symondson, 2014 and references therein) appear as a more robust approach, in particular when dealing with low-quality and degraded DNA, minimizing the bias of PCR picking on a nondiet template, and it would be interesting to compare our current results from results obtained with those methods. Furthermore, stricter laboratory procedures such as the ones used for ancient DNA studies, including working in aseptic environments, may benefit the molecular study of trophic ecology (Ficietola *et al.*, 2015). While we paid special attention in the lab to minimize the chance of cross-contamination or contamination with environmental DNA, some results indicate that we did not avoid entirely this risk during PCR preparation. Specifically, we inferred an association with *Cornus sericea* from one decontaminated sample of *Glenidion* sp. based on an excised gel band. Cornaceae are not present in the flora of Nicaragua (Stevens *et al.*, 2001), and *C. sericea* is precisely the confirmed host-plant of several North American leaf beetle species in the genus *Caligrapha* extensively studied in our laboratory (the same

may possibly apply to the inference of *Salix* sp. for one individual of *Walterianella venustula*).

The success and reliability of DNA-based diet assessment may be conditioned to some extent by the natural history of the organism under scrutiny. Large and passive herbivore insects, actively and frequently feeding both as larvae and adults may provide a better food DNA template for diet inference studies, than small, active insects, exposed to multiple sources of environmental DNA. Our previous work with Chrysomelinae, relatively large and passive leaf beetles commonly grazing on their host-plant, similarly to *Physonota alutacea* or *Blepharida suturalis* studied here, proved particularly unchallenging for diet assessment, generally retrieving the expected host-plant (Jurado-Rivera *et al.*, 2009; Montelongo & Gómez-Zurita, 2013). Previous studies that assessed the effect of animal size on prey detection success suggest that these two factors are not related, or that there might be a more important effect of prey type or feeding strategy on success rate (Hosseini *et al.*, 2008; Eitzinger *et al.*, 2014). Perhaps the higher detection success when working with those large Chrysomelinae beetles in comparison to most flea beetles investigated here or to other leaf beetles from previous studies (Gómez-Zurita *et al.*, 2010; Gómez-Zurita & Cardoso, 2014) is not strictly related with body size *per se*, but with the increased chances of collecting (and immediately sacrificing) the specimens while they are actually feeding, thus with enough nondigested plant tissue in their guts, which improves the overall quality of template DNA. Despite relatively long persistence times documented for food DNA in arthropods (e.g., Hosseini *et al.*, 2008; Wallinger *et al.*, 2013), time between meals may challenge detection in smaller, actively wandering insects.

On the other hand, except for the few blatant cases of PCR contamination in the laboratory such as the ones mentioned above, a broad trophic niche inferred from DNA may indeed reflect generalist ecologies, a possibility that certainly requires further consideration. The degree, range, and meaning of host specificity of insect herbivores is still a contentious issue in ecology (Barrett & Heil, 2012), more so in the case of tropical insects, our target of research, including the current focus on leaf beetles found in Nicaraguan seasonally dry forests. In general terms, it is assumed that insect host-specificity in the tropics may not be significantly higher than in temperate areas, if not lower (Basset, 1992; Novotny *et al.*, 2002; Novotny & Basset, 2005), and diet-mixing has been proposed as a strategy that provides with fitness benefits (reviewed in Singer, 2008) or a survival strategy on suboptimal resources when the required host-plant is not available (e.g., Hereward & Walter, 2012). The accumulation and verification of data supporting broad niches for tropical

herbivorous species, and comparable data with reversed trends for temperate species, may grant support to the theories proposing widespread generalist habits in the tropics (e.g., Novotny *et al.*, 2002; Novotny & Weiblen, 2005). Nonetheless, in the light of our results and of dozens of studies revealing similar patterns, it will be sensible to treat DNA-based inferences of trophic connectance as mere scientific hypotheses. Assessing their reliability may ultimately require a return to origins, conducting field and laboratory tests the hard way to evaluate whether a particular organism can develop, survive and reproduce on a particular diet inferred by molecular means.

### Acknowledgments

Miquel Palmer (IMEDEA, CSIC, Balearic Is., Spain) provided fundamental advice on the statistical approaches used in the study. We are also indebted to Indiana Coronado (Herbario Univ. Nacional Autónoma de Nicaragua, León, Nicaragua) for plant identification and fieldwork assistance, and to Anabela Cardoso (IBE, CSIC, Barcelona, Spain) and Jazmina Reyes and Ricardo Rueda (Herbario Univ. Nacional Autónoma de Nicaragua, León, Nicaragua) for fieldwork assistance. Two reviewers and Prof. Zhao provided with supportive and constructive comments to improve our original text. This research was primarily funded by the programme on "Ecology and Conservation Biology" of the Spanish Fundación BBVA (BIOCON08-045), with additional help from the Interuniversity Cooperation and Research Programme (PCI C/032352/10) for fieldwork and a predoctoral scholarship to GDC, both from the Spanish Agency for International Cooperation and Development (AECID) of the Ministry of Foreign Affairs and Cooperation (MAEC). GDC also received support from a SENESCYT scholarship (Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación, Ecuador). All samples used in this study were obtained with acknowledged collection and exportation permits (special authorizations: DGPN/DB-035-2009, DGPN/DB-12-2010, and DGPN/DB-40-2011) by the Direction of Biodiversity of the Nicaraguan Ministry of the Environment and Natural Resources (MARENA).

### Disclosure

The authors declare that there is no conflict of interest.

### References

- Alonso, H., Granadeiro, J.P., Waap, S., Xavier, J., Symondson, W.O.C., Ramos, J.A. and Catry, P. (2014) An holistic

- ecological analysis of the diet of Cory's shearwaters using prey morphological characters and DNA barcoding. *Molecular Ecology*, 23, 3719–3733.
- Barrett, L.G. and Heil, M. (2012) Unifying concepts and mechanisms in the specificity of plant–enemy interactions. *Trends in Plant Science*, 17, 282–292.
- Bascompte, J. (2009) Disentangling the web of life. *Science*, 325, 416–419.
- Basset, Y. (1992) Host specificity of arboreal and free-living insect herbivores in rain forests. *Biological Journal of the Linnean Society*, 47, 115–133.
- Basset, Y., Samuelson, G.A., Allison, A. and Miller, S.E. (1996) How many species of host-specific insects feed on a species of tropical tree? *Biological Journal of the Linnean Society*, 59, 201–216.
- Braley, M., Goldsworthy, S.D., Page, B., Steer, M. and Austin, J.J. (2010) Assessing morphological and DNA-based diet analysis techniques in a generalist predator, the arrow squid *Nototodarus gouldi*. *Molecular Ecology Resources*, 10, 466–474.
- Brown, P.M.J., Ingels, B., Wheatley, A., Rhule, E.L., de Clercq, P., van Leeuwen, T. and Thomas, A. (2015) Intraguild predation by *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) on native insects in Europe: molecular detection from field samples. *Entomological Science*, 18, 130–133.
- Burgar, J.M., Murray, D.C., Craig, M.D., Haile, J., Houston, J., Stokes, V. and Bunce, M. (2014) Who's for dinner? High-throughput sequencing reveals bad dietary differentiation in a biodiversity hotspot where prey taxonomy is largely undescribed. *Molecular Ecology*, 23, 3605–3617.
- Cagnolo, L., Salvo, A. and Valladares, G. (2011) Network topology: patterns and mechanisms in plant–herbivore and host-parasitoid food webs. *Journal of Animal Ecology*, 80, 342–351.
- Carreon-Martinez, L. and Heath, D.D. (2010) Perspective. Revolution in food web analysis and trophic ecology: diet analysis by DNA and stable isotope analysis. *Molecular Ecology*, 19, 25–27.
- Chapman, E.G., Romero, S.A. and Harwood, J.D. (2010) Maximizing collection and minimizing risk: does vacuum suction sampling increase the likelihood for misinterpretation of food web connections? *Molecular Ecology Resources*, 10, 1023–1033.
- Clare, E.L., Symondson, W.O.C. and Fenton, M.B. (2014) An inordinate fondness for beetles? Variation in seasonal dietary preferences of night-roosting big brown bats (*Eptesicus fuscus*). *Molecular Ecology*, 23, 3633–3647.
- Descampe, A., Meskens, C., Pastels, J., Windsor, D.M. and Hance, T. (2008) Potential and realized feeding niches of neotropical hispine beetles (Chrysomelidae: Cassidinae, Cephaloleiini). *Environmental Entomology*, 37, 224–229.
- Dormann, C.F., Fründ, J., Blüthgen, N. and Gruber, B. (2009) Indices, graphs and null models: analyzing bipartite ecological networks. *Open Ecology Journal*, 2, 7–24.
- Drummond, A.J., Ashton, B. and Buxton, S. (2010) *Geneious v5.3.6*. Biomatters Ltd., Auckland, New Zealand.
- Eitzinger, B. and Traugott, M. (2011) Which prey sustains cold-adapted invertebrate generalist predators in arable land? Examining prey choices by molecular gut-content analysis. *Journal of Applied Ecology*, 48, 591–599.
- Eitzinger, B., Unger, E.M., Traugott, M. and Scheu, S. (2014) Effects of prey quality and predator body size on prey DNA detection success in a centipede predator. *Molecular Ecology*, 23, 3767–3776.
- Ekrem, T., Willlassen, E. and Stur, E. (2007) A comprehensive DNA sequence library is essential for identification with DNA barcodes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43, 530–542.
- Erwin, T.L. (1982) Tropical Forests: their richness in Coleoptera and other arthropod species. *Coleopterists' Bulletin*, 36, 74–75.
- Ficetola, G.F., Pansu, J., Bonin, A., Coissac, E., Giguet-Covez, C., de Barba, M., Gielly, L., Lopes, C.M., Boyer, F., Pompanon, F., Rayé, G. and Taberlet, P. (2015) Replication levels, false presences and the estimation of the presence/absence from eDNA metabarcoding data. *Molecular Ecology Resources*, 15, 543–556.
- Flowers, R.W. and Janzen, D.H. (1997) Feeding records of Costa Rican leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Florida Entomologist*, 80, 334–366.
- Furlong, M.J. (2015) Knowing your enemies: integrating molecular and ecological methods to assess the impact of arthropod predators on crop pests. *Insect Science*, 22, 6–19.
- furth, D.G. (1998) Revision of the new world *Blepharida* (Coleoptera: Chrysomelidae: Alticinae). *Memoirs of the Entomological Society of Washington*, 21, 1–109.
- García-Robledo, C., Erickson, D.L., Staines, C.L., Erwin, T.L. and Kress, W.J. (2013) Tropical plant–herbivore networks: reconstructing species interactions using DNA barcodes. *PLoS ONE*, 8, e52967.
- Gariipy, T.D., Haye, T. and Zhang, J. (2014) A molecular diagnostic tool for the preliminary assessment of host-parasitoid associations in biological control programmes for a new invasive pest. *Molecular Ecology*, 23, 3912–3924.
- Gibson, J., Shokralla, S., Porter, T.M., King, I., van Kynnenburg, S., Janzen, D.H., Hallwachs, W. and Hajibabaei, M. (2014) Simultaneous assessment of the macrobiome and microbiome in a bulk sample of tropical arthropods through DNA metasystematics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111, 8007–8012.
- Gómez-Zurita, J. and Cardoso, A. (2014) Systematics of the New Caledonian endemic genus *Taophila* Heller (Coleoptera: Chrysomelidae, Eumolpinae) combining morphological,

