

Resumen

La familia Tabanidae son considerados insectos de alto impacto económico en el mundo debido a su dieta hematófaga, siendo estos además vectores de múltiples enfermedades de afección directa al ganado bovino, ovino y bufalino. La presente investigación trata el establecimiento de un protocolo para la evaluación molecular de especies de tábanos presentes en Ecuador mediante un protocolo de PCR Barcoding del gen COI. Se trabajaron muestras de dípteros recolectadas en las provincias de Pichincha, Orellana, Manabí, Napo, Sto. Domingo de los Tsáchilas, Tungurahua, Cotopaxi e Imbabura, estableciendo un protocolo de extracción de ADN mediante variaciones del buffer de lisis y el agente de separación de fases, denotando una sinergia entre el buffer compuesto por 50 mM Tris-HCl, 20mM EDTA, 400 mM NaCl, 1% SDS y el cloroformo/alcohol isoamílico 24:1. Se amplificó el gen COI mediante una PCR variando la temperatura de hibridación de los cebadores, la cantidad de magnesio en la reacción y la cantidad de ADN, fijándose los mejores amplicones a 51°C, 2.5 mM de $MgSO_4$ y 25 ng de ADN. Mediante un análisis Neighbor Joining a partir de secuencias del gen COI de tábanos, obtenidas de bases de datos, se demostró que la técnica permite discernir a nivel de género y especie a los insectos de esta familia. De este modo se establece una técnica estandarizada para un análisis taxonómico de esta Familia en Ecuador.

Palabras clave: Hematófagos, Barcoding, Taxonomía, Tábanos

Abstract

The family Tabanidae are considered insects of high economic impact in the world due to their hematophagous diet, being also vectors of multiple diseases of direct affection to cattle, sheep and buffalo. The present research deals with the establishment of a protocol for the molecular evaluation of horsefly species present in Ecuador by means of a PCR Barcoding protocol of the COI gene. Diptera samples collected in the provinces of Pichincha, Orellana, Manabí, Napo, Sto. Domingo de los Tsáchilas, Tungurahua, Cotopaxi and Imbabura, establishing a DNA extraction protocol using variations of the lysis buffer and phase separation agent, denoting a synergy between the buffer composed of 50 mM Tris-HCl, 20mM EDTA, 400 mM NaCl, 1% SDS and 24:1 chloroform/isoamyl alcohol. The COI gene was amplified by PCR by varying the hybridization temperature of the primers, the amount of magnesium in the reaction and the amount of DNA, with the best amplicons being set at 51°C, 2.5 mM MgSO₄ and 25 ng of DNA. By means of a Neighbor Joining analysis from COI gene sequences of horseflies, obtained from databases, it was demonstrated that the technique allows discerning at genus and species level the insects of this family. Thus, a standardized technique for a taxonomic analysis of this family in Ecuador is established.

Keywords: Hematophagous, Barcoding, Taxonomy, Tabanids