- molecular and ecological data, with description of two new species. *Systematic Entomology*, 39, 111–126.
- Gómez-Zurita, J., Cardoso, A., Jurado-Rivera, J.A., Jolivet, P., Cazères, S. and Mille, C. (2010) Discovery of a new species of New Caledonian *Arsipoda* Erichson, 1842 (Coleoptera: Chrysomelidae) and insights on their ecology and evolution using DNA markers. *Journal of Natural History*, 44, 2557–2579.
- Greenstone, M.H., Weber, D.C., Coudron, T.C. and Payton, M.E. (2011) Unnecessary roughness? Testing the hypothesis that predators destined for molecular gut-content analysis must be hand-collected to avoid cross-contamination. *Molecular Ecology Resources*, 11, 286–293.
- Greenstone, M.H., Weber, D.C., Coudron, T.C., Payton, M.E. and Hu, J.S. (2012) Removing external DNA contamination from arthropod predators destined for molecular gut-content analysis. *Molecular Ecology Resources*, 12, 464–469.
- Greenstone, M.H., Payton, M.E., Weber, D.C. and Simmons, A.M. (2014) The detectability half-life in arthropod predator-prey research: what it is, why we need it, how to measure it, and how to use it. *Molecular Ecology*, 23, 3799–3813.
- Harwood, J.D. and Greenstone, M.H. (2008) Molecular diagnosis of natural enemy-host interactions. *Recent Advances in Insect Physiology, Toxicology and Molecular Biology* (ed. N. Liu), pp. 41–57. Research Signpost, Trivandrum, India.
- Hereward, J.P. and Walter, G.H. (2012) Molecular interrogation of the feeding behaviour of field captured individual insects for interpretation of multiple host plant use. *PLoS ONE*, 7(9), e44435.
- Hosseini, R., Schmidt, O. and Keller, M.A. (2008) Factors affecting detectability of prey DNA in the gut contents of invertebrate predators: a polymerase chain reaction-based method. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 126, 194–202.
- Ji, Y., Ashton, L., Pedley, S.M., Edwards, D.P., Tang, Y., Nakamura, A., Kitching, R., Dolman, P.M., Woodcock, P., Edwards, F.A., Larsen, T.H., Hsu, W.W., Benedict, S., Hamer, K.C., Wilcove, D.S., Bruce, C., Wang, X.Y., Levi, T., Lott, M., Emerson, B.C. and Yu, D.W. (2013) Reliable, verifiable and efficient monitoring of biodiversity via metabarcoding. *Ecology Letters*, 16, 1245–1257.
- Jinbo, U., Kato, T. and Ito, M. (2011) Current progress in DNA barcoding and future implications for entomology. *Entomological Science*, 14, 107–124.
- Joly, S., Davies, T.J., Archambault, A., Bruneau, A., Derry, A., Kembel, S.W., Peres-Neto, P., Vamosi, J. and Wheeler, T.A. (2014) Ecology in the age of DNA barcoding: the resource, the promise and the challenges ahead. *Molecular Ecology Resources*, 14, 221–232.
- Jurado-Rivera, J., Vogler, A.P., Reid, C.A.M., Petitpierre, E. and Gómez-Zurita, J. (2009) DNA barcoding insect-host plant associations. *Proceedings of the Royal Society of London, B Series*, 276, 639–648.
- Kartzin, T.R. and Pringle, R.M. (2015) Molecular detection of invertebrate prey in vertebrate diets: trophic ecology of Caribbean island lizards. *Molecular Ecology Resources*, 15, 903–914.
- King, R.A., Read, D.S., Traugott, M. and Symondson, W.O.C. (2008) Molecular analysis of predation: a review of best practice for DNA-based approaches. *Molecular Ecology*, 17, 947–963.
- King, R.A., Davey, J.S., Bell, J.R., Read, D.S., Bohan, D.A. and Symondson, W.O.C. (2012) Suction sampling as a significant source of error in molecular analysis of predator diets. *Bulletin of Entomological Research*, 102, 261–266.
- Kishimoto-Yamada, K., Kamiya, K., Meleng, P., Diway, B., Kaliang, H., Chong, L., Itoi, T., Sakai, S. and Ito, M. (2013) Wide host ranges of herbivorous beetles? Insights from DNA Bar Coding. *PLoS ONE*, 8(9), e74426.
- Kitson, J.J.N., Warren, B.H., Vincent Florens, F.B., Baider, C., Strasberg, D. and Emerson, B.C. (2013) Molecular characterization of trophic ecology within an island radiation of insect herbivores (Curculionidae: Entiminae: *Cratopus*). *Molecular Ecology*, 22, 5441–5455.
- Klimaszewski, J., Morency, M.J., Labrie, P., Séguin, A., Langor, D., Work, T., Bourdon, C., Thiffault, E., Paré, D., Newton, A.F. and Thayer, M.K. (2013) Molecular and microscopic analysis of the gut contents of abundant rove beetle species (Coleoptera, Staphylinidae) in the boreal balsam fir forest of Quebec, Canada. *ZooKeys*, 353, 1–24.
- Kress, W.J., García-Robledo, C., Uriarte, M. and Erickson, D.L. (2015) DNA barcodes for ecology, evolution, and conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 30, 25–35.
- Krüger, F., Clare, E.L., Greif, S., Siemers, B.M., Symondson, W.O.C. and Sommer, R.S. (2014) An integrative approach to detect subtle trophic niche differentiation in the sympatric trawling bat species *Myotis dasycneme* and *Myotis daubentonii*. *Molecular Ecology*, 23, 3657–3671.
- Meskens, C., McKenna, D.D., Hance, T. and Windsor, D.M. (2011) Host plant taxonomy and phenotype influence the structure of a neotropical host plant-hispine beetle food web. *Ecological Entomology*, 36, 480–489.
- Montagna, M., Gómez-Zurita, J., Giorgi, A., Epis, S., Lozzia, G. and Bandi, C. (2015) Metamicrobiomics in herbivore beetles of the genus *Cryptocnemis* (Chrysomelidae): toward the understanding of ecological determinants in insect symbiosis. *Insect Science*, 22, 340–352.
- Montelongo, T. and Gómez-Zurita, J. (2013) Morphological and molecular characterization of a new Nearctic species of *Calligrapha* Chevrolat, 1836 (Coleoptera: Chrysomelidae, Chrysomelinae) from Central Mexico. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 115, 369–391.
- Montoya, J.M., Pimm, S.L. and Solé, R.V. (2006) Ecological networks and their fragility. *Nature*, 442, 259–264.

- Novotny, V. (2009) Beta diversity of plant-insect food webs in tropical forests: a conceptual framework. *Insect Conservation and Diversity*, 2, 5–9.
- Novotny, V. and Basset, Y. (2005) Host specificity of insect herbivores in tropical forests. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, 272, 1083–1090.
- Novotny, V. and Weiblen, G.D. (2005) From communities to continents: beta diversity of herbivorous insects. *Annales Zoologici Fennici*, 42, 463–475.
- Novotny, V., Basset, Y., Miller, S.E., Weiblen, G.D., Bremer, B., Cizek, L. and Drozd, P. (2002) Low host specificity of herbivorous insects in a tropical forest. *Nature*, 416, 841–844.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P.R., O'Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H. and Wagner, H. (2015) *Vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.2-1. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Olsen, B.R., Troedsson, C., Hadziavdic, K., Pedersen, R.B. and Rapp, H.T. (2014) A molecular gut content study of *Themisto abyssorum* (Amphipoda) from Arctic hydrothermal vent and cold seep systems. *Molecular Ecology*, 23, 3877–3889.
- O'Rorke, R., Laverty, S. and Jeffs, A. (2012) PCR enrichment techniques to identify the diet of predators. *Molecular Ecology Resources*, 12, 5–17.
- O'Rorke, R., Jeffs, A.G., Fitzgibbon, Q., Chow, S. and Laverty, S. (2013) Extracting DNA from whole organism homogenates and the risk of false positives in PCR based diet studies: a case study using spiny lobster larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 441, 1–6.
- Papadopoulou, A., Chesters, D., Coronado, I., De la Cadena, G., Cardoso, A., Reyes, J.C., Maes, J.M., Rueda, R.M. and Gómez-Zurita, J. (2015) Automated DNA-based plant identification for large-scale biodiversity assessment. *Molecular Ecology Resources*, 15, 136–152.
- Paula, D.P., Linard, B., Andow, D.A., Sujii, E.R., Pires, C.S.S. and Vogler, A.P. (2014) Detection and decay rates of prey and prey symbionts in the gut of a predator through metagenomics. *Molecular Ecology Resources*, 15, 880–892.
- Pinzón-Navarro, S., Jurado-Rivera, J.A., Gómez-Zurita, J., Lyal, C.H.C. and Vogler, A.P. (2010) DNA profiling of host-herbivore interactions in tropical forests. *Ecological Entomology*, 35, 18–32.
- Piñol, J., San Andrés, V., Clare, E.L., Mir, G. and Symondson, W.O.C. (2014) A pragmatic approach to the analysis of diets of generalist predators: the use of next-generation sequencing with no blocking probes. *Molecular Ecology Resources*, 14, 18–26.
- Pompanon, F., Deagle, B.E., Symondson, W.O.C., Brown, D.S., Jarman, S.N. and Taberlet, P. (2012) Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing. *Molecular Ecology*, 21, 1931–1950.
- R Development Core Team (2013) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Samuelson, G.A. (2010) Review of *Taophila*, a genus endemic to New Caledonia (Coleoptera: Chrysomelidae: Eumolpinae). *Zootaxa*, 2621, 45–62.
- Shehzad, W., Riaz, T., Nawaz, M.A., Miquel, C., Poillot, C., Shah, S.A., Pompanon, F., Coissac, E. and Taberlet, P. (2012) Carnivore diet analysis based on next-generation sequencing: application to the leopard cat (*Prionailurus bengalensis*) in Pakistan. *Molecular Ecology*, 21, 1951–1965.
- Sheppard, S.K., Bell, J., Sunderland, K.D., Fenlon, J., Skervin, D. and Symondson, W.O.C. (2005) Detection of secondary predation by PCR analyses of the gut contents of invertebrate generalist predators. *Molecular Ecology*, 14, 4461–4468.
- Singer, M.S. (2008) Evolutionary ecology of polyphagy. The evolutionary biology of herbivorous insects. *Specialization, Speciation and Radiation* (ed. K.J. Tilmon), pp. 29–42. University of California Press, Berkeley, CA.
- Singer, M.S., Lichter-Marcz, I.H., Farkas, T.E., Aaron, E., Whitney, K.D. and Mooney, K.A. (2014) Herbivore diet breadth mediates the cascading effects of carnivores in food webs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111, 9521–9526.
- Sint, D., Raso, L., Kaufmann, R. and Traugott, M. (2011) Optimizing methods for PCR-based analysis of predation. *Molecular Ecology Resources*, 11, 795–801.
- Stamatakis, A. (2006) RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, 22, 2688–2690.
- Stamatakis, A., Hoover, P. and Rougemont, J. (2008) A rapid bootstrap algorithm for the RAxML web servers. *Systematic Biology*, 57, 758–771.
- Stevens, W.D., Ulloa, C.U., Pool, A. and Montiel, O.M. (2001) *Flora de Nicaragua (3 volumes)*. Missouri Botanical Garden Press, Missouri, USA.
- Stork, N.E. (1993) How many species are there? *Biodiversity and Conservation*, 2, 215–232.
- Symondson, W.O.C. (2002) Molecular identification of prey in predator diets. *Molecular Ecology*, 11, 627–641.
- Symondson, W.O.C. and Harwood, J.D. (2014) Special issue on molecular detection of trophic interactions: unpicking the tangled bank. *Molecular Ecology*, 23, 3601–3604.
- Taguchi, T., Miura, Y., Krueger, D. and Sugiura, S. (2014) Utilizing stomach content and faecal DNA analysis techniques to assess the feeding behaviour of largemouth bass *Micropterus salmoides* and bluegill *Lepomis macrochirus*. *Journal of Fish Biology*, 84, 1271–1288.

- ter Braak, C.J.F. (1986) Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology*, 67, 1167–1179.
- Thomas, A.C., Jarman, S.N., Haman, K.H., Trites, A.W. and Deagle, B.E. (2014) Improving accuracy of DNA diet estimates using food tissue control materials and an evaluation of proxies for digestion bias. *Molecular Ecology*, 23, 3706–3718.
- Valentini, A., Pompanon, F. and Taberlet, P. (2009) DNA bar-coding for ecologists. *Trends in Ecology and Evolution*, 24, 110–117.
- Wallinga, C., Staudacher, K., Schallhart, N., Peter, E., Dresch, P., Juen, A. and Traugott, M. (2013) The effect of plant identity and the level of plant decay on molecular gut content analysis in a herbivorous soil insect. *Molecular Ecology Resources*, 13, 75–83.
- Zarzoso-Lacoste, D., Corse, E. and Vidal, E. (2013) Improving PCR detection of prey in molecular diet studies: importance of group-specific primer set selection and extraction protocol performances. *Molecular Ecology Resources*, 13, 117–127.
- Zhou, X., Li, Y.Y., Liu, S.L., Yang, Q., Su, X., Zhou, L.L., Tang, M., Fu, R.B., Li, J.G. and Huang, Q.F. (2013) Ultra-deep sequencing enables high-fidelity recovery of biodiversity for bulk arthropod samples without PCR amplification. *GigaScience*, 2, 4.

Accepted November 29, 2015

### Supporting Information

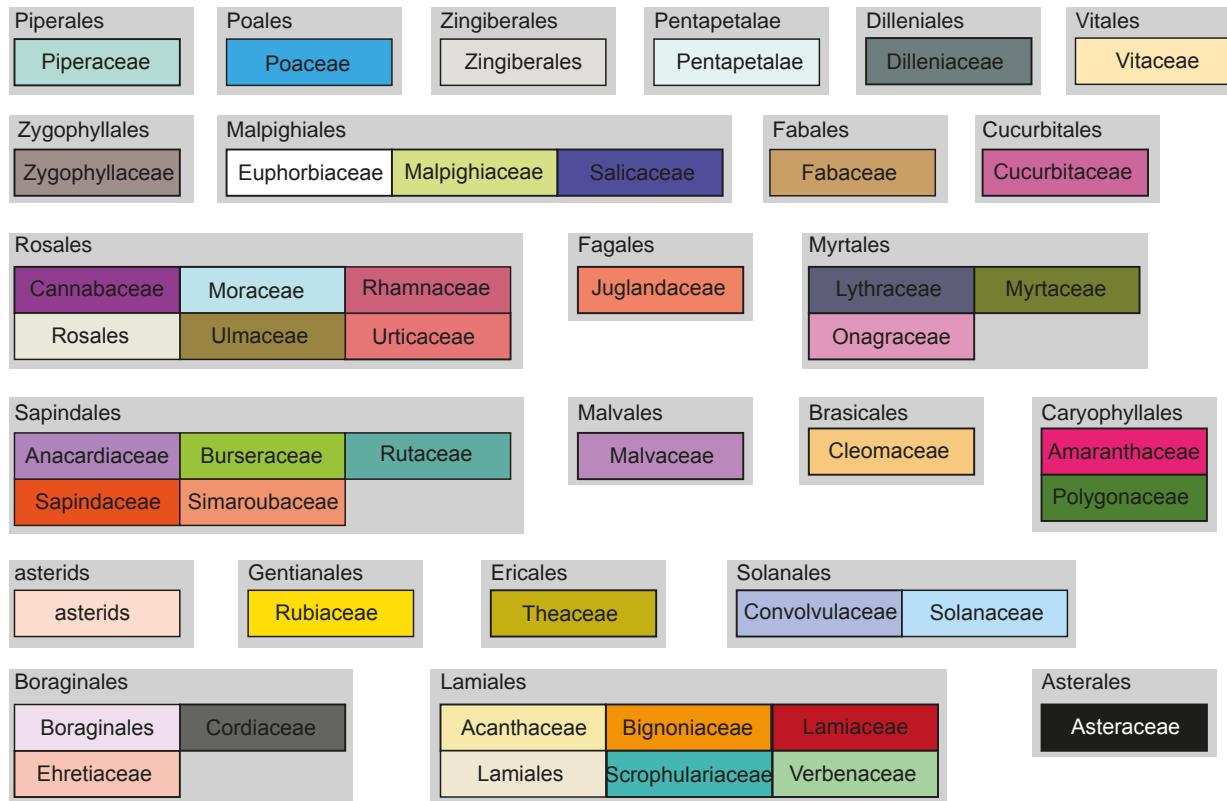
Additional Supporting Information may be found in the online version of this article at the publisher's web-site:

**Table S1** Host plant records obtained from the literature for the same leaf beetle species or species groups studied in our DNA-based evaluation of niche breadth (records that were not related with active plant feeding are not considered here).

**Table S2** GenBank *psbA-trnH* sequences with problematic taxonomy based on their reassessment using the automated identification procedure of BAGpipe (Papadopoulou *et al.*, 2015).

**Table S3** BAGpipe identification of 316 putative diets of several species of leaf beetles, based on *psbA-trnH* sequences, Genbank data, and a customized database of plants present in seasonally dry tropical forest in Nicaragua (obtained from Papadopoulou *et al.*, 2015). PCR/sequencing procedure to obtain the sequence: d, direct sequencing from single PCR product; i, direct sequencing from single PCR product reamplified with internal primers; b, sequencing of reamplified multiple bands excised from agarose gel. Asterisks (\*) denote the specimens devoid of treatment (see main text for details)

**Apéndice VI.** Carta de colores de familias botánicas inferidas según el método de BAGpipe. Se indican los 23 ordenes a los que pertenecen las 46 familias encontradas.



**Apéndice VII.** Catálogo de flora vascular inventariada en cuatro localidades de bosque seco tropical de Nicaragua.

Espece	R. Miraflores-Moropotente	R. Natura	R. Domitila	F. Sierra Serena
<i>Acacia collinsii</i>		x	x	x
<i>Acacia cornigera</i>		x		
<i>Acacia farnesiana</i>			x	
<i>Acalypha alopecuroides</i>		x	x	x
<i>Acalypha chordantha</i>		x		
<i>Acalypha diversifolia</i>				x
<i>Acalypha firmula</i>	x			
<i>Acalypha setosa</i>		x		
<i>Acanthocereus tetragonus</i>		x	x	
<i>Achatocarpus nigricans</i>			x	
<i>Achyranthes aspera</i>		x		
<i>Acrocomia mexicana</i>		x	x	
<i>Acrostichum aureum</i>			x	
<i>Adelia triloba</i>				x
<i>Adiantum concinnum</i>		x		
<i>Adiantum trapeziforme</i>			x	x
<i>Aechmea magdalena</i>				x
<i>Ageratum conyzoides</i>				x
<i>Albizia guachapele</i>	x	x		
<i>Albizia niopoides</i>	x	x		
<i>Albizia saman</i>	x	x	x	
<i>Allophylus racemosus</i>	x	x		
<i>Alternanthera pubiflora</i>	x			x
<i>Alternanthera sessilis</i>	x			
<i>Ambrosia peruviana</i>	x	x		
<i>Ampelocera macrocarpa</i>				x
<i>Amphilophium paniculatum</i>	x	x		
<i>Anacardium excelsum</i>			x	
<i>Andira inermis</i>		x		
<i>Anemopaegma chrysanthum</i>				x
<i>Annona glabra</i>			x	
<i>Annona purpurea</i>	x			x
<i>Annona reticulata</i>	x	x	x	
<i>Annona squamosa</i>	x			

<i>Anoda cristata</i>	x		
<i>Anthurium cubense</i>		x	x
<i>Apeiba tibourbou</i>		x	
<i>Apheleandra scabra</i>	x	x	x
<i>Ardisia opegrapha</i>			x
<i>Ardisia revoluta</i>	x		x
<i>Aristida termipes</i>		x	
<i>Aristolochia anguicida</i>			x
<i>Aristolochia grandiflora</i>		x	
<i>Arrabidaea patellifera</i>	x		x
<i>Asclepias curassavica</i>		x	x
<i>Astronium graveolens</i>	x	x	x
<i>Azadirachta indica</i>	x	x	
<i>Baccharis salicifolia subsp. monoica</i>	x		
<i>Bactris major</i>			x
<i>Baltimora recta</i>	x	x	x
<i>Banisteriopsis acapulcensis</i>			x
<i>Barleria oenotheroides</i>			x
<i>Bauhinia divaricata</i>			x
<i>Bauhinia unguulata</i>	x		
<i>Begonia cardiocarpa</i>			x
<i>Begonia plebeja</i>	x		
<i>Begonia semiovata</i>			x
<i>Bixa orellana</i>	x	x	x
<i>Blechnum appendiculatum</i>			x
<i>Blechum pyramidatum</i>	x	x	
<i>Blepharodon mucronatum</i>	x		
<i>Boerhavia diffusa</i>	x		
<i>Borreria densiflora</i>	x		
<i>Borreria ovalifolia</i>	x		
<i>Bravaisia integerrima</i>	x		x
<i>Brickellia oliganthes</i>	x		
<i>Bromelia pinguin</i>	x	x	
<i>Brosimum alicastrum</i>		x	x
<i>Buddleja americana</i>	x		
<i>Bursera simaruba</i>	x	x	x
<i>Byrsonima crassifolia</i>	x	x	
<i>Byttneria aculeata</i>	x	x	x
<i>Caesalpinia exostemma</i>			x

<i>Caesalpinia</i> sp.		x		
<i>Calea ternifolia</i>	x	x		
<i>Callichlamys latifolia</i>				x
<i>Calopogonium mucunoides</i>		x		
<i>Calycophyllum candidissimum</i>	x	x		
<i>Canavalia brasiliensis</i>		x		
<i>Canavalia ensiformis</i>	x			
<i>Canavalia rosea</i>		x		
<i>Canavalia villosa</i>				x
<i>Caperonia palustris</i>		x		
<i>Capparis flexuosa</i>	x	x		
<i>Capparis frondosa</i>			x	
<i>Capparis indica</i>		x	x	
<i>Capraria biflora</i>	x	x		
<i>Capsicum annuum</i>		x		
<i>Capsicum rhomboideum</i>		x		
<i>Carica papaya</i>		x		
<i>Cascabela ovata</i>		x		
<i>Casearia corymbosa</i>	x	x	x	x
<i>Casearia praecox</i>				x
<i>Cassia grandis</i>	x	x	x	x
<i>Cayaponia racemosa</i>		x		
<i>Cecropia peltata</i>	x	x	x	x
<i>Cedrela odorata</i>	x	x		
<i>Ceiba pentandra</i>	x	x		
<i>Celtis iguanaea</i>	x	x		
<i>Cenchrus echinatus</i>	x			
<i>Cenchrus multiflorus</i>		x		
<i>Centrosema pubescens</i>		x	x	x
<i>Ceratophyllum demersum</i>		x		
<i>Ceratophytum tetragonolobum</i>	x			
<i>Ceratopteris pteridoides</i>	x			
<i>Cestrum nocturnum</i>	x			x
<i>Cestrum scandens</i>		x		
<i>Cestrum tomentosum</i>	x			
<i>Chamaecrista nictitans</i>		x		
<i>Chamaesyce dioeca</i>		x		
<i>Chamaesyce hypericifolia</i>	x			
<i>Chamaesyce hyssopifolia</i>	x	x	x	x

<i>Chamissoa altissima</i>		x	x
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	x		
<i>Chiococca alba</i>	x		
<i>Chiono venosa</i>	x		
<i>Chrysobalanus icaco</i>		x	
<i>Chrysophyllum cainito</i>		x	
<i>Cissus verticillata</i>	x	x	
<i>Citrus limon</i>		x	
<i>Clavija costaricana</i>			x
<i>Clematis grossa</i>	x		
<i>Cleome speciosa</i>		x	
<i>Cleome viscosa</i>	x	x	
<i>Cnidoscolus urens</i>		x	
<i>Coccobola acuminata</i>		x	
<i>Coccobola caracasana</i>	x	x	
<i>Coccobola floribunda</i>		x	
<i>Cochlospermum vitifolium</i>	x	x	
<i>Cojoba sophorocarpa</i>	x		
<i>Combretum farinosum</i>		x	
<i>Commelina diffusa</i>	x	x	
<i>Conyzia bonariensis</i>		x	
<i>Corchorus orinocensis</i>	x	x	x
<i>Corchorus siliquosus</i>			x
<i>Cordia alliodora</i>	x	x	
<i>Cordia collococca</i>	x		x
<i>Cordia dentata</i>	x	x	
<i>Cordia inermis</i>		x	
<i>Cordia panamensis</i>		x	x
<i>Cordia pringlei</i>	x		
<i>Cordia spinescens</i>	x		
<i>Cornutia pyramidata</i>			x
<i>Costus pulverulentus</i>			x
<i>Couroupita nicaraguensis</i>		x	
<i>Coutarea hexandra</i>		x	
<i>Cratera tapia</i>	x	x	x
<i>Crescentia alata</i>		x	x
<i>Crescentia cujete</i>			x
<i>Critoniopsis standleyi</i>	x		
<i>Crossopetalum uragoga</i>	x	x	

<i>Crotalaria micans</i>	x	
<i>Crotalaria pumila</i>	x	
<i>Crotalaria retusa</i>	x	x
<i>Croton argenteus</i>	x	x
<i>Croton cortesianus</i>	x	
<i>Croton hirtus</i>	x	
<i>Croton lobatus</i>	x	x
<i>Croton payaquensis</i>	x	
<i>Cupania dentata</i>	x	
<i>Curatella americana</i>		x
<i>Cyclopeltis semicordata</i>		x
<i>Cydista aequinoctialis</i>	x	
<i>Cydista heterophylla</i>	x	
<i>Cyperus aggregatus</i>		x
<i>Cyperus canus</i>	x	
<i>Cyperus digitatus</i>	x	x
<i>Cyperus entrerianus</i>		x
<i>Cyperus imbricatus</i>	x	
<i>Cyperus luzulae</i>		x
<i>Cyperus mutisii</i>		x
<i>Cyperus tenuis</i>	x	
<i>Cyperus thyrsiflorus</i>	x	
<i>Dactyloctenium aegyptium</i>	x	
<i>Dalbergia retusa</i>	x	x
<i>Dalea carthagensis var. barbata</i>	x	
<i>Dalechampia dioscoreifolia</i>		x
<i>Dalechampia scandens</i>	x	x
<i>Datura stramonium</i>	x	
<i>Delilia biflora</i>		x
<i>Delonix regia</i>		x
<i>Desmanthus virgatus</i>	x	
<i>Desmodium infractum</i>		x
<i>Dieffenbachia oerstedii</i>		x
<i>Digitaria bicornis</i>	x	
<i>Dioclea megacarpa</i>	x	
<i>Dioscorea convolvulacea</i>	x	
<i>Diospyros salicifolia</i>	x	x
<i>Diphysa americana</i>		x
<i>Dorstenia drakena</i>	x	x

<i>Echinochloa colona</i>	x	x
<i>Echites yucatanensis</i>	x	x
<i>Eclipta prostrata</i>	x	
<i>Eichhornia crassipes</i>		x
<i>Elephantopus mollis</i>	x	x
<i>Elytraria imbricata</i>		x
<i>Emilia sonchifolia</i>	x	
<i>Entada polystachya</i>	x	
<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	x	x
<i>Eryngium foetidum</i>	x	
<i>Erythrina fusca</i>		x
<i>Espejoea mexicana</i>	x	
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	x	x
<i>Eugenia acapulcensis</i>	x	
<i>Eugenia salamensis</i>		x
<i>Eugenia venezuelensis</i>		x
<i>Eupatorium albicaule</i>		x
<i>Eupatorium macrophyllum</i>	x	
<i>Euphorbia graminea</i>	x	
<i>Euphorbia heterophylla</i>	x	x
<i>Ficus cotinifolia</i>		x
<i>Ficus insipida</i>	x	x
<i>Ficus maxima</i>		x
<i>Florestina latifolia</i>	x	
<i>Funastrum clausum</i>		x
<i>Genipa americana</i>	x	x
<i>Gliricidia sepium</i>	x	x
<i>Gomphrena serrata</i>	x	
<i>Gonolobus barbatus</i>		x
<i>Gonolobus heterophyllus</i>		x
<i>Gouania lupuloides</i>	x	x
<i>Gouania polygama</i>		x
<i>Gronovia scandens</i>		x
<i>Guaiacum sanctum</i>		x
<i>Guarea excelsa</i>		x
<i>Guarea glabra</i>	x	
<i>Guazuma ulmifolia</i>	x	x
<i>Guettarda macrosperma</i>		x
<i>Gurania makoyana</i>	x	

<i>Gyrocarpus americanus</i>	x	x
<i>Hamelia patens</i>		x
<i>Heliotropium angiospermum</i>		x
<i>Heliotropium filiforme</i>	x	
<i>Heliotropium indicum</i>		x
<i>Heliotropium macrostachyum</i>	x	
<i>Herissantia crispa</i>	x	
<i>Heteranthera reniformis</i>	x	
<i>Heteropterys laurifolia</i>	x	
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	x	
<i>Hippocratea volubilis</i>		x
<i>Hura crepitans</i>	x	x
<i>Hybanthus attenuatus</i>	x	x
<i>Hymenachne amplexicaulis</i>	x	x
<i>Hymenaea courbaril</i>		x
<i>Hyparrhenia rufa</i>		x
<i>Hyptis capitata</i>	x	
<i>Hyptis mutabilis</i>	x	
<i>Hyptis pectinata</i>	x	x
<i>Hyptis suaveolens</i>	x	
<i>Indigofera jamaicensis</i>	x	x
<i>Inga oerstediana</i>		x
<i>Inga vera</i>	x	x
<i>Ipomoea cholulensis</i>	x	
<i>Ipomoea clarata</i>		x
<i>Ipomoea hederifolia</i>		x
<i>Ipomoea imperati</i>		x
<i>Ipomoea nil</i>	x	
<i>Ipomoea populina</i>	x	
<i>Ipomoea setosa</i>		x
<i>Ipomoea splendor-sylvae</i>	x	x
<i>Ipomoea tricolor</i>	x	
<i>Ipomoea trifida</i>	x	x
<i>Iresine calea</i>	x	x
<i>Iresine diffusa</i>		x
<i>Jacquemontia mexicana</i>	x	
<i>Jacquinia nervosa</i>		x
<i>Justicia carthaginensis</i>	x	x
<i>Justicia comata</i>	x	x

<i>Kallstroemia maxima</i>	x		
<i>Karwinskia calderonii</i>	x	x	
<i>Lagascea mollis</i>	x		
<i>Lantana urticifolia</i>	x	x	x
<i>Lasiacis ruscifolia</i>		x	
<i>Leonotis nepetifolia</i>	x	x	
<i>Lepidium virginicum var. centrali-americanum</i>	x		
<i>Lencaena leucocephala spp. glabrata</i>			x
<i>Licania arborea</i>	x	x	
<i>Licania belltoi</i>			x
<i>Lippia cardiostegia</i>	x		
<i>Loeselia ciliata</i>	x		
<i>Lonchocarpus minimiflorus</i>	x	x	
<i>Lonchocarpus phaseolifolius</i>	x		
<i>Lonchocarpus phlebophyllus</i>	x	x	
<i>Ludwigia octovalvis</i>	x	x	
<i>Ludwigia peploides</i>	x		
<i>Luehea candida</i>	x	x	x
<i>Luffa aegyptiaca</i>	x		
<i>Lycopersicon esculentum</i>	x		
<i>Lycoseris latifolia</i>	x		
<i>Lygodium venustum</i>	x		x
<i>Lysiloma auritum</i>	x		
<i>Lysiloma divaricatum</i>	x	x	
<i>Macfadyena uncata</i>			x
<i>Machaerium biorulatum</i>	x		
<i>Machaerium pittieri</i>		x	
<i>Machaerium salvadorense</i>			x
<i>Madura tinctoria</i>		x	x
<i>Macrocepis pleistantha</i>	x		
<i>Malachra fasciata</i>	x		
<i>Malachra radiata</i>	x		
<i>Malpighia glabra</i>	x	x	
<i>Mahastrum guatemalense</i>	x		
<i>Malvariscus arboreus</i>	x	x	x
<i>Manibot aesculifolia</i>	x		
<i>Maranta arundinacea</i>	x	x	
<i>Margaritaria nobilis</i>		x	
<i>Martynia annua</i>	x	x	

<i>Melampodium divaricatum</i>	x		
<i>Melanthera nivea</i>	x		
<i>Mellooa quadrivalvis</i>			x
<i>Melochia lupulina</i>	x		
<i>Melochia nodiflora</i>	x	x	
<i>Melothria pendula</i>		x	
<i>Melothria scabra</i>		x	
<i>Merremia umbellata</i>			x
<i>Metalepis peraffinis</i>	x		
<i>Miconia argentea</i>			x
<i>Miconia laevigata</i>			x
<i>Mimosa albida</i>	x		
<i>Mimosa pigra</i>	x	x	x
<i>Mirabilis jalapa</i>		x	
<i>Mirabilis violacea</i>	x	x	
<i>Momordica charantia</i>	x	x	x
<i>Monstera adansonii</i>		x	
<i>Monstera siltepecana</i>			x
<i>Montanoa hibiscifolia</i>	x		
<i>Morinda citrifolia</i>		x	
<i>Moringa oleifera</i>		x	
<i>Muntingia calabura</i>		x	x
<i>Myriocarpa longipes</i>			x
<i>Myrospermum frutescens</i>	x	x	
<i>Nectandra lineata</i>			x
<i>Nectandra nitida</i>			x
<i>Neea fagifolia</i>		x	
<i>Nelsonia canescens</i>	x	x	
<i>Neomillspaughia paniculata</i>	x		
<i>Nymphaea ampla</i>		x	
<i>Nymphaea mexicana</i>			x
<i>Ochroma pyramidalis</i>			x
<i>Ocimum campechianum</i>	x	x	
<i>Oryza latifolia</i>	x	x	
<i>Oxalis frutescens</i>	x	x	
<i>Oxalis latifolia</i>	x		
<i>Oxyptetalum cordifolium</i>			x
<i>Pachira quinata</i>	x	x	x
<i>Panicum hirticaule</i>	x	x	

<i>Panicum maximum</i>		x	
<i>Paragonia pyramidata</i>	x		
<i>Parthenium hysterophorus</i>	x		
<i>Paspalum microstachyum</i>		x	
<i>Passiflora foetida</i>	x	x	
<i>Paullinia fuscescens</i>		x	
<i>Pehria compacta</i>	x		
<i>Petiveria alliacea</i>	x		
<i>Petrea volubilis</i>		x	x
<i>Pfaffia aurata</i>			x
<i>Phaseolus microcarpus</i>	x		
<i>Phoradendron crassifolium</i>			x
<i>Phoradendron quadrangulare</i>		x	
<i>Phoradendron robustissimum</i>	x		
<i>Phyla dulcis</i>	x		
<i>Phyla nodiflora</i>	x	x	x
<i>Phyla stoechadifolia</i>		x	x
<i>Phyllanthus niruri</i>		x	
<i>Phyllostylon rhamnoides</i>			x
<i>Physalis angulata</i>	x		
<i>Physalis cordata</i>		x	
<i>Physalis gracilis</i>	x		
<i>Physalis ignota</i>		x	
<i>Physalis minuta</i>		x	
<i>Physalis pruinosa</i>	x	x	
<i>Physalis pubescens</i>	x		
<i>Phytolacca icosandra</i>	x		
<i>Pilea microphylla</i>		x	
<i>Piper aduncum</i>		x	
<i>Piper amalago</i>	x		x
<i>Piper arboreum</i>	x	x	x
<i>Piper auritum</i>	x		
<i>Piper melanocladum</i>			x
<i>Piper obliquum</i>			x
<i>Piper peltatum</i>			x
<i>Piscidia carthagenensis</i>	x		
<i>Pisonia aculeata</i>	x	x	
<i>Pisonia macranthocarpa</i>	x		
<i>Pistia stratiotes</i>		x	

<i>Pithecellobium bipinnatum</i>		x
<i>Pithecellobium dulce</i>		x
<i>Pithecellobium oblongum</i>	x	x
<i>Pithecellobium seleri</i>	x	
<i>Pithecellobium</i> sp.		x
<i>Pithecoctenium crucigerum</i>	x	x
<i>Plantago major</i>	x	
<i>Pluchea carolinensis</i>	x	
<i>Plumbago scandens</i>	x	x
<i>Plumeria rubra</i>	x	x
<i>Polyclathra cucumerina</i>		x
<i>Polygala hondurana</i>		x
<i>Polygonum punctatum</i>	x	x
<i>Portulaca oleracea</i>		x
<i>Priva lappulacea</i>	x	x
<i>Protium glabrum</i>	x	
<i>Pseuderanthemum carruthersii</i>		x
<i>Pseudobombax ellipticum</i>		x
<i>Psidium guajava</i>		x
<i>Psychotria berteriana</i>	x	x
<i>Psychotria nervosa</i>		x
<i>Psychotria quinqueradiata</i>		x
<i>Quassia amara</i>		x
<i>Randia armata</i>		x
<i>Rauvolfia tetraphylla</i>	x	x
<i>Rhynchospora corymbosa</i>		x
<i>Richardia scabra</i>		x
<i>Ricinus communis</i>		x
<i>Rivina humilis</i>	x	x
<i>Rorippa indica</i>	x	
<i>Rottboellia cochinchinensis</i>		x
<i>Ruellia inundata</i>	x	x
<i>Russelia sarmentosa</i>		x
<i>Rytidostylis gracilis</i>		x
<i>Salvia comayaguana</i>	x	
<i>Salvia purpurea</i>	x	
<i>Salvinia minima</i>		x
<i>Sapindus saponaria</i>	x	x

<i>Sapium macrocarpum</i>	x	x
<i>Sapranthus palanga</i>	x	x
<i>Sapranthus violaceus</i>		x
<i>Schistocarpha eupatorioides</i>		x
<i>Schoepfia schreberi</i>	x	x
<i>Sciadodendron excelsum</i>	x	x
<i>Selaginella sertata</i>	x	
<i>Semialarium mexicanum</i>	x	
<i>Senna atomaria</i>	x	x
<i>Senna obtusifolia</i>	x	
<i>Senna pallida</i>	x	x
<i>Senna papillosa</i>		x
<i>Senna siamea</i>	x	
<i>Senna uniflora</i>	x	
<i>Serjania atrolineata</i>	x	x
<i>Serjania grosii</i>	x	
<i>Serjania lobulata</i>	x	
<i>Serjania paniculata</i>	x	
<i>Serjania rhombea</i>	x	
<i>Sesbania herbacea</i>	x	x
<i>Setaria liebmannii</i>	x	
<i>Setaria parviflora</i>	x	
<i>Sicydium tamnifolium</i>	x	
<i>Sida acuta</i>	x	x
<i>Sida rhombifolia</i>	x	
<i>Sida spinosa</i>	x	
<i>Sideroxylon capiri</i>	x	x
<i>Simarouba amara</i>	x	x
<i>Smilax spinosa</i>	x	x
<i>Solanum acerifolium</i>	x	x
<i>Solanum americanum</i>	x	x
<i>Solanum atitlanum</i>	x	
<i>Solanum campechiense</i>	x	x
<i>Solanum erianthum</i>	x	x
<i>Solanum hirtum</i>		x
<i>Solanum myriacanthum</i>	x	
<i>Solanum seaforthianum</i>	x	
<i>Solanum torvum</i>	x	
<i>Sorghum halepense</i>	x	

<i>Spathodea campanulata</i>	x			
<i>Spermacoce tenuior</i>		x		
<i>Sphenoclea zeylanica</i>		x		
<i>Spigelia anthelmia</i>	x			
<i>Spiracantha cornifolia</i>	x			
<i>Spondias mombin</i>	x	x		
<i>Spondias purpurea</i>	x	x		
<i>Sporobolus indicus</i>	x			
<i>Stemmadenia donnell-smithii</i>		x		
<i>Stemmadenia pubescens</i>	x			
<i>Sterculia apetala</i>	x	x		
<i>Stigmaphyllon retusum</i>	x	x		
<i>Stizolobium pruriens</i>	x			
<i>Swietenia humilis</i>	x	x	x	
<i>Synadenium grantii</i>	x			
<i>Syngonium angustatum</i>		x		
<i>Tabebuia chrysantha</i>	x			
<i>Tabebuia ochracea</i>	x	x		
<i>Tabebuia ochracea spp. neochrysantha</i>			x	
<i>Tabebuia rosea</i>	x	x	x	
<i>Tabernaemontana amygdalifolia</i>	x	x	x	
<i>Talinum paniculatum</i>	x	x		
<i>Tamarindus indica</i>		x		
<i>Tecoma stans</i>	x	x		
<i>Tectona grandis</i>	x			
<i>Tephrosia cinerea</i>	x			
<i>Teramnus uncinatus</i>	x			
<i>Terminalia catappa</i>		x		
<i>Terminalia oblonga</i>		x	x	
<i>Tetracera volubilis</i>	x		x	
<i>Thouinia brachybotrya</i>	x			
<i>Thouinidium decandrum</i>		x		
<i>Tillandsia balbisiana</i>		x		
<i>Tillandsia filifolia</i>			x	
<i>Tinantia longipedunculata</i>	x			
<i>Tournefortia hirsutissima</i>		x		
<i>Tournefortia volubilis</i>	x			
<i>Trema micrantha</i>	x		x	
<i>Trichilia americana</i>	x	x	x	x

<i>Trichilia havanensis</i>		x	
<i>Trichilia hirta</i>	x	x	
<i>Tridax procumbens</i>	x		
<i>Trigonia rugosa</i>	x	x	
<i>Triplaris melaenodendron</i>		x	
<i>Triumfetta calderonii</i>	x		
<i>Triumfetta lappula</i>	x	x	x
<i>Trophis racemosa</i>	x		
<i>Turnera diffusa</i>	x		
<i>Turnera scabra</i>		x	
<i>Typha domingensis</i>		x	
<i>Urera corallina</i>		x	x
<i>Valeriana candolleana</i>			x
<i>Valeriana scandens</i>	x		
<i>Varronia inermis</i>	x		
<i>Vigna vexillata</i>		x	
<i>Vitis tiliifolia</i>			x
<i>Wigandia urens</i>		x	
<i>Ximenia americana</i>	x	x	
<i>Xylophragma seemannianum</i>	x		
<i>Xylosma characantha</i>	x		
<i>Zuelania guidonia</i>		x	

**Apéndice VIII.** Registros bibliográficos de plantas hospederas asociadas a especies identificadas taxonómicamente de Chrysomelidae del bosque seco tropical de Nicaragua.

### A. Cassidini

Especie	Inferencia molecular	Planta hospedera según la bibliografía	Referencias
<i>Agroiconota propinqua</i>	Convolvulaceae <sup>b</sup> ; Boraginales; Solanaceae: <i>Cestrum</i> ; Vitaceae	Convolvulaceae: <i>Ipomoea trifida</i> , <i>Merremia aegyptia</i> , <i>M. umbellata</i>	Windsor <i>et al.</i> 1992; Chaboo 2002
<i>Charidotella emarginata</i> <sup>a</sup>	Convolvulaceae <sup>b</sup>	Asteraceae, Boraginaceae, Convolvulaceae	Windsor <i>et al.</i> 1992; Chaboo 2002; Jolivet <i>et al.</i> 2008
<i>Charidotella opulenta</i> <sup>a</sup>	Rubiaceae; Zygophyllaceae: Guaiacum	Asteraceae, Boraginaceae, Convolvulaceae	Windsor <i>et al.</i> 1992; Chaboo 2002; Jolivet <i>et al.</i> 2008
<i>Charidotella sexpunctata</i>	Amaranthaceae; Asteraceae; Convolvulaceae: <i>Merremia</i> <sup>b</sup> ; Cucurbitaceae; Fabaceae	Convolvulaceae: <i>Calystegia sepium</i> , <i>Ipomoea acuminata</i> , <i>I. arborescens</i> , <i>I. batatas</i> , <i>I. cairica</i> , <i>I. crassicaulis</i> , <i>I. hederifolia</i> , <i>I. lacunosa</i> , <i>I. leptophyla</i> , <i>I. pandurata</i> , <i>I. pescaprae</i> , <i>I. purpurea</i> , <i>I. trifida</i> , <i>Convolvulus sepium</i> , <i>Merremia quinquefolia</i> , <i>M. aegyptia</i>	Windsor <i>et al.</i> 1992
<i>Charidotella tuberculata</i>	Convolvulaceae <sup>b</sup> ; Fabaceae	Asteraceae: <i>Chromolaena odorata</i> , Convolvulaceae	Borowiec & Świętojańska; Windsor <i>et al.</i> 1992
<i>Charidotis auroguttata</i>	Amaranthaceae; Scrophulariaceae; Solanaceae: <i>Cestrum</i> ; Zingiberales	Bignoniaceae: <i>Macfadyena unguis-cati</i>	Williams 2002
<i>Chelymorpha gressoria</i>	Asteraceae; Convolvulaceae <sup>b</sup>	Convolvulaceae	Maes <i>et al.</i>
<i>Chelymorpha testaceomarginata</i>	Fabaceae	Convolvulaceae: <i>Ipomoea aquatica</i> , <i>I. aristolochiaefolia</i> , <i>I. batatas</i> , <i>I. cairica</i> , <i>I. imperati</i> , <i>I. pescaprae</i> , <i>I. trifida</i> , <i>Merremia umbellata</i>	Windsor <i>et al.</i> 1992

<i>Coptocycla leprosa</i>	Boraginales <sup>b,c</sup>	Cordiaceae: <i>Cordia alliodora</i> , <i>C. eleagnoides</i> , <i>C. gargasanthus</i>	Windsor <i>et al.</i> 1992; Flowers & Janzen 1997
<i>Deloyala fuliginosa</i>	Convolvulaceae <sup>b</sup> ; Cucurbitaceae; Fabaceae: <i>Mimosa</i> ; Zingiberales	Convolvulaceae: <i>Ipomoea pandurata</i> , <i>Convolvulus sepium</i>	Riley & Enns 1979
<i>Dorynota insidiosa</i>	Rubiaceae	Bignoniaceae: <i>Tabebuia ochracea</i>	Flowers & Janzen 1997
<i>Helocassis clavata</i>	Solanaceae: <i>Solanum</i> <sup>b</sup> ; Vitaceae	Solanaceae: <i>Physalis cornuta</i> , <i>P. longifolia</i> , <i>P. heterophylla</i> , <i>Datura stramonium</i> , <i>Solanum americanum</i> , <i>S. carolinense</i> , <i>S. dulcamara</i> , <i>S. gracile</i> , <i>S. nigrum</i> , <i>S. tuberosa</i>	Riley & Enns 1979
<i>Ischnocodia annulus</i>	Boraginales <sup>b,c</sup> ; Malvaceae: Malvoideae; Myrtaceae; Pentapetalae; Rubiaceae: Cinchonoideae	Cordiaceae: <i>Cordia alliodora</i> , <i>C. panamensis</i> , <i>C. spinosa</i> ; Lauraceae: <i>Ocotea veraguensis</i>	Windsor <i>et al.</i> 1992; Flowers & Janzen 1997
<i>Microctenochira bonrouloiri</i>	Fabaceae	Convolvulaceae: <i>Ipomoea wolcottiana</i> , <i>Merremia dissecta</i>	Riley 1986; Noguera 1988
<i>Microctenochira hectica</i> <sup>a</sup>	Convolvulaceae <sup>b</sup> ; Cucurbitaceae: Sicyoae	Asteraceae: <i>Tilesia baccata</i> , <i>Wulffia baccata</i> Convolvulaceae: <i>Ipomoea batatas</i> , <i>Maripa</i> <i>panamensis</i> , Fabaceae: <i>Phaseolus</i> sp.	Helson 2005; Fernandes & Linzmeier 2012
<i>Microctenochira</i> sp. 1 <sup>a</sup>	Convolvulaceae: <i>Ipomoea</i> <sup>b</sup> , <i>Merremia</i> ; Cucurbitaceae; Malvaceae: Malvoideae	Asteraceae: <i>Tilesia baccata</i> , <i>Wulffia baccata</i> Convolvulaceae: <i>Ipomoea batatas</i> , <i>Maripa panamensis</i> , Fabaceae: <i>Phaseolus</i> sp.	Helson 2005; Fernandes & Linzmeier 2012
<i>Microctenochira</i> sp. 2 <sup>a</sup>	Convolvulaceae <sup>b</sup>	Asteraceae: <i>Tilesia baccata</i> , <i>Wulffia baccata</i> Convolvulaceae: <i>Ipomoea batatas</i> , <i>Maripa panamensis</i> , Fabaceae: <i>Phaseolus</i> sp.	Helson 2005; Fernandes & Linzmeier 2012
<i>Omocerus caeruleopunctatus</i>	Cordiaceae: <i>Cordia</i> <sup>b</sup>	Cordiaceae: <i>Cordia spinescens</i>	Flowers & Janzen 1997
<i>Parorectis rugosa</i>	Solanaceae: <i>Physalis</i> <sup>b</sup>	Solanaceae: <i>Physallis maxima</i>	Noguera 1988
<i>Physonota attenuata</i>	Cordiaceae: <i>Cordia</i> <sup>b</sup>	Cordiaceae: <i>Cordia dentata</i> , <i>C. seleriana</i>	Noguera 1988

<i>Physonota gigantea</i>	Cordiaceae: <i>Cordia</i> <sup>b</sup> ; Fabaceae; Malvaceae; Rubiaceae; Sapindaceae	Asteraceae: <i>Lesiantha</i> sp., Boraginaceae: <i>Bourreria rubra</i> , Cordiaceae: <i>Cordia dentata</i> , <i>C. seleriana</i>	Noguera 1988
<i>Physonota</i> sp. <sup>a</sup>	Amaranthaceae; Ehretiaceae; Fabaceae	Asteraceae: <i>Lesiantha</i> sp., Boraginaceae: <i>Bourreria rubra</i> , Cordiaceae: <i>Cordia dentata</i> , <i>C. seleriana</i>	Noguera 1988
<i>Spaethiella marginata</i>	Juglandaceae; Malvaceae: Malvoideae	Heliconiaceae, Maranthaceae: <i>Calathea insignis</i>	Jolivet <i>et al.</i> 2008; Meskens <i>et al.</i> 2011
<i>Tapinaspis wesmaeli</i>	Fabaceae	Asteraceae: <i>Liabum caducifolium</i>	Noguera 1988

## B. Hispini

Espece	Inferencia molecular	Planta hospedera conocida	Referencias
<i>Anisostena pilatea</i>	Fabaceae	Poaceae: <i>Andropogon</i> sp, <i>Panicum leucophaeum</i> , <i>P. maximum</i> , <i>P. virgatum</i> , <i>Schizachryium scoparium</i> , <i>Tripsacum dactyloides</i> Rhamnaceae: <i>Ceanothus fendleri</i> , <i>C. integerrimus</i> , <i>C. leucodermis</i>	Staines 1994a; 1994b, 2011a
<i>Brachycoryna pumila</i>	Malvaceae: Malvoideae: <i>Sida</i> <sup>b</sup>	Malvaceae: <i>Malvastrum cormandelinua</i> , <i>M. americanum</i> , <i>Sida rhombifolia</i> , <i>S. spinosa</i> , <i>S. cordifolia</i>	Staines 2011a
<i>Cephaloleia beltii</i>	Cucurbitaceae	Cannaceae: <i>Canna tuerckheimii</i> , Costaceae: <i>Costus barbatus</i> , Heliconiaceae: <i>Heliconia catheta</i> , <i>H. denielsiana</i> , <i>H. densiflora</i> , <i>H. imbricata</i> , <i>H. irrasa</i> , <i>H. latispatha</i> , <i>H. longiflora</i> , <i>H. mariae</i> , <i>H. mathiasiae</i> , <i>H. pogonantha</i> , <i>H. psittacorum</i> , <i>H. rostrata</i> , <i>H. sarapiquensis</i> , <i>H. stricta</i> , <i>H. tortuosa</i> , <i>H. vaginalis</i> , <i>H. wagneriana</i> , Marantaceae: <i>Calathea cleistantha</i> , <i>C. crotalifera</i> , <i>C. insignis</i> , <i>C. latifolia</i> , <i>C. lutea</i> , <i>C. marantifolia</i> , <i>Goeppertia lasiophylla</i> , <i>Ischnosiphon inflatus</i> , <i>I. pruinosa</i> Pleiostachya <i>pruinosa</i> , Musaceae: <i>Musa paradisiaca</i> , <i>M. velutina</i>	Descampe <i>et al.</i> 2008; Staines & Garcia-Robledo 2014
<i>Cephaloleia trivittata</i>	Cucurbitaceae	Costaceae: <i>Costus pulverulentus</i> , Marantaceae: <i>Calathea cleistantha</i> , <i>C. baameii</i> , <i>C. gymnocarpa</i> , <i>C. lutea</i> , <i>C. macrosepala</i> , <i>C. marantifolia</i> , <i>C. pulverulentus</i> , <i>C. venusta</i> , <i>C. warszewiczii</i> , Ctenanthe sp., Donax <i>canniformis</i> , Ischnosiphon <i>elegans</i> , Marantochloa <i>purpurea</i> , Pleiostachya <i>pruinosa</i> , Stromanthus <i>jacquinii</i> , Zingiberaceae: <i>Alpinia purpurata</i> , <i>Hedychium coronarium</i>	Schmitt & Frank 2013; Staines & Garcia-Robledo 2014
<i>Chalepus bellulus</i>	Poaceae <sup>b</sup>	Fabaceae: <i>Phaseolus</i> , Poaceae: <i>Oryza</i>	Maes <i>et al.</i>

<i>Euprionota aerrima</i> <sup>a</sup>	Asteraceae <sup>b</sup> ; Cucurbitaceae	Asteraceae: <i>Veronia</i> sp.	Staines 2011a
<i>Heterispa vinula</i>	Malvaceae: Malvoideae: <i>Sida</i> <sup>b</sup>	Fabaceae: <i>Indigofera</i> sp., Malvaceae: <i>Apieiba membranacea</i> , <i>Guazuma ulmifolia</i> , <i>Sida carpinifolia</i> , <i>S. rhombifolia</i> , <i>Triumfetta</i> sp.	Noguera 1988; Staines 2011a
<i>Imatidium thoracicum</i>	Malvaceae; Zingiberales	Heliconiaceae: <i>Heliconia catheta</i> , <i>H. irrasa</i> , <i>H. latispatha</i> , <i>H. wagneriana</i> , Marantaceae: <i>Calathea insignis</i> , <i>C. lutena</i> , <i>C. ovata</i> , <i>C. virginalis</i>	Staines 2011b
<i>Microrhopala perforata</i>	Asteraceae; Boraginales	Lamiaceae: <i>Marypihanthes chamaedrys</i> , <i>Salvia</i> sp.	Staines 2011a
<i>Ochthispa elevata</i>	Sapindaceae <sup>b</sup>	Bignoniaceae: <i>Pithecoctenium echinatum</i> , Sapindaceae: <i>Paullinia</i> sp.	Staines 2011a
<i>Pentispa clarkella</i> <sup>a</sup>	Asteraceae: Heliantheae <sup>b</sup>	Asteraceae: <i>Baccharis bigelovii</i> , <i>Calea axillaris</i> , <i>C. urticifolia</i> , <i>Clibadium</i> sp., <i>Elephantopus spicatus</i> , <i>Eupatorium populifolium</i> , <i>Verbesina costaricensis</i> , <i>Vernonia mollis</i> , Bignoniaceae: <i>Colea</i> sp., <i>Pithecoctenium</i> sp., Fabaceae: <i>Benthamantha mollis</i> , <i>Desmodium lindheimeri</i> , <i>Indigofera</i> sp., Malpighiaceae: <i>Bunchosia</i> sp., <i>Malpighia glabra</i> , Poaceae: <i>Chusquea</i> sp., Sapindaceae: <i>Paullinia</i> sp., <i>Serjania</i> sp.	Santiago-Blay <i>et al.</i> 2004
<i>Platochispa championi</i>	Salicaceae	Marantaceae: <i>Calathea</i> sp., Piperaceae: <i>Piper</i> sp.	Santiago-Blay <i>et al.</i> 2004
<i>Sceloenopla ampliata</i> <sup>a</sup>	Dilleniaceae <sup>b</sup>	Araceae: <i>Anthurium</i> sp., <i>Philodendron radiatum</i> var. <i>radiatum</i> , <i>P. renauxii</i> , Arecaceae: <i>Cocos</i> sp., Cecropiaceae: <i>Cecropia lyratiloba</i> var. <i>nana</i> , <i>Cecropia</i> sp., <i>Pourouma</i> sp., Clusiaceae: <i>Clusia flava</i> , Cyclanthaceae, Dilleniaceae: <i>Davilla nitida</i> , Fabaceae: <i>Lonchocarpus</i> sp., Lauraceae: <i>Persea</i> sp., Myristicaceae: <i>Rapanea ferruginea</i> , <i>Virola koschnyi</i> , Myrsinaceae: <i>Rapanea</i> sp., Rubiaceae, Rutaceae: <i>Esenbeckia febrifuga</i> , Sapindaceae: <i>Cuspania</i> sp., Sapotaceae: <i>Chrysophyllum</i> sp., Sterculiaceae: <i>Sterculia recordiana papyracea</i> , Visaceae	Santiago-Blay <i>et al.</i> 2004

<i>Sumitrosis distinctus</i> <sup>a</sup>	Asteraceae <sup>b</sup> : <i>Delilia biflora</i>	Asteraceae: <i>Aster divaricatus</i> , <i>A. norae-angliae</i> , <i>A. paniculatus</i> , <i>A. sagittifolius</i> , <i>A. simplex</i> , <i>Baccharis</i> sp., <i>Eupatorium ageratoides</i> , <i>E. maculatum</i> , <i>E. perfoliatum</i> , <i>E. populifolium</i> , <i>E. rugosum</i> , <i>E. urticaefolium</i> , <i>E. urticifolium</i> , <i>Helianthus hirsutus</i> , <i>Rudbeckia triloba</i> , <i>Solidago canadensis</i> , <i>S. gigantea</i> , <i>S. graminifolia</i> , <i>S. ulmifolia</i> , <i>Vernonia novaboracensis</i> , <i>Wedelia</i> sp., <i>Zexmenia</i> sp., Brassicaceae: <i>Arabis laevigata</i> , <i>Radicula</i> sp., Celastraceae: <i>Celastrus</i> sp., Chenopodiaceae: <i>Chenopodium album</i> , Cornaceae: <i>Cornus asperifolia</i> , <i>C. rugosa</i> , Cyrillaceae: <i>Cyrilla racemiflora</i> , Fabaceae: <i>Amorpha fruticosa</i> , <i>Amphicarpaea bracteata</i> , <i>Cajanus</i> sp., <i>Cassia fasciculata</i> , <i>C. nictitans</i> , <i>Canavalia ensiformis</i> , <i>Desmodium glutinosum</i> , <i>D. paniculatum</i> , <i>Dolichos</i> sp., <i>Glycine max</i> , <i>Lespidea intermedia</i> , <i>Metibonia</i> sp., <i>Phaseolus</i> sp., <i>Pueraria</i> sp., <i>Robinia neomexicana</i> , <i>R. pseudoacacia</i> , <i>Strophostyles helvola</i> , <i>S. umbellata</i> , Fagaceae: <i>Quercus alba</i> , Heliconiaceae: <i>Heliconia</i> sp., Onagraceae: <i>Oenothera</i> sp., Poaceae: <i>Bambusa</i> sp., <i>Chusquea</i> sp., <i>Lasiacis</i> sp., Rosaceae: <i>Malus malus</i> , <i>Potentilla</i> sp., <i>Pyrus malus</i> , <i>Rosa virginiana</i> , Solanaceae: <i>Solanum dulcamara</i> , Sterculiaceae: <i>Guazuma</i> sp., Urticaceae: <i>Laportea canadensis</i> , <i>Urtica gracilis</i>	Santiago-Blay et al. 2004
<i>Sumitrosis pallidens</i>	Fabaceae <sup>b</sup>	Fabaceae: <i>Cassia fasciculata</i> , <i>C. nictitans</i>	Santiago-Blay et al. 2004
<i>Xenochalepus rufifibrorax</i> <sup>a</sup>	Cucurbitaceae	Apocynaceae: <i>Schubertia</i> sp., Araceae: <i>Anthurium</i> sp., Brassicaceae, Cecropiaceae: <i>Cecropia insignis</i> , <i>Coussapoa nymphaeifolia</i> , <i>C. villosa</i> , Pourouma bicolor, Convolvulaceae: <i>Ipomoea heterophylla</i> , Fabaceae: <i>Bauhinia</i> sp., <i>Benthamantha mollis</i> , <i>Canavalia</i> sp., <i>Centrosema macrocarpum</i> , <i>Cymbosema</i> sp., <i>Dioclea</i> sp., <i>Dolichos</i> sp., <i>Faba</i> sp., <i>Glycine max</i> , <i>Inga affinis</i> , <i>Lathyrus pubescens</i> , <i>Mucuna pluricostata</i> , <i>Nissolia fruticosa</i> , <i>Phaseolus polystachios</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>Robinia neomexicana</i> , <i>R. pseudoacacia</i> , <i>Vigna</i> sp., Malvaceae: <i>Schubertia</i> sp., <i>Theobroma</i> sp., Poaceae: <i>Bambusa</i> sp., <i>Olyra</i> sp., <i>Oryza</i> sp., <i>Panicum</i> sp., <i>Saccharum</i> sp., <i>Zea</i> sp., Rosaceae: <i>Prunus</i> sp., Ulmaceae: <i>Celtis tala</i> , Urticaceae: <i>Urera</i> sp., Vitaceae	Santiago-Blay et al. 2004

## C. Alticini

Espece	Inferencia molecular	Planta hospedera conocida	Referencias
<i>Alagoasa longuttata</i> <sup>a</sup>	Acanthaceae: <i>Aphelandra</i> ; Bignoniaceae <sup>b</sup> ; Verbenaceae <sup>b</sup> : Lantaneae, <i>Lantana</i>	Bignoniaceae: <i>Kigelia</i> , Bromeliaceae: <i>Ananas</i> , Convolvulaceae: <i>Ipomoea</i> , Fabaceae: <i>Arachis</i> , <i>Phaseolus</i> , Lamiaceae: <i>Aegiphila martinicensis</i> , Malvaceae: <i>Gossypium</i> , Meliaceae: <i>Azadirachta</i> , Pedaliaceae: <i>Sesamum</i> , Poaceae: <i>Oryza</i> , <i>Sorghum</i> , <i>Zea</i> , Passifloraceae: <i>Passiflora</i> , Rubiaceae: <i>Coffea</i> , Verbenaceae: <i>Lantana camara</i> , <i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Maes <i>et al.</i> ; Virkki & Zambrana 1983; Flowers & Janzen 1997; Duckett & Swigoňová 2002
<i>Alagoasa</i> sp.	Lamiales; Verbenaceae: Lantaneae, <i>Lantana</i> <sup>b</sup>	Bignoniaceae: <i>Kigelia</i> , Bromeliaceae: <i>Ananas</i> , Convolvulaceae: <i>Ipomoea</i> , Fabaceae: <i>Arachis</i> , <i>Phaseolus</i> , Lamiaceae: <i>Aegiphila martinicensis</i> , Malvaceae: <i>Gossypium</i> , Meliaceae: <i>Azadirachta</i> , Pedaliaceae: <i>Sesamum</i> , Poaceae: <i>Oryza</i> , <i>Sorghum</i> , <i>Zea</i> , Passifloraceae: <i>Passiflora</i> , Rubiaceae: <i>Coffea</i> , Verbenaceae: <i>Lantana camara</i> , <i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Maes <i>et al.</i> ; Virkki & Zambrana 1983; Flowers & Janzen 1997; Duckett & Swigoňová 2002
<i>Blepharida suturalis</i> <sup>a</sup>	Boraginales <sup>c</sup> ; Burseraceae: <i>Bursera simaruba</i> <sup>d</sup> ; Cordiaceae: <i>Cordia</i>	Anacardiaceae: <i>Cotinus obvatus</i> , <i>Pseudosmodingium perniciosum</i> , <i>Rhus aromatic</i> a, <i>R. copallina</i> , <i>R. cotinus</i> , <i>R. lancea</i> , <i>R. microphylla</i> , <i>R. natalensis</i> , <i>R. tenuinervis</i> , <i>R. trilobata</i> , <i>R. tripartita</i> , <i>R. typhina</i> , <i>R. vernix</i> , <i>R. vulgaris</i> , <i>R. zeyheri</i> , <i>Schinus terebinthifolius</i> , Apocynaceae: <i>Catharanthus</i> , Bignoniaceae: <i>Rhizophorum</i> , Burseraceae: <i>Bursera aloeroxylon</i> , <i>B. aperta</i> , <i>B. arborea</i> , <i>B. ariensis</i> , <i>B. asplenifolia</i> , <i>B. attenuata</i> , <i>B. bicolor</i> , <i>B. biflora</i> , <i>B. bonetii</i> , <i>B. bipinnata</i> , <i>B. chempadictia</i> , <i>B. citronella</i> , <i>B. copallifera</i> , <i>B. coyucensis</i> , <i>B. crenata</i> , <i>B. cuneata</i> , <i>B. denticulata</i> , <i>B. discolor</i> , <i>B. diversifolia</i> , <i>B. epinnata</i> , <i>B. excelsa</i> , <i>B. fagaroides</i> , <i>B. fragilis</i> , <i>B. filicifolia</i> , <i>B. glabrifolia</i> , <i>B. grandifolia</i> , <i>B. heteresthes</i> , <i>B. hindsiana</i> , <i>B. hintonii</i> , <i>B. infernidialis</i> , <i>B. instabilis</i> , <i>B. kerberi</i> , <i>B. lancifolia</i> , <i>B. laxiflora</i> , <i>B. longipes</i> , <i>B. mirandae</i> , <i>B. morelensis</i> , <i>B. odorata</i> , <i>B. palmeri</i> , <i>B. paradoxa</i> , <i>B. penicillata</i> , <i>B. ruticola</i> , <i>B. ribana</i> , <i>B. rzedowskii</i> , <i>B. sarcopoda</i> , <i>B. sarukhani</i> , <i>B. schlechtendalii</i> , <i>B. simaruba</i> , <i>B. submoniliformis</i> , <i>B. suntii</i> , <i>B. trifoliolata</i> , <i>B. trimera</i> , <i>B. vejar-vazquezii</i> , <i>B. velutina</i> , <i>B. xochipalensis</i> , Commiphora mollis, Pinaceae: <i>Pinus palustris</i> , Rosaceae, Sapindaceae: <i>Allophylus cominia</i> , <i>A. occidentalis</i> , <i>Matyba</i>	Prathapan & Chaboo 2011

*Disonycha* sp. 1<sup>a</sup>

Verbenaceae: Lantaneae

Amaranthaceae: *Amaranthus*, Asteraceae: *Baltimora*, *Phaulothamnus*, *Vernonia*, Brassicaceae: *Brassica*, Convolvulaceae: *Ipomoea imperati*, Cucurbitaceae: *Citrullus*, *Cucurbita*, Euphorbiaceae: *Ricinus*, Fabaceae: *Arachis*, *Cajanus*, *Indigofera*, *Phaseolus*, *Vigna*, Malvaceae: *Gossypium*, *Sida*, Meliaceae: *Azadirachta*, Musaceae: *Musa*, Nyctaginaceae: *Boerhaavia*, Passifloraceae: *Passiflora foetida*, Pedaliaceae: *Sesamum*, Poaceae: *Oryza*, *Sorghum*, *Zea*, Polygonaceae: *Polygonum*, Portulacaceae: *Portulaca oleracea*, Rhamnaceae: *Condalia*, Solanaceae: *Lycopersicon*, Turneraceae: *Turnera ulmifolia*

Maes et al.; Clark et al.  
2014

*Disonycha* sp. 2<sup>a</sup>

Amaranthaceae: *Amaranthus*<sup>b</sup>

Amaranthaceae: *Amaranthus*, Asteraceae: *Baltimora*, *Phaulothamnus*, *Vernonia*, Brassicaceae: *Brassica*, Convolvulaceae: *Ipomoea imperati*, Cucurbitaceae: *Citrullus*, *Cucurbita*, Euphorbiaceae: *Ricinus*, Fabaceae: *Arachis*, *Cajanus*, *Indigofera*, *Phaseolus*, *Vigna*, Malvaceae: *Gossypium*, *Sida*, Meliaceae: *Azadirachta*, Musaceae: *Musa*, Nyctaginaceae: *Boerhaavia*, Passifloraceae: *Passiflora foetida*, Pedaliaceae: *Sesamum*, Poaceae: *Oryza*, *Sorghum*, *Zea*, Polygonaceae: *Polygonum*, Portulacaceae: *Portulaca oleracea*, Rhamnaceae: *Condalia*, Solanaceae: *Lycopersicon*, Turneraceae: *Turnera ulmifolia*

Maes et al.; Clark et al.  
2014

*Disonycha* sp. 3<sup>a</sup>

Fabaceae<sup>b</sup>

Amaranthaceae: *Amaranthus*, Asteraceae: *Baltimora*, *Phaulothamnus*, *Vernonia*, Brassicaceae: *Brassica*, Convolvulaceae: *Ipomoea imperati*, Cucurbitaceae: *Citrullus*, *Cucurbita*, Euphorbiaceae: *Ricinus*, Fabaceae: *Arachis*, *Cajanus*, *Indigofera*, *Phaseolus*, *Vigna*, Malvaceae: *Gossypium*, *Sida*, Meliaceae: *Azadirachta*, Musaceae: *Musa*, Nyctaginaceae: *Boerhaavia*, Passifloraceae: *Passiflora foetida*, Pedaliaceae: *Sesamum*, Poaceae: *Oryza*, *Sorghum*, *Zea*, Polygonaceae: *Polygonum*, Portulacaceae: *Portulaca oleracea*, Rhamnaceae: *Condalia*, Solanaceae: *Lycopersicon*, Turneraceae: *Turnera ulmifolia*

Maes et al.; Clark et al.  
2014

*Disonycha* sp. 4<sup>a</sup>

Asteraceae<sup>b</sup>; Cucurbitaceae<sup>b</sup>; Fabaceae<sup>b</sup>

Amaranthaceae: *Amaranthus*, Asteraceae: *Baltimora*, *Phaulothamnus*, *Vernonia*, Brassicaceae: *Brassica*, Convolvulaceae: *Ipomoea imperati*, Cucurbitaceae: *Citrullus*, *Cucurbita*, Euphorbiaceae: *Ricinus*, Fabaceae: *Arachis*, *Cajanus*, *Indigofera*, *Phaseolus*, *Vigna*, Malvaceae: *Gossypium*, *Sida*, Meliaceae: *Azadirachta*, Musaceae: *Musa*, Nyctaginaceae: *Boerhaavia*, Passifloraceae: *Passiflora foetida*, Pedaliaceae: *Sesamum*, Poaceae: *Oryza*, *Sorghum*, *Zea*, Polygonaceae: *Polygonum*, Portulacaceae: *Portulaca oleracea*, Rhamnaceae: *Condalia*, Solanaceae: *Lycopersicon*, Turneraceae: *Turnera ulmifolia*

Maes et al.; Clark et al.  
2014

*Disonycha* sp. 5<sup>a</sup>

Amaranthaceae<sup>b</sup>; Malvaceae<sup>b</sup>

Amaranthaceae: *Amaranthus*, Asteraceae: *Baltimora*, *Phaulothamnus*, *Vernonia*, Brassicaceae: *Brassica*, Convolvulaceae: *Ipomoea imperati*, Cucurbitaceae: *Citrullus*, *Cucurbita*, Euphorbiaceae: *Ricinus*, Fabaceae: *Arachis*, *Cajanus*, *Indigofera*, *Phaseolus*, *Vigna*, Malvaceae: *Gossypium*, *Sida*, Meliaceae: *Azadirachta*, Musaceae: *Musa*, Nyctaginaceae: *Boerhaavia*, Passifloraceae: *Passiflora foetida*, Pedaliaceae: *Sesamum*, Poaceae: *Oryza*, *Sorghum*, *Zea*, Polygonaceae: *Polygonum*, Portulacaceae: *Portulaca oleracea*, Rhamnaceae: *Condalia*, Solanaceae: *Lycopersicon*, Turneraceae: *Turnera ulmifolia*

Maes et al.; Clark et al.  
2014

*Disonycha* sp. 6<sup>a</sup>

Fabaceae: Dalbergieae<sup>b</sup>

Amaranthaceae: *Amaranthus*, Asteraceae: *Baltimora*, *Phaulothamnus*, *Vernonia*, Brassicaceae: *Brassica*, Convolvulaceae: *Ipomoea imperati*, Cucurbitaceae: *Citrullus*, *Cucurbita*, Euphorbiaceae: *Ricinus*, Fabaceae: *Arachis*, *Cajanus*, *Indigofera*, *Phaseolus*, *Vigna*, Malvaceae: *Gossypium*, *Sida*, Meliaceae: *Azadirachta*, Musaceae: *Musa*, Nyctaginaceae: *Boerhaavia*, Passifloraceae: *Passiflora foetida*, Pedaliaceae: *Sesamum*, Poaceae: *Oryza*, *Sorghum*, *Zea*, Polygonaceae: *Polygonum*, Portulacaceae: *Portulaca oleracea*, Rhamnaceae: *Condalia*, Solanaceae: *Lycopersicon*, Turneraceae: *Turnera ulmifolia*

Maes et al.; Clark et al.  
2014

*Disonycha* sp. 7<sup>a</sup>

Salicaceae; Zygophyllaceae: *Guaiacum*

Amaranthaceae: *Amaranthus*, Asteraceae: *Baltimora*, *Phaulothamnus*, *Vernonia*, Brassicaceae: *Brassica*, Convolvulaceae: *Ipomoea imperati*, Cucurbitaceae: *Citrullus*, *Cucurbita*, Euphorbiaceae: *Ricinus*, Fabaceae: *Arachis*, *Cajanus*, *Indigofera*, *Phaseolus*, *Vigna*, Malvaceae: *Gossypium*, *Sida*, Meliaceae: *Azadirachta*, Musaceae: *Musa*, Nyctaginaceae: *Boerhaavia*, Passifloraceae: *Passiflora foetida*, Pedaliaceae: *Sesamum*, Poaceae: *Oryza*, *Sorghum*, *Zea*, Polygonaceae: *Polygonum*, Portulacaceae: *Portulaca oleracea*, Rhamnaceae: *Condalia*, Solanaceae: *Lycopersicon*, Turneraceae: *Turnera ulmifolia*

Maes et al.; Clark et al.  
2014

*Disonycha* sp. 8<sup>a</sup>

Asteraceae<sup>b</sup>

Amaranthaceae: *Amaranthus*, Asteraceae: *Baltimora*, *Phaulothamnus*, *Vernonia*, Brassicaceae: *Brassica*, Convolvulaceae: *Ipomoea imperati*, Cucurbitaceae: *Citrullus*, *Cucurbita*, Euphorbiaceae: *Ricinus*, Fabaceae: *Arachis*, *Cajanus*, *Indigofera*, *Phaseolus*, *Vigna*, Malvaceae: *Gossypium*, *Sida*, Meliaceae: *Azadirachta*, Musaceae: *Musa*, Nyctaginaceae: *Boerhaavia*, Passifloraceae: *Passiflora foetida*, Pedaliaceae: *Sesamum*, Poaceae: *Oryza*, *Sorghum*, *Zea*, Polygonaceae: *Polygonum*, Portulacaceae: *Portulaca oleracea*, Rhamnaceae: *Condalia*, Solanaceae: *Lycopersicon*, Turneraceae: *Turnera ulmifolia*

Maes et al.; Clark et al.  
2014

*Disonycha* sp. 9<sup>a</sup>

Convolvulaceae<sup>b</sup>

Amaranthaceae: *Amaranthus*, Asteraceae: *Baltimora*, *Phaulothamnus*, *Vernonia*, Brassicaceae: *Brassica*, Convolvulaceae: *Ipomoea imperati*, Cucurbitaceae: *Citrullus*, *Cucurbita*, Euphorbiaceae: *Ricinus*, Fabaceae: *Arachis*, *Cajanus*, *Indigofera*, *Phaseolus*, *Vigna*, Malvaceae: *Gossypium*, *Sida*, Meliaceae: *Azadirachta*, Musaceae: *Musa*, Nyctaginaceae: *Boerhaavia*, Passifloraceae: *Passiflora foetida*, Pedaliaceae: *Sesamum*, Poaceae: *Oryza*, *Sorghum*, *Zea*, Polygonaceae: *Polygonum*, Portulacaceae: *Portulaca oleracea*, Rhamnaceae: *Condalia*, Solanaceae: *Lycopersicon*, Turneraceae: *Turnera ulmifolia*

Maes et al.; Clark et al.  
2014

<i>Disonycha</i> sp. 10 <sup>a</sup>	Malvaceae <sup>b</sup>	Amaranthaceae: <i>Amaranthus</i> , Asteraceae: <i>Baltimora, Phaulothamnus, Vernonia</i> , Brassicaceae: <i>Brassica</i> , Convolvulaceae: <i>Ipomoea imperati</i> , Cucurbitaceae: <i>Citrullus, Cucurbita</i> , Euphorbiaceae: <i>Ricinus</i> , Fabaceae: <i>Arachis, Cajanus, Indigofera, Phaseolus, Vigna</i> , Malvaceae: <i>Gossypium, Sida</i> , Meliaceae: <i>Azadirachta</i> , Musaceae: <i>Musa</i> , Nyctaginaceae: <i>Boerhaavia</i> , Passifloraceae: <i>Passiflora foetida</i> , Pedaliaceae: <i>Sesamum</i> , Poaceae: <i>Oryza, Sorghum, Zea</i> , Polygonaceae: <i>Polygonum</i> , Portulacaceae: <i>Portulaca oleracea</i> , Rhamnaceae: <i>Condalia</i> , Solanaceae: <i>Lycopersicon</i> , Turneraceae: <i>Turnera ulmifolia</i>	Maes <i>et al.</i> ; Clark <i>et al.</i> 2014
<i>Glenidion</i> sp.	Burseraceae; Fabaceae <sup>b</sup> ; Lamiales; Theaceae; Verbenaceae	Fabaceae: <i>Inga sapindoides</i>	Flowers & Janzen 1997
<i>Heikertingerella</i> sp. 1 <sup>a</sup>	Bignoniaceae	Gesneriaceae: <i>Besleria lutea</i> , Scrophulariaceae: <i>Buddleja nitida</i> , Verbenaceae: <i>Lantana camara</i>	Flowers & Janzen 1997; Peck <i>et al.</i> 2014
<i>Heikertingerella</i> sp. 2 <sup>a</sup>	Bignoniaceae: Bignonieae	Gesneriaceae: <i>Besleria lutea</i> , Scrophulariaceae: <i>Buddleja nitida</i> , Verbenaceae: <i>Lantana camara</i>	Flowers & Janzen 1997; Peck <i>et al.</i> 2014
<i>Heikertingerella</i> sp. 4 <sup>a</sup>	Acanthaceae: <i>Ruellia</i> ; Zingiberales	Gesneriaceae: <i>Besleria lutea</i> , Scrophulariaceae: <i>Buddleja nitida</i> , Verbenaceae: <i>Lantana camara</i>	Flowers & Janzen 1997; Peck <i>et al.</i> 2014
<i>Omophoita octomaculata</i>	Asteraceae: <i>Galinsoga</i> ; Lamiaceae: <i>Hyptis, Leonotis</i> ; Verbenaceae, Duranteae: <i>Stachytarpheta jamaicensis</i> ; Zygophyllaceae: <i>Guaiacum</i>	Euphorbiaceae: <i>Acalypha</i> , Lamiaceae: <i>Coleus, Mentha piperita</i> , Verbenaceae: <i>Clerodendrum</i>	Clark <i>et al.</i> 2014

<i>Omophoita sp. 1<sup>a</sup></i>	Rubiaceae <sup>b</sup>	Arecaceae: <i>Guillema</i> , Asteraceae: <i>Lactuca</i> , Brassicaceae: <i>Brassica</i> , Bromeliaceae: <i>Ananas</i> , Caricaceae: <i>Carica</i> , Convolvulaceae: <i>Ipomoea</i> , Cucurbitaceae: <i>Cucurbita</i> , <i>Citrullus</i> , Fabaceae: <i>Phaseolus</i> , Liliaceae: <i>Allium</i> , Malvaceae: <i>Gossypium</i> , <i>Theobroma</i> , Meliaceae: <i>Azadirachta</i> , Nyctaginaceae: <i>Bougainvillea</i> , Pedaliaceae: <i>Sesamum</i> , Poaceae: <i>Sorghum</i> , <i>Zea</i> , Rubiaceae: <i>Coffea</i> , Solanaceae: <i>Capsicum</i> , <i>Lycopersicon</i> , <i>Nicotiana</i> , <i>Solanum</i> , Zingiberaceae: <i>Zingiber</i> .	Maes <i>et al.</i>
<i>Omophoita sp. 2<sup>a</sup></i>	Lamiaceae	Arecaceae: <i>Guillema</i> , Asteraceae: <i>Lactuca</i> , Brassicaceae: <i>Brassica</i> , Bromeliaceae: <i>Ananas</i> , Caricaceae: <i>Carica</i> , Convolvulaceae: <i>Ipomoea</i> , Cucurbitaceae: <i>Cucurbita</i> , <i>Citrullus</i> , Fabaceae: <i>Phaseolus</i> , Liliaceae: <i>Allium</i> , Malvaceae: <i>Gossypium</i> , <i>Theobroma</i> , Meliaceae: <i>Azadirachta</i> , Nyctaginaceae: <i>Bougainvillea</i> , Pedaliaceae: <i>Sesamum</i> , Poaceae: <i>Sorghum</i> , <i>Zea</i> , Rubiaceae: <i>Coffea</i> , Solanaceae: <i>Capsicum</i> , <i>Lycopersicon</i> , <i>Nicotiana</i> , <i>Solanum</i> , Zingiberaceae: <i>Zingiber</i> .	Maes <i>et al.</i>
<i>Syphrea sp.<sup>a</sup></i>	Euphorbiaceae: <i>Acalypha<sup>b</sup></i> ; Fabaceae <sup>b</sup> ; Verbenaceae: Lantaneae, Duranteae: <i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	Euphorbiaceae: <i>Acalypha apodanthes</i> , <i>Bernardia nicaraguensis</i> , <i>Caperonia palustris</i> , <i>Dalechampia heteromorpha</i> , <i>Ditaxis serrata</i> , <i>D. lanceolata</i> , Fabaceae: <i>Mimosa pigra</i> , Malvaceae: <i>Bytneria aculeata</i> , <i>Pavonia</i> , Melastomataceae: <i>Tibouchina herbacea</i>	Flowers & Janzen 1997; Andrews & Gilbert 2005; Wikler & Souza 2008
<i>Walterianella exocosta<sup>a</sup></i>	Bignoniaceae <sup>b</sup> ; Rubiaceae <sup>b</sup> ; Zygophyllaceae: <i>Guaiacum</i>	Acanthaceae, Bignoniaceae: <i>Crescentia alata</i> , <i>Tabebuia rosea</i> , Rubiaceae: <i>Lindenia rivalis</i> , Scrophulariaceae: <i>Buddleja</i>	Flowers & Janzen 1997; Duckett & Casari 2002; Plath <i>et al.</i> 2012
<i>Walterianella oculata<sup>a</sup></i>	Bignoniaceae: Tabebuia alliance <sup>b</sup>	Acanthaceae, Bignoniaceae: <i>Crescentia alata</i> , <i>Tabebuia rosea</i> , Rubiaceae: <i>Lindenia rivalis</i> , Scrophulariaceae: <i>Buddleja</i>	Flowers & Janzen 1997; Duckett & Casari 2002; Plath <i>et al.</i> 2012
<i>Walterianella signata<sup>a</sup></i>	Rubiaceae <sup>b</sup>	Acanthaceae, Bignoniaceae: <i>Crescentia alata</i> , <i>Tabebuia rosea</i> , Rubiaceae: <i>Lindenia rivalis</i> , Scrophulariaceae: <i>Buddleja</i>	Flowers & Janzen 1997; Duckett & Casari 2002; Plath <i>et al.</i> 2012

<i>Walterianella sublineata</i> <sup>a</sup>	Rubiaceae <sup>b</sup>	Acanthaceae, Bignoniaceae: <i>Crescentia alata</i> , <i>Tabebuia rosea</i> , Rubiaceae: <i>Lindenia rivalis</i> , Scrophulariaceae: <i>Buddleja</i>	Flowers & Janzen 1997; Duckett & Casari 2002; Plath <i>et al.</i> 2012
<i>Walterianella tenuicincta</i> <sup>a</sup>	Bignoniaceae: Tabebuia alliance <sup>b</sup>	Acanthaceae, Bignoniaceae: <i>Crescentia alata</i> , <i>Tabebuia rosea</i> , Rubiaceae: <i>Lindenia rivalis</i> , Scrophulariaceae: <i>Buddleja</i>	Flowers & Janzen 1997; Duckett & Casari 2002; Plath <i>et al.</i> 2012
<i>Walterianella venustula</i>	Acanthaceae <sup>b</sup> : <i>Ruellia</i> ; Bignoniaceae <sup>b</sup> : Tabebuia alliance; Cordiaceae: <i>Cordia</i> ; Lamiales; Moraceae; Scrophulariaceae; Verbenaceae: Lantaneae, <i>Lantana</i> <sup>b</sup> ; Rosales	Acanthaceae, Bignoniaceae: <i>Crescentia alata</i> , Rubiaceae: <i>Lindenia rivalis</i> , Verbenaceae: <i>Lantana</i>	Palmer & Pullen 1995; Flowers & Janzen 1997

## Bibliografía:

- Andrews FG, Gilbert AJ (2005) A preliminary annotated checklist and evaluation of the diversity of the Chrysomelidae (Coleoptera) of the Baja California peninsula, Mexico. *Insecta Mundi*, **19**, 89–116.
- Borowiec L, Świętojańska J Cassidinae of the world - an interactive manual (Coleoptera: Chrysomelidae).
- Chaboo CS (2002) Range extensions of new world tortoise beetles (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, **104**, 716–720.
- Clark SM, Lillrose T, Belo Neto LA (2014) Leaf beetles of the Cayman islands (Coleoptera: Chrysomelidae). *Insecta Mundi*, **0279**, 1–41.
- Descampe A, Meskens C, Pasteels J, Windsor DM, Hance T (2008) Potential and realized feeding niches of neotropical hispine beetles (Chrysomelidae: Cassidinae, Cephaloleiini). *Environmental Entomology*, **37**, 224–229.
- Duckett CN, Casari SA (2002) First descriptions of larval stages of Walterianella bucki Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae: Alticinae) and notes on life history. *The Coleopterists Bulletin*, **56**, 170–181.

- Duckett CN, Swigoňová Z (2002) Description of immature stages of Alagoasa januaria Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of the New York Entomological Society*, **110**, 115–126.
- Fernandes FR, Linzmeier AM (2012) Tortoise beetles (Coleoptera, Chrysomelidae, Cassidinae) captured with malaise traps on PROFAUPAR and PROVIVE projects (Paraná, South Brazil). *Cheat List*, **8**, 1225–1231.
- Flowers RW, Janzen DH (1997) Feeding records of Costa Rican leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Florida Entomologist*, **80**, 334–366.
- Helson JE (2005) Tropical host plant-insect relationships as guides to medicinally-active plants. McGill University.
- Jolivet P, Santiago-Blay J, Schmitt M (2008) *Research on Chrysomelidae* (P Jolivet, J Santiago-Blay, M Schmitt, Eds.). Brill Academic Publisher, Leiden, The Netherlands.
- Maes J-M, Staines CL, Riley EG, Flowers RW Familia Chrysomelidae. Available from <http://www.bio-nica.info/Ento/Coleo/chrysomelidae.htm>.
- Meskens C, McKenna DD, Hance T, Windsor DM (2011) Host plant taxonomy and phenotype influence the structure of a neotropical host plant-hispine beetle food web. *Ecological Entomology*, **36**, 480–489.
- Noguera FA (1988) Hispinae y Cassidinae (Coleoptera: Chrysomelidae) de Chamela, Jalisco, Mexico. *Folia Entomológica Mexicana*, **77**, 277–311.
- Palmer WA, Pullen KR (1995) The phytophagous arthropods associated with Lantana camara, L. hirsuta, L. urticifolia, and L. urticoides (Verbenaceae) in North America. *Biological Control*, **5**, 54–72.
- Peck SB, Thomas MC, Turnbow Jr. RH (2014) The diversity and distributions of the beetles (Insecta: Coleoptera) of the Guadeloupe Archipelago (Grande-Terre, Basse-Terre, La Désirade, Marie-Galante, Les Saintes, and PetiteTerre), Lesser Antilles. *Insecta Mundi*, **0352**, 1–156.
- Plath M, Dorn S, Riedel J, Barrios H, Mody K (2012) Associational resistance and associational susceptibility: specialist herbivores show contrasting responses to tree stand diversification. *Oecologia*, **169**, 477–487.
- Prathapan KD, Chaboo CS (2011) Biology of Blepharida-group flea beetles with first notes on natural history of Podontia congregata Baly, 1865 an endemic flea beetle from southern India (Coleoptera, Chrysomelidae, Galerucinae, Alticini). *ZooKeys*, **157**, 95–130.
- Riley EG (1986) Review of the tortoise beetle genera of the tribe Cassidini occurring in America North of Mexico (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae). *Journal of the New York Entomological Society*, **94**, 98–114.
- Riley EG, Enns WR (1979) An annotated checklist of Missouri leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Transactions, Missouri Academy of Science*, **13**, 53–83.
- Santiago-Blay JA (2004) Leaf-mining chrysomelids. In: *New developments in the biology of Chrysomelidae* (eds Santiago-Blay JA, Jolivet P, Schmitt M), pp. 305–306.
- Schmitt M, Frank M (2013) Notes on the ecology of rolled-leaf hispines (Chrysomelidae, Cassidinae) at La Gamba (Costa Rica). *ZooKeys*, **69**, 55–69.
- Staines CL (1994a) A revision of the genus Anisostena Weise (Coleoptera: Chrysomelidae, Hispinae). Part II. The subgenus Anisostena: key to the species groups and the ariadne species group. *Insecta Mundi*, **8**, 125–135.

- Staines CL (1994b) A revision of the genus Anisostena Weise (Coleoptera: Chrysomelidae, Hispinae). Part III. The pilatei species group. *Insecta Mundi*, **8**, 213–226.
- Staines CL (2011a) Catalog of the hispines of the World (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae).
- Staines CL (2011b) Hispines (Chrysomelidae, Cassidinae) of La Selva Biological Station, Costa Rica. *ZooKeys*, **157**, 45–65.
- Staines CL, García-Robledo C (2014) The genus Cephaloleia Chevrolat, 1836 (Coleoptera, Chrysomelidae, Cassidinae). *ZooKeys*, **436**, 1–355.
- Virkki N, Zambrana I (1983) Life history of Alagoasa bicolor (L.) in indoor rearing conditions. *Entomologische Arbeiten Museum Frey*, **31**, 131–155.
- Waterhouse DF (1993) Biological Control: Pacific prospects - Supplement 2. *ACIAR Monograph No. 20*, 132.
- Wikler C, Souza PG (2008) Syphraea uberabensis (Coleoptera: Chrysomelidae) potential agent for biological control of Tibouchina herbacea (Melastomataceae) in the archipelago of Hawai'i, USA. In: *Proceedings of the XII International Symposium on Biological Control of Weeds: La Grande Motte, France, 22–27 April 2007*, p. 340. CABI.
- Williams HE (2002) Life history and laboratory host range of Charidotis auroguttata (Bohemian)(Coleoptera: Chrysomelidae), the first natural enemy released against Macfadyena unguis-cati (L.) Gentry (Bignoniaceae) in South Africa. *The Coleopterists Bulletin*, **56**, 299–307.
- Windsor DM, Riley EG, Stockwell HP (1992) An introduction to the biology and systematics of panamanian tortoise beetles (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae). In: *Insects of Panama and Mesoamerica, Selected studies* (eds Quintero D, Aiello A), pp. 372 – 391. Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo.