



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**RELACIONES FILOGENÉTICAS DEL CLADO
NORTE-CENTROAMERICANO DE TRIATOMINI
(HEMIPTERA: REDUVIIDAE: TRIATOMINAE)
BASADAS EN EL GENOMA MITOCONDRIAL**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

MAGALI AGUILERA URIBE



**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. RUBI NELSI MEZA LÁZARO**

Ciudad Universitaria, CDMX, 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

1. Datos de la alumna
Aguilera
Uribe
Magali
5529399526
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
312527576

1. Datos de la tutora
Dra.
Rubi Nelsi
Meza
Lázaro

2. Datos del sinodal 1
Dr.
Harry Urad
Brailovsky
Alperowitz

3. Datos del sinodal 2
Dra.
Marysol
Trujano
Ortega

4. Datos del sinodal 3
Dra.
Rubi Nelsi
Meza
Lázaro

5. Datos del sinodal 4
Dr.
Atilano
Contreras
Ramos

6. Datos del sinodal 5
Dr.
Alejandro Francisco
Oceguera
Figueroa

7. Datos del trabajo escrito
Relaciones filogenéticas del clado Norte-Centroamericano de Triatomini
(Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) basadas en el genoma mitocondrial
90 p.
2020

Este trabajo es para:

Mi mamá, Concepción Uribe Zúñiga, y a mi papá, José Manuel Aguilera Gutiérrez, por ser ambos mi fuente de inspiración más grande. Agradezco infinitamente todo lo que han hecho para apoyar mi desarrollo personal y profesional. Pero sobre todo, agradezco su amor incondicional.

Víctor Rendón Suárez, por su apoyo y por siempre creer en mí. Por llenarme de luz e inspirarme a llevarla a todas partes conmigo.

A Dulce Carolina Atempa, por transmitirme fortaleza y por ayudarme siempre a ver con más claridad.

Todos y todas mis amigas, gracias por acompañarme y aconsejarme en todo lo que hago.

Ramona y a Haku, por siempre traerme inmensa felicidad.

Agradecimientos:

Agradezco a todas las personas que hicieron posible este trabajo.

Principalmente, quiero agradecer a la Dra. Rubi Nelsi Meza Lázaro, por todo el tiempo y esfuerzo que le dedicó al trabajo, por transmitirme su pasión por la investigación y su conocimiento.

Al Dr. Harry Urad Brailovsky Alperowitz, por prestar gran parte del material entomológico. Al Dr. Carlos Ibarra Cerdeña, por prestarme también varias de las especies que utilicé en el trabajo. Al Dr. Alejandro Zaldívar por aceptarme en su equipo, por apoyarme con la obtención del material para el trabajo y por sus observaciones. Al M. en C. Troy Kieran, por facilitar la secuenciación de los insectos.

Al proyecto PAPIIT IN201119 Convocatoria 2019.

A los miembros del jurado: Dr. Harry Urad Brailovsky Alperowitz, Dra. Marysol Trujano Ortega, Dr. Atilano Contreras Ramos, Dr. Alejandro Francisco Ocegüera Figueroa, por sus comentarios y sugerencias, los cuales ayudaron a hacer de este un mejor trabajo.

Gracias también a todos mis compañeros de laboratorio que me enseñaron y ayudaron a que este fuera un mejor trabajo.

Tabla de contenido

Resumen	6
Abstract	7
Introducción	8
Antecedentes	12
Hemiptera Linnaeus 1758.....	12
Heteroptera Latreille 1810.....	13
Reduviidae Latreille 1807.....	14
Triatominae Jeannel 1919.....	15
Clado Norte-Centroamericano (Triatomini).....	17
<i>Dipetalogaster</i> (Figura 1A).....	18
<i>Paratriatoma</i> (Figura 1B).....	19
<i>Hermanlenitia</i> (Figura 1C).....	20
<i>Linshcosteus</i> (Figura 1E).....	20
<i>Triatoma</i> Laporte 1832 (Figura 1D; 1F).....	21
Morfología de <i>Triatoma</i> (Lent y Wygodzinsky, 1979).....	22
Morfología de <i>T. mexicana</i> (Lent y Wygodzinsky, 1979).....	23
Complejo <i>phyllosoma</i>	23
Complejo <i>dimidiata</i> Latreille 1811.....	25
Genoma mitocondrial.....	28
Genomas mitocondriales de Triatominae.....	29
Justificación	30
Objetivos	33
Métodos	34
Muestreo.....	34
Trabajo de laboratorio.....	35
Reconstrucción y caracterización del genoma mitocondrial.....	36
Reconstrucción filogenética.....	37
Estimación de tiempos de divergencia.....	40
Resultados	42
Descripción de los nuevos genomas mitocondriales nuevos.....	42
Análisis filogenéticos.....	45
Reconstrucción de tiempos de divergencia.....	53
Discusión	54
Genoma mitocondrial del clado Norte-Centroamericano de Triatomini.....	54
Relaciones filogenéticas.....	55
Relaciones dentro del complejo <i>dimidiata</i> + <i>T. huehuetenanguensis</i>	60
Relaciones dentro del complejo <i>phyllosoma</i>	63
Eventos geológicos.....	66
Observaciones finales.....	68
Conclusiones	70
Referencias	71

Resumen

Triatominae es una subfamilia de Reduviidae cuyas especies se caracterizan por ser hematófagas y tener adaptaciones morfológicas asociadas a este hábito. Los miembros de Triatominae son vectores (o vectores potenciales) de la enfermedad de Chagas, enfermedad endémica de Latinoamérica y con una alta prevalencia en las zonas neotropicales. La mayoría de las especies de Triatominae de importancia médica pertenecen a la tribu Triatomini, que incluye un clado representado por especies distribuidas en el norte y centro de América. No obstante, las relaciones filogenéticas al interior de este clado de Triatomini no están resueltas. En este estudio se reconstruyeron las relaciones evolutivas de las especies del clado Norte-Centroamericano de Triatomini a través del análisis de las secuencias del genoma mitocondrial. Se ensamblaron y anotaron 25 genomas mitocondriales a través del uso de datos de secuenciación masiva. Se concatenaron los 13 genes codificantes en una matriz de nucleótidos y una de aminoácidos para realizar análisis filogenéticos con los métodos de inferencia Bayesiana y Máxima Verosimilitud. Con la matriz de nucleótidos se calcularon las edades de los nodos con un reloj molecular relajado a través de la calibración con la especie fósil *Panstrongylus hispaniolae*. Los árboles obtenidos están completamente resueltos con los valores de soporte más altos citados hasta ahora. El clado Norte-Centroamericano divergió de las especies sudamericanas hace ~15.05 – 20.05 Ma, probablemente gracias a la formación del Istmo de Panamá. Esto sugiere que el origen de Triatomini fue en Sudamérica. Dentro del clado Norte-Centroamericano están las especies distribuidas fuera de América, así como la especie pantropical *T. rubrofasciata*. Las relaciones obtenidas apoyan la hipótesis de que el clado Eurasiático divergió hace ~12.42 – 17.3 Ma.

Abstract

Triatominae is a Reduviid subfamily characterized by the morphological adaptations associated with their hematophagous habit. Members of Triatominae are vectors (or potential vectors) of Chagas disease, a disease endemic from Latin-America with a high prevalence in the neotropics. Most medically relevant species belong to the Triatomini tribe, that includes a clade of species distributed in north and central America. However, phylogenetic relations inside this Triatomini clade are not well resolved. In this study, we reconstructed the evolutionary relations of the species forming the North-Central American clade of Triatomini by analyzing the mitochondrial genome sequences. Twenty-five new mitochondrial genomes were assembled and annotated from massive parallel sequencing data. The 13 protein coding genes were concatenated into a nucleotide and an amino acid matrix for phylogenetic analyses with the Bayesian and Maximum Parsimony methods. Node ages were calculated with the nucleotide matrix using a relaxed molecular clock through the calibration with the fossil species *Panstrongylus hispaniolae*. The obtained trees are completely resolved and with the highest support values reported so far. The North-Central American diverged from the South American species ~15.05 – 20.05Mya probably favored by the Panama Isthmus formation. This suggests that the origin of Triatomini was in South America. Inside the North-Central American clade are the species distributed outside of America, as well as the pantropical *T. rubrofasciata*. The relations found here support the hypothesis that states that the Eurasian clade diverged ~12.42 – 17.3 Mya.

Introducción

Alrededor de seis a siete millones de personas en Latinoamérica padecen la enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana, enfermedad ocasionada por el protozoo *Trypanosoma cruzi* Chagas 1909 y transmitida por chinches de la subfamilia Triatominae (WHO, 2017). La transmisión del parásito causante de esta enfermedad se da por contacto con las heces fecales y orina de los individuos de Triatominae infectados (WHO, 2017) o a través de contacto con la sangre de alguna persona infectada (Miles et al., 2003). La transmisión ocurre generalmente durante la noche, cuando estos insectos salen a alimentarse (Dotson y Beard, 2001).

Las especies de Triatominae que tienen mayor importancia epidemiológica en el mundo por haber colonizado ambientes domésticos y peridomésticos son *Triatoma infestans* Leconte 1855, *Triatoma dimidiata* Latreille 1811, *Triatoma pallidipennis* Stål 1872, *Triatoma phyllosoma* Burmeister 1835, *Triatoma maculata* Erichson 1848, *Triatoma brasiliensis* Neiva 1911, *Triatoma guasayana* Wygodzinsky y Abalos 1949, *Panstrongylus herreri* Wygodzinsky 1948, *Panstrongylus megistus* Burmeister 1835, *Rhodnius prolixus* Stål 1859 y *Rhodnius pallescens* Barber 1932 (Lent y Wygodzinsky, 1979; Capinera, 2008). Algunas de estas especies, como *T. infestans* y *T. dimidiata*, son de las especies más estudiadas en cuanto a su biología y evolución (Noireau y Dujardin, 2010). Los Triatominae se distribuyen en todo el mundo, en México hay alrededor de 32 especies pertenecientes a los géneros *Triatoma* Latreille 1811, *Panstrongylus* Berg 1979, *Belminus*, *Dipetalogaster* Usinger 1939, *Eratyrus* Stål 1859, *Paratriatoma* Barber 1938 y *Rhodnius* Stål 1859 (Salazar-Schettino et al., 2010).

Actualmente no existe un tratamiento efectivo para eliminar esta enfermedad en la fase crónica (Guzmán-Bracho, 2001; Días et al., 2002; Dorn et al., 2007), por lo que los

programas de control vectorial que intentan reducir la prevalencia de los Triatominae son el método más útil para frenar la enfermedad (Días et al., 2002; Dorn et al., 2007). Los programas de control deben de adecuarse a la especie que se intenta eliminar, debido a la gran variación en comportamientos biológicos de los Triatominae (Días et al., 2002; Dumonteil et al., 2004; Dorn et al., 2007). Por esta razón, es necesario plantear estrategias de control diferenciales entre las especies según sus hábitos dentro de ambientes domiciliarios y peridomiciliarios (Guhl, 2009).

Los límites entre especies y las relaciones filogenéticas en la subfamilia Triatominae aún no están bien establecidos, particularmente en la tribu Triatomini Jeannel 1919 (Ibarra-Cerdeña et al. 2014; Justi et al. 2014; Justi y Galvão, 2017). Estudios recientes (Ibarra-Cerdeña et al. 2014; Justi et al. 2014; Justi et al., 2016) identificaron, dentro de Triatomini, un clado compuesto por los géneros *Dipetalogaster* Usinger 1939, *Paratriatoma* Barber 1938, *Triatoma* Laporte 1832 y *Linshcosteus* Distant 1904, aunque las relaciones entre las especies que lo componen aún no están bien resueltas (Justi y Galvão, 2017). La distribución de los miembros de este clado es en su mayoría en el norte y centro de América. Tanto *Dipetalogaster* como *Paratriatoma* tienen una distribución restringida al norte y centro de América, mientras que entre los miembros de *Triatoma* de este clado, hay algunas especies que habitan únicamente en Asia (ej. *T. migrans*) y *T. rubrofasciata* con distribución pantropical (Lent y Wygodzinsky, 1979; Justi et al., 2016). Por otro lado, *Linshcosteus* tiene una distribución restringida a India (Lent y Wygodzinsky, 1979).

Hasta ahora, la mayoría de los estudios realizados para establecer tanto los límites entre especies de los complejos *dimidiata* y *phyllosoma*, así como las relaciones del clado Norte-Centroamericano se basaron en uno a seis marcadores mitocondriales y nucleares (ej. Hypša et al., 2002; Pfeiler et al., 2006; Bargues et al., 2008; Ibarra-Cerdeña et al., 2014; Dorn

et al., 2016). Los análisis con genomas mitocondriales completos potencialmente permitirían obtener una mejor aproximación a la historia evolutiva del grupo, ya que además de dar información sobre las mutaciones puntuales, pueden dar información sobre el acomodo y rearreglo de los genes (Stevens y Schofield, 2003; Duchene et al., 2011).

El objetivo principal de este trabajo es investigar las relaciones evolutivas del clado Norte-Centroamericano de Triatomini (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) a través del genoma mitocondrial. Para esto se caracterizará el genoma mitocondrial de los miembros de este clado recuperados en los análisis de Ibarra-Cerdeña et al. (2014) y Justi et al. (2014) y se investigarán las relaciones filogenéticas y sus tiempos de divergencia.

Antecedentes

Hemiptera Linnaeus 1758

Hemiptera es el orden más diverso de insectos no holometábolos con alrededor de 100,000 especies descritas hasta ahora (Beutel et al., 2014). Hemiptera incluye a especies depredadoras, parásitas de plantas y fitófagas (Vázquez-García y Villalobos, 1987; Curry, 1994) y se distribuyen en todo el mundo y habitan en muchos tipos de ambientes (Curry, 1994). Todo Hemiptera se alimenta succionando líquidos, de animales o vegetales, y la mayoría de las especies son fitófagas (Li et al., 2017). La condición ancestral en la alimentación del grupo es la fitofagia, por lo que el hábito hematófago implicó una modificación en el aparato bucal y en el digestivo (Carcavallo et al., 2000, Li et al., 2017). Este hábito hematófago surgió múltiples veces en el orden y está presente en algunos miembros de las familias Reduviidae Latreille 1807, Cimicidae Latreille 1802, Polycetenidae Westwood 1874 y algunos Lygaeidae Schilling 1829, aunque de manera facultativa (Carcavallo et al., 2000). El origen de Hemiptera data del periodo Carbonífero, con una diversificación posiblemente relacionada con las radiaciones de angiospermas a inicios del Pérmico (Grimaldi y Engel, 2005; Li et al., 2017).

Los hemípteros presentan dos pares de alas (un par en el mesotórax y otro par en el metatórax), labium modificado que forma una especie de escudo para el resto de las piezas bucales, pérdida de palpos maxilares y labiales, y antenas con cuatro o cinco artejos (Vázquez-García y Villalobos, 1987; Grimaldi y Engel, 2005). Son organismos paurometábolos ya que las ninfas difieren poco morfológicamente de los adultos; sus diferencias son la posición abdominal de las glándulas odoríferas y la ausencia de alas (Vázquez-García y Villalobos, 1987; Capinera, 2008). El orden Hemiptera está compuesto

actualmente por cuatro subórdenes: Sternorrhyncha, Auchenorrhyncha, Coleorrhyncha y Heteroptera; aunque algunas clasificaciones reconocen a Fulgoromorpha y Cicadomorpha en vez de Auchenorrhyncha (Capinera, 2008; Cui et al., 2013; Li et al., 2017).

Heteroptera Latreille 1810

El suborden Heteroptera es un grupo monofilético formado por alrededor de 40,000 especies y siete infraórdenes, correspondientes al 40% de la diversidad dentro del orden Hemiptera (Schuh y Slater, 1995; Cassis et al., 2002; Weirauch y Schuh, 2011; Li et al., 2017). La mayoría de las familias de Heteroptera son cosmopolitas y habitan en una gran variedad de ambientes, los hay desde acuáticos hasta asociados a animales terrestres (Schuh y Slater, 1995). Su diversidad también se ve reflejada en los hábitos alimenticios, pues hay fitófagos (este es el hábito más común), depredadores y hematófagos (Schuh y Slater, 1995).

Una característica que diferencia a los Heteroptera del resto de Hemiptera es que sus alas anteriores son de tipo hemiélitro, es decir, tienen el corium esclerotizado en la parte anterior y una membrana en la parte posterior (Beutel et al., 2014). Otras características de Heteroptera son la presencia de gula para succionar líquidos y glándulas odoríferas en el metatórax y el abdomen (Weirauch y Schuh, 2011).

Se estima que Heteroptera se originó hace aproximadamente 262 millones de años, diversificó en el Triásico, y su último ancestro común se infiere que era un depredador terrestre (Weirauch y Schuh, 2011; Li et al., 2017). El origen de Heteroptera está relacionado con la evolución de cuatro características: 1) glándulas metatorácicas en adultos e inmaduros con glándulas en la parte dorsal del abdomen, 2) labium insertado en la parte anterior de la

cabeza, de manera apical y 3) ala delantera protectora (Weirauch y Schuh, 2011; Li et al., 2017).

Reduviidae Latreille 1807

La familia Reduviidae es una de las más diversas dentro de Heteroptera en términos de morfología, comportamientos y número de especies (Weirauch y Munro, 2009; Panizzi y Grazia, 2015). Está conformada actualmente por 25 subfamilias y alrededor de 7,000 especies descritas (Maldonado-Capriles, 1990; Weirauch et al., 2014; Panizzi y Grazia, 2015). Las especies de Reduviidae se distribuyen en todo el mundo, pero se encuentran principalmente en las regiones tropicales y subtropicales (Maldonado-Capriles, 1990; Capinera, 2008). Casi todos los miembros de la familia Reduviidae se alimentan de otros insectos, a excepción de Triatominae, cuyos miembros son hematófagos de vertebrados (Panizzi y Grazia, 2015). Reduviidae es monofilética, aunque algunas de sus subfamilias no lo son, como es el caso de Reduviinae Latreille 1807 y Triatominae, que son polifiléticas (Weirauch y Munro, 2009; Hwang y Weirauch, 2012).

Las características diagnósticas de Reduviidae son la inserción lateral de las antenas (generalmente filiformes y con cuatro segmentos), presencia de glándulas de Brindley en el borde del metatórax, presencia de un sulco estridulante, y una proboscis conformada por tres segmentos que no se extiende más allá del prosterno y es curva en la mayoría de los casos (Carcavallo et al., 2000; Noireau y Dujardin, 2010).

Triatominae Jeannel 1919

La subfamilia Triatominae está formada por 15 géneros, con 151 especies existentes y dos especies fósiles (Justi et al., 2014; Galvão y Justi, 2015; Dorn et al., 2018; Lima-Cordón et al., 2019). Las especies de esta subfamilia se distribuyen en las regiones Neártica, Neotropical, Oriental, Afrotropical y en la Australiana (Lent y Wygodzinsky, 1979; Dujardin et al., 2015). América es la región con el mayor número de especies de Triatominae, cuya mayor diversidad está en las zonas tropicales (Lent y Wygodzinsky, 1979; Rodriguero y Gorla, 2004). Se propuso que el origen de Triatominae pudo ser en el norte de Sudamérica o en Centroamérica, con una posterior dispersión hacia el resto de Sudamérica y Norteamérica, favorecida por la formación del Istmo de Panamá (Ibarra-Cerdeña et al., 2014; Justi et al., 2016). En Norteamérica, se estima que la divergencia entre especies neotropicales y neárticas ocurrió durante el Mioceno (Ibarra-Cerdeña et al., 2014).

La monofilia del grupo se puso en duda con evidencia molecular a través del análisis genes ribosomales en el que se encontró que el grupo es parafilético con respecto a *Opisthacidius* Berg 1879 (Hwang y Weirauch, 2012). En contraste, otros estudios que utilizan también genes ribosomales y el gen *Wingless* sugieren fuertemente que la subfamilia Triatominae es monofilética y que el hábito hematófago evolucionó una sola vez en Reduviidae (Weirauch y Munro, 2009; Justi et al., 2016). Este hábito hematófago está relacionado con la evolución y la diversificación de mamíferos y pájaros, así como las adaptaciones que tuvieron los Triatominae al pasar de vida libre a la ocupación de nidos (Gorla et al., 1997). La mayoría de las especies de Triatominae son nocturnas y solo eventualmente dejan sus refugios en el día para buscar comida (Panizzi y Grazia, 2015).

Hace millones de años estos insectos estaban adaptados al medio silvestre y su transición a ambientes domésticos y peridomésticos ocurrió cuando el ser humano comenzó

a invadir ambientes silvestres y a alterar los ecotopos naturales (Castillo y Wolff, 2000; Lazzari et al., 2013). Entre los hábitats naturales de Triatominae se encuentran las copas de los árboles de palmas, troncos vacíos, madrigueras y pilas de rocas (Lazzari et al., 2013).

La subfamilia Triatominae fue definida con sus adaptaciones morfológicas a los hábitos hematófago y depredador (Panzera et al., 2010). La principal característica diagnóstica de Triatominae es la conexión membranosa entre el segundo y tercer segmento de la probóscide que les permite flexionar el tercer segmento al alimentarse (Lent y Wygodzinsky, 1979). También se pueden distinguir de otros Reduviidae por su probóscide recta, delgada y adyacente a la gula (Lent y Wygodzinsky, 1979). También presentan antenas insertadas lateralmente y filiformes, y ausencia de glándulas odoríferas dorsales en las ninfas (Lent y Wygodzinsky, 1979; Carcavallo et al., 2000).

Triatominae se divide tradicionalmente en cinco tribus: Rhodniini Pinto 1926, Cavernicolini Usinger 1944, Bolboderini Usinger 1944, Alberproseniini Martínez y Carcavallo 1977 y Triatomini (Schofield y Galvão, 2009). Las tribus más estudiadas por ser las más abundantes y diversas son Triatomini y Rhodniini (Justi y Galvão, 2017). Justi et al. (2014) proponen una división de la tribu Triatomini en tres clados principales: el primero incluye al género *Panstrongylus*, al complejo *flavida* y a *Triatoma tibiamaculata*, todos con distribución en Sudamérica; el segundo a los géneros *Hermanlenticia*, *Paratriatoma*, *Dipetalogaster*, *Linshcosteus* y a las especies de *Triatoma* del hemisferio norte, todos con distribución en el hemisferio norte a excepción de *Linshcosteus*, que se distribuye únicamente en India; y el tercer linaje contiene a especies de *Triatoma* del hemisferio sur y al género *Eratyrus*, también con distribución en el sur de América (Apéndice A). Ibarra-Cerdeña et al. (2014) encuentran un clado dentro de Triatomini muy similar al de Justi et al. (2014), al cual le llaman clado Norte-Centroamericano porque su estudio no incluyó taxones con

distribución fuera de América (Apéndice B). El presente estudio se centra en el segundo clado de Justi et al. (2014), o clado Norte-Centroamericano de Ibarra-Cerdeña et al. (2014), al que nos referiremos de aquí en adelante como el “clado Norte-Centroamericano” dado su nombramiento original.

Clado Norte-Centroamericano (Triatomini)

El clado Norte-Centroamericano de Triatomini se conforma hasta ahora por 29 especies: *Triatoma nitida* Usinger 1939, *Triatoma rubida* Uhler 1894, *Triatoma mazzottii* Usinger 1941, *Triatoma phyllosoma* Usinger 1944, *Triatoma pallidipennis* Stål 1872, *Triatoma picturata* Usinger 1939, *Triatoma longipennis* Usinger 1939, *Triatoma bassolsae* Aguilar, Torres, Jimenez, Jurberg, Galvão y Carcavallo, 1999, *Triatoma recurva* Stål 1868, *Triatoma mexicana* Pinto 1931, *Triatoma sanguisuga* Neiva 1911, *Triatoma dimidiata* Latreille 1811, *Triatoma huehuetenanguensis* Dorn et al. 2019, *Triatoma mopan* Lima-Cordón et al. 2019, *Triatoma lecticularia* Stål 1859, *Triatoma gerstaeckeri* Stål 1859, *Triatoma ryckmani* Zeledón y Ponce 1972, *Triatoma rubrofasciata* De Geer 1773, *Triatoma rubida* Ryckman 1967, *Triatoma nitida* Usinger 1939, *Triatoma protracta* Uhler 1849, *Triatoma bolivari* Carcavallo, Martínez y Peláez 1987, *Triatoma brailovsky* Martínez Carcaballo y Peláez 1984, *Triatoma hegneri* Mazzotti 1940, *Triatoma migrans* Breddin 1903, *Paratriatoma hirsuta* Ryckman 1967, *Hermanlenticia matsunoi* Fernández-Loayza 1989, *Dipetalogaster maxima* Uhler 1894, y *Linshcosteus* sp. Distant 1904 (Ibarra-Cerdeña et al., 2014; Justi et al., 2014; Justi et al., 2016; Zhao et al., 2019).

No todas las especies de este clado están distribuidas en el norte y centro de América (Apéndice C) como su nombre lo sugiere, ya que el clado se nombró por Ibarra-Cerdeña et

al. (2014) con base en una filogenia que no incluyó un muestreo más amplio. Posteriormente, Justi et al (2014) realizan una filogenia que recupera un clado similar al Norte-Centroamericano de Ibarra-Cerdeña et al. (2014), pero dentro de este se anidan *Hermanlenticia matsunoi* cuya distribución es en Perú (Jurberg y Galvão, 1997), el género *Linshcosteus* con una distribución restringida a India (Lent y Wygodzinsky, 1979), *T. rubrofasciata*, una especie con distribución pantropical, y *T. migrans* distribuida en India, Indonesia, Malasia, Filipinas y Tailandia (Dujardin et al., 2015).

Dipetalogaster (Figura 1A)

Dipetalogaster es un género monotípico, cuya única especie, *D. maxima*, es principalmente silvestre y vive en zonas semiáridas de Baja California Sur (Ryckman y Ryckman, 1967; Lent y Wygodzinsky, 1979). Esta especie se alimenta de vertebrados, principalmente de lagartijas, aunque también se puede alimentar de roedores y otros mamíferos. Se ha encontrado infectada naturalmente con *T. cruzi*, pero no es considerada como una especie de importancia epidemiológica (Lent y Wygodzinsky, 1979; Jiménez y Palacios, 2002)

Dipetalogaster maxima es la especie de Triatominae más grande, alcanza longitudes de hasta 4.4 cm (Lent y Wygodzinsky, 1979). Se caracteriza por la presencia de un par de invaginaciones con forma de frasco en el segmento terminal del rostro, las cuales se abren de la base hacia el exterior y presentan septos transversales (Lent y Wygodzinsky, 1979). Poseen una membrana conexival que conecta las placas del conexivo dorsal con los escleritos ventrales (Lent y Wygodzinsky, 1979).

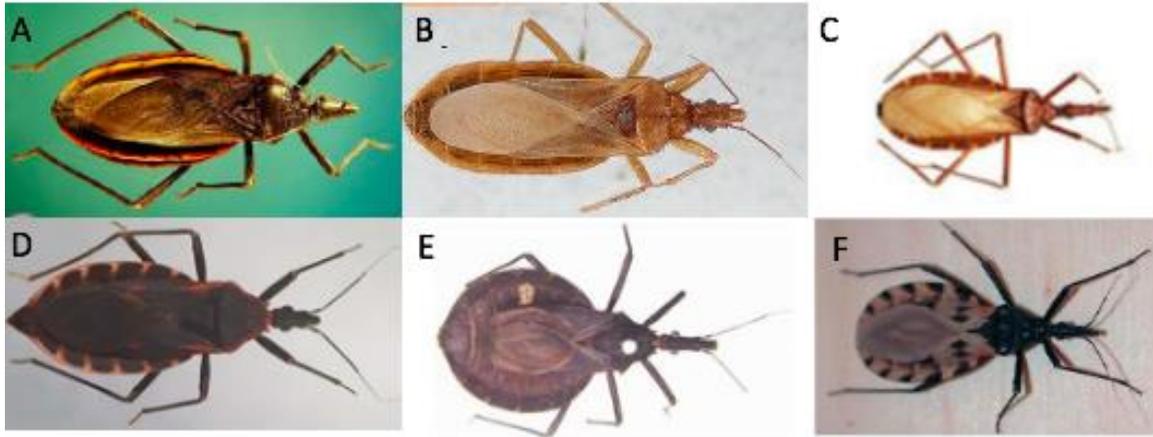


Figura 1. Representantes del clado Norte-Centroamericano. A) *Dipetalogaster maxima*; B) *Paratriatoma hirsuta*; C) *Hermanlenticia matsunoi*; D) *Triatoma rubrofasciata*; E) *Linshcosteus karupus*; F) *Triatoma dimidiata* Fuentes: Barrera-Vargas, 2009, Weirauch 2008, Justi y Galvão, 2017, Hieu et al., 2019, Schaefer, 2003, Jurberg y Galvão, 2006.

Paratriatoma (Figura 1B)

Es un género monotípico cuya única especie, *P. hirsuta*, se distribuye en el sureste de Estados Unidos y sus áreas colindantes con México (Ryckman, 1971; Galvão et al., 1998). Su alimento principal son los roedores del género *Neotoma* (Ryckman, 1971). *Paratriatoma hirsuta* está asociada a plantas porque sus hospederos las utilizan como refugio (Ryckman, 1971). Puede ser portadora de *T. cruzi* pero no se considera de importancia epidemiológica (Ryckman, 1971).

Es un género cercano a *Triatoma* pero se distingue por algunas características morfológicas (Barber, 1938). Su cabeza tiene la forma ovalada y las patas no tienen espinas femorales (Barber, 1938). Lo más particular, y el carácter que le da nombre a la especie, es que tiene unas sedas largas y semierectas en todo el cuerpo y en los apéndices (Barber, 1938).

Hermanlenticia (Figura 1C)

Hermanlenticia es un género de Triatominae relativamente nuevo, propuesto para la especie *Triatoma matsunoi* (Jurberg y Galvão, 1997). Su distribución se restringe a Perú (Galvão et al., 1998). El taxón más cercano a *Hermanlenticia* es el linaje de *T. dimidiata* de México (Justi et al., 2014). Adicionalmente, en un estudio realizado sobre su infección con *T. cruzi* encontraron que tiene una significancia epidemiológica muy pequeña o quizá nula (Cuba et al., 2002).

Las características de esta especie para asignarla a su propio género nuevo son de morfología externa, coloración y estructuras reproductoras (Jurberg y Galvão, 1997). La cabeza tiene ojos desproporcionadamente pequeños, la relación entre cabeza y pronoto es de 1:0.4 y la coloración de los hemiélitros es blanquecina (Jurberg y Galvão, 1997). Algunos de los caracteres de los genitales son que el aparato articulario tiene el doble de tamaño que el edeago y el falosoma con ápice en forma de dedo (Jurberg y Galvão, 1997). Justi et al. (2017) afirman que *Hermanlenticia matsunoi* se puede considerar como parte de *Triatoma*.

Linschosteus (Figura 1E)

Linschosteus habita en el sur de India (Justi y Galvão, 2017). Todos los demás géneros del clado Norte-Centroamericano se distribuyen exclusivamente en el continente americano, excepto *Triatoma*, que tiene representantes al sur de Asia (Lent y Wygodzinsky, 1979). Actualmente las hipótesis más aceptadas son que las especies con distribución fuera de América se originaron en América y que posteriormente se dispersaron a Asia a través del estrecho de Bering (Justi et al., 2016; Justi y Galvão 2017) o por dispersión de ratas del

género *Rattus rattus*, uno de los hospederos de las chinches, a través de barcos en los siglos XVI-XIX (Gorla et al., 1997; Dujardin et al., 2015).

Linshcosteus está formado por seis especies que son entre sí muy parecidas morfológicamente (Lent y Jurberg, 1983). La posición taxonómica del género ha sido controvertida por tener características que lo hacen muy diferentes al resto de los Triatomini (Lent y Jurberg, 1983; Schaefer y Coscarón, 2001). Es por esto que se propuso una tribu monogénica, Linshcosteusini (Carcavallo et al., 2000), aunque no se ha retomado en otros estudios. El género *Linshcosteus* se distingue porque el rostro no sobrepasa la base de la cabeza y por la ausencia de espinas en el fémur y la tibia (Ghauri, 1976).

***Triatoma* Laporte 1832** (Figura 1D; 1F)

El género más diverso dentro de Triatominae es *Triatoma*, con 82 especies reconocidas (Galvão et al., 2003; Schofield y Galvão, 2009; Dorn et al., 2018; Lima-Cordón et al., 2019). El género *Triatoma* es un taxón parafilético (Patterson et al., 2001; Hwang y Weirauch, 2012) compuesto por dos grupos: uno con individuos de norteamérica y centroamérica, y el otro con especies sudamericanas (Patterson et al., 2001; Dujardin y Schofield, 2004).

Al interior de este género se han reconocido varios complejos de especies, como los complejos *dimidiata* y *phyllosoma* (Lent y Wygodzinsky, 1979; Schofield y Galvão, 2009; Monteiro et al., 2013). Sin embargo, los análisis filogenéticos con *ITS-2* demuestran que se debería de reconsiderar esta clasificación pues no todas las especies previamente agrupadas en cada complejo se recuperaron en los análisis (de la Rúa et al., 2014).

La mayoría de las especies de *Triatoma* son preferentemente arbóreas, pero también se les encuentra en ambientes rocosos (Noireau y Dujardin, 2010; Galvão y Justi, 2015;

Panizzi y Grazia, 2015). Tienen preferencia por roedores y primates y poseen la capacidad de colonizar ambientes humanos (Carcavallo et al., 2000; Noireau y Dujardin, 2010; Galvão y Justi, 2015; Panizzi y Grazia, 2015).

Morfología de *Triatoma* (Lent y Wygodzinsky, 1979)

Los ojos de estas especies son más grandes que las otras especies de Triatomini y los tubérculos anteníferos están posicionados a la mitad o más atrás de la mitad de la región antecular. El primer segmento del rostro es notablemente más pequeño que el segundo segmento y el tercer segmento carece de órgano del rostro; el rostro es del mismo tamaño que la cabeza y se extiende hasta la región del prosterno. *Triatoma* posee placas ventrales distintivas en el conxivo, con una membrana que conecta las placas dorsales y ventrales. Las zonas laterales del abdomen son membranosas, a excepción de algunas hembras micrópteras de *Triatoma spinolai*. Los ángulos humerales en este género aparecen redondeados o angulares. El prosterno presenta un sulco estridulatorio. Todos los individuos de este género tienen setas, ya sea muy pequeñas y pocas a abundantes y largas.

Desde los caracteres morfológicos que definen a este género, Lent y Wygodzinsky (1979) sospechaban que en realidad es un grupo parafilético ya que está definido por caracteres plesiomórficos en su mayoría. En estudios moleculares con marcadores como *cob*, *ITS-2* o *cox1* encuentran que *Triatoma* es parafilético (ej. Justi et al., 2014; Ibarra-Cerdeña et al., 2014; Justi et al., 2016).

Morfología de *T. mexicana* (Lent y Wygodzinsky, 1979)

La especie *T. mexicana* se ha considerado como parte del complejo *phyllosoma* o como una especie muy cercana a este, con base en morfología (Lent y Wygodzinsky, 1979) y marcadores moleculares (*cox1*, *cox2*, *cob*, *12S*, *16S*, *18S*, *28S*; Ibarra-Cerdeña et al., 2014; Justi et al., 2014). Sin embargo, tanto por su morfología (Lent y Wygodzinsky, 1979), su posición filogenética (ej. Ibarra-Cerdeña et al., 2014) y su biología (Salazar-Schettino et al., 2013) esta especie parece ser la especie hermana del complejo *phyllosoma* y no parte de él.

Respecto a su morfología, *T. mexicana* se distingue de otras especies de *Triatoma* por presentar los ángulos humerales del pronoto distintivamente puntiagudos y alargados. En el complejo *phyllosoma* estos son redondeados y en *T. dimidiata* son pequeños y cónicos. Su color es negro con manchas amarillas en el cuello, corium y conexivo. Sus tubérculos anteníferos están detrás de la mitad de la región antecular y el primer segmento de la antena es mucho más pequeño que el ápice del clípeo. Los hemiélitros llegan al ras del abdomen o casi lo sobrepasan. Tienen estrías pequeñas y transversales en la parte ventral del abdomen.

Complejo *phyllosoma*

El complejo *phyllosoma* está compuesto por *T. phyllosoma*, *T. mazzottii*, *T. pallidipennis*, *T. longipennis*, *T. picturata*, y *T. bassolsae*; algunos incluyen a *T. mexicana* dentro del complejo (Lent y Wygodzinsky, 1979; Bargues et al., 2008). Algunos autores (Carcavallo et al., 2000) tratan a este complejo como un género distinto denominado *Meccus*. El complejo *phyllosoma* se distribuye en el norte de México (Ramsey et al., 2015). En algunos estudios moleculares se presentan en los árboles con ramas muy cortas o no se distinguen como especies distintas

(Martínez et al., 2006; Bargues et al., 2008). Particularmente *T. mazzottii* y *T. phyllosoma* aparecen consistentemente como linajes muy cercanos (ej. Espinoza et al., 2013).

Los caracteres diagnósticos del complejo *phyllosoma*, como se describen en Lent y Wygodzinsky (1979) son un vientre con estrías transversas, un abdomen amplio y redondeado, y tubérculos torácicos muy prominentes. A veces es difícil la identificación de estas especies entre sí. Aunque el abdomen en el complejo *phyllosoma* es generalmente redondeado, *T. phyllosoma* se distingue por tener hemielitros muy angostos y cortos que dejan a los uroterguitos VI en adelante expuestos, en una condición casi braquíptera, y por las manchas naranjas que ocupan hasta los segmentos posteriores 6 – 3 en el conexivo. Mientras tanto, en *T. mazzotti* los hemielitros sí se extienden hasta el final o casi hasta el final del abdomen y las manchas llegan a la mitad o a la tercera parte de los segmentos del abdomen. *Triatoma longipennis* tiene como característica que sus manchas son de un tono más amarillo y se pueden extender hasta la sutura del conexivo. Esta especie tiene el mesosterno con pelos largos como el resto de las especies del complejo *phyllosoma*, pero el metasterno y el abdomen con pelos más cortos.

El primer segmento de las antenas en *T. longipennis* apenas llega al ras o sobrepasa ligeramente el ápice del clípeo. Por otro lado, este segmento en *T. mazzottii* y *T. phyllosoma* se extiende distintivamente más allá del ápice del clípeo. Su color, al igual que en los otros miembros del complejo *phyllosoma*, es oscuro y presentan manchas naranjas o rojas en el corium y en el conexivo. Tienen setas numerosas, la presencia de estas setas es similar en *T. phyllosoma* y *T. mazzotti* por su tamaño (0.5 mm) y abundancia. Mientras tanto, en *T. longipennis* son menos abundantes y más pequeñas (0.1 – 0.3 mm).

Desde 1944, Usinger reportó que tanto *T. phyllosoma* como *T. mazzottii* por sus caracteres morfológicos, son especies muy parecidas, algo que Lent y Wygodzinsky

reafirman en 1979. Las principales diferencias entre estas dos especies son el tamaño de la cabeza, más grande en *T. phyllosoma*, los ojos más pequeños en *T. phyllosoma* y los hemielitros más largos en *T. mazzottii*. Adicionalmente, la distribución de estas dos especies se sobrelapa en varios estados de México como Durango, Nayarit, Guerrero, Michoacán y Oaxaca.

Complejo *dimidiata* Latreille 1811

Triatoma dimidiata está distribuida en México, Belice, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá y se ha encontrado también en Sudamérica, en Ecuador, Colombia y Perú (WHO, 2007; Guhl, 2009). *Triatoma dimidiata* es de los vectores de Chagas más importantes en el sur de México, Centroamérica y norte de Sudamérica (Lent y Wygodzinsky, 1979; Dumonteil et al., 2002; Capinera, 2008; Bargues et al., 2017). El hábitat que prefieren dentro de las casas es cerca de las camas (paredes, lugares no muy elevados y el piso), mientras que en la periferia de las casas son comunes en pilas de madera (Zeledón et al., 1973). Las poblaciones silvestres se encuentran en árboles huecos (Zeledón et al., 1973) y áreas con hábitats sombreados y rocosos donde abundan mamíferos pequeños (WHO, 2007). Estas poblaciones silvestres representan un problema para la eliminación del vector pues tienen una dispersión muy amplia (WHO, 2007).

De acuerdo con Lent y Wygodzinsky (1979), los caracteres morfológicos que distinguen a los miembros del complejo *dimidiata* de otras especies de *Triatoma* son el color amarillo o amarillo-anaranjado del corio de los hemielitros y las manchas apical y central oscuras (la mancha central puede estar ausente). Tienen los segmentos del conexivo con manchas amarilla o amarillo-anaranjada en las partes dorsal y ventral, ocupando más de la

mitad posterior de cada segmento. Sus setas son pequeñas y los tubérculos anteníferos son alargados y se encuentran ligeramente posteriores a la región antecular de la cabeza. El primer segmento de la antena llega hasta el ápice del clípeo. El lóbulo anterior del pronoto tiene tubérculos laterales pequeños, los ángulos humerales anterolaterales son pequeños y cónicos. Los hemiólitros llegan al final del abdomen, pero dejan los genitales femeninos expuestos. En la parte ventral del abdomen presentan pequeñas estrías transversales y pilosidades pequeñas.

Cuando se definió el grupo *dimidiata* con base en su morfología se consideró compuesto por cuatro especies: *T. dimidiata*, *T. hegneri*, *T. capitata* y *T. maculipennis* (Usinger, 1941). Lent y Wygodzinsky (1979) rechazaron esta propuesta y sinonimizaron a estas especies ya que los caracteres utilizados anteriormente para identificar a estos individuos como especies (Usinger, 1941) o subespecies (Usinger, 1944) presentan gran variación dentro de este taxón. Posteriormente, con estudios moleculares que han utilizado *nad4*, *cob* e *ITS-2* se determinó que *T. dimidiata* está compuesta por más de un linaje (ej. Barges et al., 2008; Monteiro et al., 2013). La mayoría de los estudios reconocen tres o cuatro linajes congruentes geográficamente (Barges et al., 2008; Dorn et al., 2009; Monteiro et al., 2013; Gómez-Palacio et al., 2015; Justi et al., 2018). Cada estudio ha dado nombres diferentes a dichos linajes.

El linaje 1 tiene una distribución que abarca desde México hasta Colombia, esta es el la distribución más amplia del complejo (Barges et al., 2008; Dorn et al., 2009; Monteiro et al., 2013; Gómez-Palacio et al., 2015; Justi et al., 2018). Este clado ha sido llamado 1a y 1b o *T. d. dimidiata* y *T. d. capitata* (Barges et al., 2008), grupo I (Monteiro et al., 2013) o *T. dimidiata* s.s. (Justi et al., 2018). Este linaje posiblemente está compuesto por más de una especie y es el que presenta más variación interpoblacional (Dorn et al., 2016; Justi et al.,

2018). El segundo linaje, llamado 2 o *T. d. maculipennis* (Bargues et al., 2018), o II (Monteiro et al., 2013) comprende a las poblaciones que se distribuyen en el Golfo de México, Guatemala y Belice (Bargues et al., 2008; Dorn et al., 2009; Monteiro et al., 2013; Gómez-Palacio et al., 2015). El tercer linaje, conocido como linaje 3 (Bargues et al., 2008), III (Monteiro et al., 2013) o *T. sp. aff. dimidiata* (Bargues et al., 2008; Justi et al., 2018), se distribuye en el sur de México (Yucatán), Honduras, Guatemala (Petén) y Belice (Bargues et al., 2008; Dorn et al., 2009; Monteiro et al., 2013; Dorn et al., 2016; Justi et al., 2018). Adicionalmente, Monteiro et al. (2013) identificaron otro linaje que llamaron IV, correspondiente a individuos silvestres de Belice. Los linajes 3 (Bargues et al., 2008) y IV (Monteiro et al., 2013) fueron descritos posteriormente de manera formal como *T. huehuetenanguensis* y *T. mopan*, respectivamente (Dorn et al., 2018; Lima-Cordón et al., 2019).

En la descripción original de *T. maculipennis* (Usinger, 1941) se utilizaron individuos colectados en México que tienen cierta coherencia morfológica aunque con variaciones clinales que se sobrelapan con la variación de *T. dimidiata* (Lent y Wygodzinsky, 1979). Fue por estas variaciones que Lent y Wygodzinsky (1979) decidieron sinonimizar a estas especies. Por otro lado, *T. huehuetenanguensis*, fue descrita a partir de individuos del norte de Guatemala. Tanto la morfología como la distribución de *T. huehuetenanguensis* (1979) y *T. d. maculipennis* (Lent y Wygodzinsky, 1979) coinciden, y abren la posibilidad de que se trate del mismo taxón. Para confirmar su conespecificidad será necesario revisar los holotipos de ambos.

Genoma mitocondrial

Las mitocondrias tienen un genoma adicional al genoma nuclear, que codifica para productos que están involucrados en los procesos internos de este organelo (Burger et al., 2003). El uso del genoma mitocondrial como marcador para la reconstrucción filogenética ofrece varias ventajas. Por ejemplo, su tasa de sustitución nucleotídica es alta en comparación con el genoma nuclear y esto facilita la resolución de nodos superficiales, en animales, es generalmente de herencia uniparental y no presenta recombinación y sus genes sin intrones facilitan su anotación y alineamiento (Stevens y Schofield, 2003; DeSalle et al., 2017). El alto número de copias del genoma mitocondrial facilita su aislamiento de datos de secuenciación masiva y las distintas regiones del genoma pueden proporcionar tasas evolutivas distintas que permiten el estudio de las relaciones filogenéticas a diferentes niveles taxonómicos (Stevens y Schofield, 2003; DeSalle et al., 2017). La principal desventaja del genoma mitocondrial es que es un solo locus, lo que lo vuelve sensible a topologías discordantes por introgresión o falta de coalescencia entre linajes cercanos (retención del polimorfismo ancestral) (Degnan y Rosenberg, 2009). A pesar de esto, el genoma mitocondrial sigue en gran uso porque ha ayudado a resolver filogenias en numerosos casos (ej. Wang et al., 2015).

El genoma mitocondrial está formado por 13 genes codificantes de proteínas, 22 tRNAs, dos rRNAs y la región control (Cameron, 2014). El acomodo de genes en el mitogenoma es neutral (los cambios no son ventajosos ni deletéreos) y las convergencias son poco probables, por lo que son una buena herramienta para documentar divergencias (Boore et al., 1995; Downton et al., 2002; Cameron, 2014; Wang, 2015; Li et al., 2017). La mayoría de los cambios genéticos que ocurren en un genoma mitocondrial son sustituciones e inserciones/deleciones (Avice et al., 1987). Por lo general, el orden de genes mitocondriales

Las regiones que codifican para proteínas fueron ligeramente menos ricas en A+T en comparación con el resto del genoma, aunque en general hay un sesgo composicional de A+T (68.71% - 71.1%) (Dotson y Beard, 2001; Pita et al., 2017, Dong et al., 2018; Zhao et al., 2019). Se reportaron además inserciones nucleares y parálogos mitocondriales en el núcleo de *T. dimidiata* en el estudio de Dotson y Beard (2001).

Justificación

Las especies del clado Norte-Centroamericano, como *T. dimidiata* y *T. longipennis*, son vectores importantes de *T. cruzi* porque tienen la capacidad de colonizar ambientes humanos (Ramírez et al., 2005; Bernière et al., 2007). Las poblaciones a las que están dirigidos los controles vectoriales son, en la mayoría de los casos, poblaciones domésticas pero las poblaciones selváticas tienen también la capacidad de colonizar ambientes peridomésticos, domésticos e incluso urbanos y su presencia en estos lugares aumenta con el cambio de uso de suelo (Schofield, 2000b). Las estrategias de control para los vectores deben de considerar las diferencias biológicas y genéticas, sobre todo de las poblaciones de complejos de especies en los que no están bien caracterizados los linajes, pero se sabe que hay variación (Dorn et al., 2007). Por ejemplo, dentro del complejo *dimidiata* hay diferencias significativas en el comportamiento a través de su distribución geográfica (Schofield, 2000b). Para las intervenciones de control de vectores es muy importante conocer la distribución geográfica de las especies con mayor importancia epidemiológica, sus ecotopos y sus hábitos alimenticios (Schofield, 2000b). Asimismo, es de gran importancia que se promueva la conservación de bosques ya que estos, como hábitats naturales, al verse disminuidos obligan a estos insectos a buscar y colonizar nuevos ambientes para alimentarse.

El auge del estudio de Triatominae (Galvão, 2003) sucedió cuando se descubrió que son transmisores de *T. cruzi*. Los Triatominae de Centroamérica han sido menos estudiados que aquellos que habitan en Sudamérica, por lo que las relaciones evolutivas dentro del clado Norte-Centroamericano no han quedado bien establecidas (Schofield, 2000a; Justi y Galvão, 2017). Resolver las relaciones filogenéticas dentro del clado aporta evidencia para reconsiderar la clasificación actual Triatominae. La clasificación actual de Triatomini, que

incluye al clado de estudio, se ha enfocado en caracteres morfológicos asociados al tipo de alimentación, pero estos no necesariamente reflejan la filogenia (Justi y Galvão, 2017).

Al ser un grupo de importancia médica, una buena clasificación no solo ayudaría a los estudios ecológico y evolutivo, sino que también facilitaría las estrategias de control con insecticidas y de conservación de sus hábitats naturales al permitir hacer predicciones y relaciones entre los distintos grupos. A pesar de que existen estudios que utilizan regiones de algunos genes (*cox1*, *cox2*, *cob*, *12S*, *16S*, *18S*, *28S* o *Wg*) para intentar resolver las relaciones filogenéticas (ej. Justi et al., 2014; Ibarra-Cerdeña et al., 2014), no han sido concluyentes porque han presentado politomías y topologías distintas, con algunos nodos mal apoyados. Sin embargo, aportan información valiosa sobre las relaciones del grupo. Por ejemplo, gracias a estudios de análisis de poblaciones a través de herramientas moleculares (ej. Stevens et al., 2015 con siete loci de microsatélites) se ha logrado hacer estimaciones de riesgo más acertadas a través de los marcadores genéticos, mejorando así las estrategias para control vectorial (Rinker et al., 2016). Un análisis con todos los genes codificantes en el genoma mitocondrial puede ser más informativo que con el uso de un solo marcador, porque tiene una gran cantidad de sitios informativos con distintas tasas de mutación (DeSalle et al., 2017). Este estudio aportará evidencias para promover una mejor clasificación del grupo.

Objetivos

General

Investigar la evolución del clado Norte-Centroamericano (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) a través del genoma mitocondrial.

Particulares

- Caracterizar el genoma mitocondrial de las especies que componen al clado Norte-Centroamericano definido por Ibarra-Cerdeña et al. (2014) y Justi et al. (2014) de la tribu Triatomini.
- Reconstruir las relaciones filogenéticas entre los miembros del clado Norte-Centroamericano.
- Inferir la historia biogeográfica del grupo mediante la estimación de sus tiempos de origen y divergencia.

Métodos

Muestreo

Se utilizaron los mitogenomas de un total de 2 representantes de Rhodniini del género *Rhodnius* y 27 representantes de Triatomini, que representan un total de 5 géneros: *Dipetalogaster* (1 sp.), *Eratyrus* (1 sp.), *Panstrongylus* (1 sp.), *Linshcosteus* (1 sp.) y *Triatoma* (22 spp.). Como grupo externo se incluyeron los dos individuos del género *Rhodnius*, *T. vitticeps*, *T. infestans*, *E. mucronatus* y *P. lignarius* (Cuadro 1). El muestreo incluyó un total de 19 especies, correspondiente a un 65% de las especies reconocidas como parte del clado Norte-Centroamericano (29 spp). Los ejemplares están disponibles en la Colección Nacional de Insectos del Instituto de Biología IB-UNAM (CNIN en CDMX y Los Tuxtlas) y en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (Cinvestav), Unidad Mérida. Previo a este estudio, estos ejemplares ya estaban colectados, identificados y depositados en las colecciones. De los 29 genomas mitocondriales utilizados, 25 se ensamblaron y anotaron *de novo*. Los genomas mitocondriales de *T. dimidiata* de Guatemala (GenBank AF301594; Dotson y Beard, 2001), *T. migrans*, *T. rubrofasciata* (GenBank MK770624, MH934953; Zhao et al., 2019) y *T. infestans* (GenBank KY640305; Pita et al., 2017) se descargaron del National Center for Biotechnology Information (NCBI). Los genomas de *R. pictipes* y *P. lignarius* fueron ensamblados a partir de los datos crudos de secuenciación masiva publicados en la base de datos de Sequence Read Archive (SRA) dentro de NCBI, con códigos de acceso SRX3722665 y SRX3027875, respectivamente.

Cuadro 1. Ejemplares utilizados para la obtención de genomas mitocondriales.

Especies	Localidad	Año	ID
<i>D. maxima</i>	Los Cabos, Baja California Sur, México	2016	2
<i>E. mucronatus</i>	Iquitos, Jenaro Herrera, Perú	1990	TRIA008
<i>L. costalis</i>	India	1974	U39
<i>P. lignarius</i> ‡	Universidade Federal do Triangulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brasil	2017	SRX3027875
<i>R. pictipes</i> ‡	Belem, Brasil		SRX3722661
<i>R. prolixus</i>	-	2009	R10
<i>T. barberi</i>	Venustiano Carranza, La Palma, Michoacán, México	2012	P0003
<i>T. dimidiata</i>	Provincia de Heredia, Heredia, Costa Rica	2017	CH56
<i>T. dimidiata</i>	Tapachula, Manacal, Belisario Domínguez, Chiapas, México	2017	TRIA055
<i>T. dimidiata</i>	Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz, México	2015	TRIA039
<i>T. dimidiata</i> †	Santa Rosa de Lima, Guatemala, Guatemala	2001	AF301594
<i>T. huehuetenanguensis</i>	Kaxil Kiuic, Yucatán, México	2017	CL M 285
<i>T. infestans</i>	Rancho nuevo, Santa Cruz, Bolivia	1997	A026
<i>T. infestans</i> †	Tecuarembó, Uruguay	2017	
<i>T. lecticularia</i>	National Park Lost Maples, Bandera, Texas, EUA	2009	T15
<i>T. longipennis</i>	Cuxpala, Zacatecas, México	2017	TRIA043
<i>T. mazzotti</i>	Jiquilpan, Michoacán, México	2014	J0003
<i>T. mexicana</i>	La Tinaja, Tierra Blanca, Veracruz, México	2017	TRIA050
<i>T. migrans</i> †	Girl Camp, Sabah, Borneo, Malasia	2016	
<i>T. nitida</i>	Santa Cruz Papalutla, Oaxaca, México	2006	3945
<i>T. pallidipennis</i>	Autlán de Navarro, Jalisco, México		CH58
<i>T. phyllosoma</i>	Ixtepec, Tehuantepec, Salina Cruz, Oaxaca, México		TRIA054
<i>T. picturata</i>	Carrillo Puerto, Nayarit, México	2017	TRIA042
<i>T. protracta</i>	Glendora Mountain Road, Los Angeles, California, EUA	2008	A3
<i>T. recurva</i>	Nacozari de García, Sierra Jiriquipa, Sonora, México	2017	TRIA028
<i>T. rubida</i>	Vail Mt. Creek Ranch, Pima, Arizona, EUA	2008	T9
<i>T. rubrofasciata</i> †	Baoting, Hainan, China	2018	
<i>T. sanguisuga</i>	Archbold Biological Station, Jay Cottage, Florida, EUA	2011	T12
<i>T. vitticeps</i>	Ayala, Caracas, Venezuela	2002	TRIA037

†Mitogenomas tomados de publicaciones ya existentes,

‡Mitogenomas ensamblados a partir de datos de SRA.

Trabajo de laboratorio

Se tomó una pata de cada ejemplar, se preservaron en etanol al 95% y se mantuvieron en refrigeración hasta su procesamiento, a excepción de las patas de ejemplares previamente montados en las colecciones, los cuales se mantuvieron en seco. El DNA se extrajo con el

método de fenol cloroformo o de los kits DNeasy de Qiagen. El DNA se fragmentó por sonicación con el Bioruptor Pico o con el UCD-300 (Diogenode, Liege, Bélgica) a través de tres a nueve ciclos de 30 segundos de expulsiones ultrasónicas y 30 segundos de pausas alternados, en un baño María a 4°C. Se utilizó el kit Kapa Hyper Prep (Kapa Biosystems Inc., Wilmington, MA) para preparar las librerías. Se ligaron adaptadores universales iTru a los fragmentos de DNA y se amplificaron a través de PCR con primers iTru de doble índice (Glenn et al. 2019). Se purificaron los fragmentos con beads magnéticos Sera-Mag (ThermoScientific, Waltham, MA) y se cuantificó el DNA con Qubit 2.0. Las librerías se mandaron para su secuenciación a Oklahoma Medical Research Foundation en Illumina HiSeq 300 con lecturas pareadas de una longitud de 150 pb.

Reconstrucción y caracterización del genoma mitocondrial

Las lecturas obtenidas a través de Illumina se podaron y filtraron con los parámetros por omisión en Geneious v.10.0.7 (Kearse et al., 2012). Para el ensamblaje se utilizaron dos estrategias. La primera fue utilizar como referencia el genoma mitocondrial de *Triatoma dimidiata* (GenBank AF301594; Dotson y Beard, 2001) para el clado Norte-Centroamericano y el genoma mitocondrial de *Triatoma infestans* (GenBank NC_035547; Pita et al., 2017) para el grupo externo. Los ensamblajes con estos genomas de referencia se realizaron con Geneious v10.0.7 (Kearse et al., 2012).

Cuando no se generaba un *contig* creciente a través de la estrategia anterior, se utilizó una segunda estrategia que consistió en utilizar una secuencia semilla, generalmente de *coxI* perteneciente a la misma especie o a una especie cercana, obtenida de GenBank. Cuando la secuencia de *coxI* no estaba disponible en GenBank, se tomaba cualquier secuencia

disponible correspondiente a un gen mitocondrial (por ejemplo, *cob*, *cox2* o *16S*). Las secuencias más largas y de mejor calidad obtenidas con estas dos estrategias se utilizaron como referencia para ensamblar *contigs* más largos. Las secuencias consenso generadas con los datos de Illumina se construyeron a partir de los residuos más frecuentes, representados en al menos el 75% de las columnas de alineamiento. Cuando se obtuvieron fragmentos de más de 16,000 pares de bases, la secuencia consenso se anotó con MITOS Annotation (Bernt et al., 2013). Las anotaciones fueron verificadas con las anotaciones de los mitogenomas de *T. dimidiata* (Dotson y Beard, 2001) y *T. infestans* (Pita et al., 2017). Los genes codificantes de proteína se extrajeron a partir de las anotaciones.

Los genes se alinearon con la versión 7 del programa MAFFT (Kato, 2013). A través de Mesquite v. 3.51 (Maddison y Maddison, 2018) se verificó que no hubiera codones internos de paro y se definieron las particiones iniciales para delimitar los genes. Se realizaron dos matrices concatenadas para los 13 genes codificantes de proteínas, una matriz con nucleótidos y una matriz con la traducción en aminoácidos, sin incluir los codones de paro en esta última.

Reconstrucción filogenética

Los mejores esquemas de particiones y modelos evolutivos para las matrices concatenadas se seleccionaron utilizando PartitionFinder versión 2 (Guindon et al., 2010; Lanfear et al., 2016), con base en el Criterio de Información Bayesiano (BIC) y con el algoritmo greedy (Lanfear et al., 2012). Se definieron las particiones iniciales para la matriz de nucleótidos por posición de codón y por gen (Cuadro 2) y para la matriz de aminoácidos por gen (Cuadro 3).

Se realizaron análisis bayesianos con el programa MrBayes v. 3.2.6 (Ronquist et al., 2012). Para la matriz de nucleótidos se realizaron corridas de 50 millones de generaciones y muestreo cada 5000 generaciones con un burn-in de 25% (12.5 millones de generaciones), mientras que para la matriz con aminoácidos se realizaron corridas de 20 millones de generaciones y muestreo cada 2000 con un burn-in de 25% (5 millones de generaciones). Para comprobar la convergencia entre las cadenas se revisó que la diferencia de las desviaciones estándar (standard deviation of split frequencies) fuera menor a 0.01 y que el diagnóstico de Gelman-Rubin (1992) se aproximara a 1. Los árboles restantes después del *burn-in* se utilizaron para construir un árbol consenso de mayoría con probabilidades posteriores de cada nodo.

Por otro lado, se realizó un análisis filogenético de Máxima Verosimilitud con RAxML v.8 (Stamatakis, 2014), con 1000 réplicas de Bootstrap rápido y el modelo GTRCAT para la matriz de nucleótidos y GAMMA para la matriz de aminoácidos. Los valores de soporte se consideraron significativos si eran $BS \geq 70$ o $PP \geq 0.95$ (Hillis y Bull, 1993; Huelsenbeck y Rannala, 2004). El genoma mitocondrial de *Linshcosteus* no se recuperó completo, por ello, para evaluar el efecto de los datos faltantes se realizaron los mismos análisis únicamente con los genes recuperados de *L. costalis*. Las topologías no cambiaron y los valores de soporte no difieren mucho de aquellos presentados aquí.

Durante la realización de este estudio se describió la especie *T. huehuetenanguensis*, que antes era considerada parte del complejo *T. dimidiata* con base en estudios con marcadores mitocondriales y nucleares (Lima-Cordón et al., 2019). Para confirmar a qué linaje del complejo pertenecen los individuos identificados como *T. dimidiata* incluidos en este estudio, se realizó un análisis de Máxima Verosimilitud con RAxML v.8 (Stamatakis, 2014), con 1000 réplicas de *bootstrap* rápido y el modelo GTRCAT. La matriz utilizada

incluía fragmentos del gen *cob* de individuos utilizados en el estudio de Lima-Cordón et al. (2019) y ese mismo fragmento para las secuencias generadas en este estudio. La matriz se particionó por codón. Al final, se consideró como evidencia de pertenencia a un linaje el que los individuos secuenciados para este estudio estuvieran anidados en él (Figura 3).

Las distancias p y el número de diferencias entre las secuencias del gen *cox1* de la matriz de nucleótidos se calcularon con MEGA v.7 (Kumar et al., 2016) para el complejo *dimidiata* + *T. huehuetenanguensis* y el complejo *phyllosoma*. Estas distancias se calcularon únicamente con los especímenes utilizados en este estudio, esto incluye 4 representantes del complejo *dimidiata*, un representante de la especie *T. huehuetenanguensis* y los miembros del complejo *phyllosoma* que se utilizaron en este estudio: *T. phyllosoma*, *T. mazzottii*, *T. longipennis*, *T. pallidipennis*, *T. picturata*, y *T. recurva*.

Cuadro 2. Estrategias de partición y modelos evolutivos obtenidos a través de PartitionFinder para la matriz concatenada de los 13 genes codificantes de proteínas con nucleótidos.

Partición	Sitios	Modelo evolutivo
1	cox1, cox3, cob, cox2	GTR+I+G
2	cox1, cox2, cob, nad1, cox3	TVM+I+G
3	atp8, cob, atp6, nad3, cox3, cox1, cox2	TIM+I+G
4	atp8, atp8, nad3, nad2, nad6, atp6	GTR+I+G
5	nad3, nad6, nad2, atp6	GTR+I+G
6	nad5, nad4l, nad4	HKY+I+G
7	nad1, nad4l, nad5, nad4	TIM+I+G
8	nad5, nad1, nad4l, nad4	GTR+I+G
9	nad6	TRN+G
10	nad2	HKY+G

Estimación de tiempos de divergencia

Las edades de los nodos se estimaron a través de un reloj relajado, no correlacionado, con BEAST v.1.8.3 (Drummond et al., 2012). Para calibrar el reloj se utilizó el fósil de *Panstrongylus hispaniolae* que se encontró en ámbar dominicano y cuya edad se estima entre los 15 - 20 millones de años (Iturralde-Vinent y MacPhee, 1996; Iturralde-Vinent, 2001). El clado que se calibró con el fósil es aquel que incluye a los siguientes taxones: *P. lignarius*, *T. dimidiata* (todas las localidades), *T. huehuetenanguensis*, *T. recurva*, *T. mazzotti*, *T. phyllosoma*, *T. longipennis*, *T. picturata*, *T. pallidipennis*, *T. sanguisuga*, *D. maxima*, *T. lecticularia*, *T. protracta*, *T. barberi*, *T. rubida*, *T. nitida*, *T. rubrofasciata*, *T. migrans* y *L. costalis*. Se eligió este clado por ser el nodo que representa la divergencia de *P. lignarius* del resto de las especies.

Las particiones que se usaron para este análisis fueron las obtenidas a través de PartitionFinder para la matriz de nucleótidos. Se desligaron los relojes moleculares, se utilizó un reloj molecular relajado y se ligaron los árboles. El análisis bayesiano se corrió por 50 millones de generaciones, con muestreo cada 5,000 y un *burn-in* de 25%. El archivo con los árboles resultantes del análisis se resumió con TreeAnnotator v.2.5.2 (Bouckaert et al., 2019). Para evaluar los resultados se utilizó Tracer v.1.7.1 (Rambaut et al., 2018). Utilizamos el modelo de birth-date en árbol, con una tasa de crecimiento promedio de 0.6 y una tasa de muerte relativa de 0.5 (Gernhard, 2008). El modelo de distribución para calcular los tiempos de divergencia fue log-normal. Se utilizó un offset de 15 millones de años, una media de 2 y una desviación estándar de 1, con el fin de que el 95% de la probabilidad estuviera contenida en un intervalo de la edad del fósil.

Cuadro 3. Estrategias de partición y modelos evolutivos obtenidos a través de Partition Finder para la matriz concatenada de los 13 genes codificantes de proteínas traducidos a aminoácidos.

Partición	Sitios	Modelo evolutivo
1	cox1, cox3	MTMAM+I+G
2	cox2, cob	MTMAM+I+G
3	atp8	MTREV+G
4	atp6, nad3, nad2, nad6	MTMAM+I+G+F
5	nad1, nad4l, nad4, nad5	MTMAM+I+G+F

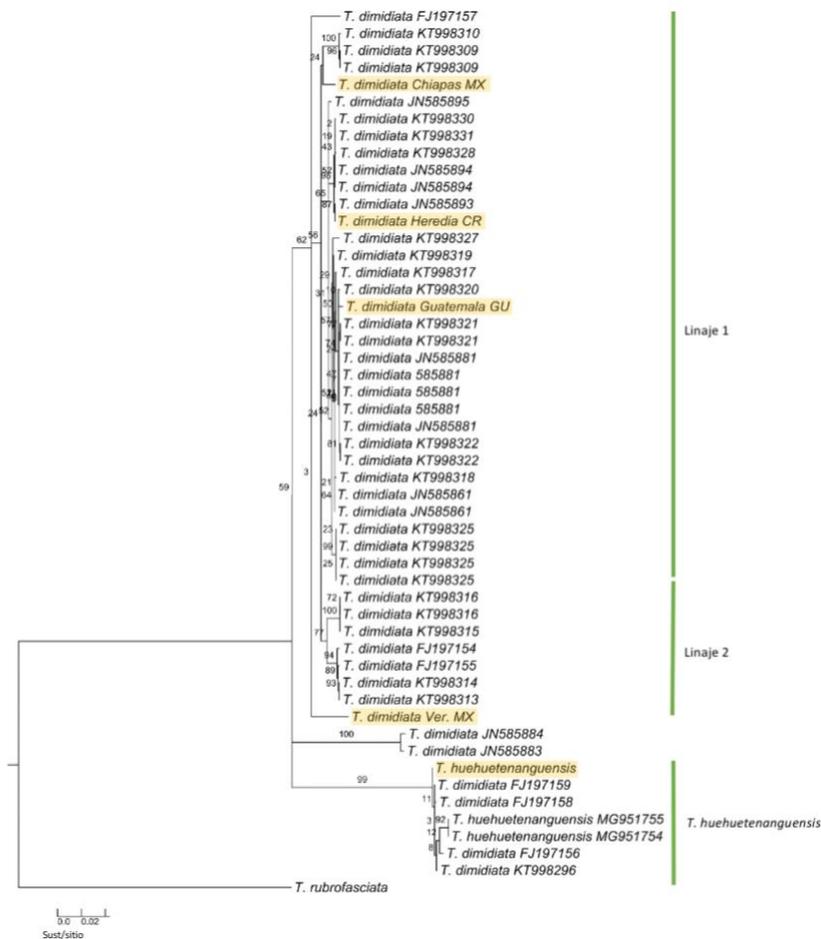


Figura 3. Árbol de máxima verosimilitud del complejo *dimidiata* + *T. huehuetenanguensis* obtenido a partir de un fragmento de *cob*. Las claves de acceso de GenBank se muestran a lado del nombre para aquellos individuos tomados de otros estudios. Subrayados se muestran los individuos utilizados en este estudio.

Resultados

El presente estudio aporta 25 genomas mitocondriales anotados, 24 de los cuales son nuevos para un grupo de insectos de importancia médica y documenta la variación del genoma mitocondrial en el clado Norte-Centroamericano de Triatomini, compuesto por: *T. mazzottii*, *T. phyllosoma*, *T. longipennis*, *T. recurva*, *T. picturata*, *T. pallidipennis*, *T. dimidiata*, *T. huehuetenanguensis*, *T. mexicana*, *T. sanguisuga*, *D. maxima*, *T. lecticularia*, *T. protracta*, *T. barberi*, *L. costalis*, *T. rubrofasciata* y *T. migrans*. Además, se recuperó una filogenia con valores de soporte altos en la mayoría de sus nodos y topologías muy consistentes en todos los análisis. Tanto la tribu Triatomini como el clado Norte-Centroamericano se recuperaron como monofiléticos, mientras que *Triatoma* se recuperó como un género parafilético con respecto a *E. mucronatus*, *P. lignarius*, *L. costalis* y *D. maxima*.

Descripción de los nuevos genomas mitocondriales nuevos

Se obtuvieron 25 genomas mitocondriales nuevos y se utilizaron 29 en total para los análisis. De estos 25 mitogenomas nuevos, 13 se recuperaron completos, lo que permitió la circularización. Las secuencias que no se obtuvieron completas se debe a dificultades en la región control, que es altamente repetitiva. Los genes codificantes de *Linshcosteus costalis* no se recuperaron por completo, pues faltaron los genes codificantes *cox1*, *cox2*, *atp8*, *nad3* y *nad2*. Para el resto de los mitogenomas, se encontraron los 13 genes codificantes de proteínas, 22 tRNAs y dos rRNAs. El tamaño de los mitogenomas obtenidos en este estudio va de 15,655 (*T. mexicana*) a 16,131 (*T. dimidiata*) pares de bases. El sesgo composicional que muestran todos los mitogenomas fluctúa alrededor del 70% de A + T (Cuadro 4).

Cuadro 4. Genomas mitocondriales cerrados y sesgo composicional.

	Estado	Tamaño (pb)	A+T (%)
<i>R. prolixus</i>	Cerrado	15790	69.6
<i>R. pictipes</i>	Cerrado	15909	71.4
<i>T. vitticeps</i>	RC incompleta	15361	69.1
<i>T. infestans</i>	Cerrado	15767	68.2
<i>T. infestans 2</i>	Cerrado	17301	73.1
<i>E. mucronatus</i>	Cerrado	15766	71.9
<i>P. lignarius</i>	Incompleto	9678	68.3
<i>T. nitida</i>	RC incompleta	15252	74.3
<i>T. rubida</i>	RC incompleta	16173	71.1
<i>L. costalis</i>	Incompleto	10396	65.6
<i>T. rubrofasciata</i>	Cerrado	17150	70.4
<i>T. migrans</i>	Cerrado	17323	72.8
<i>D. maxima</i>	RC incompleta	15528	69.4
<i>T. lecticularia</i>	Cerrado	16066	69.7
<i>T. protracta</i>	RC incompleta	15529	72.4
<i>T. barberi</i>	RC incompleta	16445	70.3
<i>T. sanguisuga</i>	RC incompleta	15431	69.4
<i>T. mexicana</i>	Cerrado	15655	68.4
<i>T. pallidipennis</i>	RC incompleta	15574	68.9

<i>T. picturata</i>	RC incompleta	15390	69.8
<i>T. recurva</i>	RC incompleta	16.135	69.8
<i>T. longipennis</i>	RC incompleta	15713	69.8
<i>T. phyllosoma</i>	RC incompleta	15730	69.9
<i>T. mazzottii</i>	Cerrado	15962	70
<i>T. huehuetenanguensis</i>	Cerrado	15910	70.8
<i>T. dimidiata</i> Veracruz	Cerrado	16131	69.8
<i>T. dimidiata</i> Chiapas	RC incompleta	15450	69.5
<i>T. dimidiata</i> Costa Rica	RC incompleta	15925	69.8
<i>T. dimidiata</i> Guatemala	Cerrado	17019	64.6
	Número de cerrados = 13	Promedio cerrados = 16288	Promedio = 69.9

Cerrado = genoma mitocondrial cerrado, RC incompleta = región control incompleta, Incompleto = no se recuperaron todos los genes.

En la Figura 4 se muestra un ejemplo del arreglo de los genes encontrado en todas las especies. No se encontraron rearrreglos o cambios en los anticodones de los tRNAs. El arreglo de genes coincide con los genomas mitocondriales ya descritos (Dotson y Beard, 2001; Pita et al., 2017; Don et al., 2018; Zhao et al., 2019).

La dirección de los genes dentro del mitogenoma, determinada por su presencia en la cadena ligera o pesada, fue la misma para todos los taxones (Cuadro 5). La mayoría de los

genes están codificados en la cadena pesada. Los codones de inicio encontrados para los genes fueron: ATG, ATA, ATT, ATC, GTA, GTG, TTA.

Análisis filogenéticos

En general, la topología y valores de soporte de los árboles basados en la matriz de nucleótidos (Figura 5) y en la matriz de aminoácidos (Figura 6), obtenidos a través del método de Máxima Verosimilitud y métodos bayesianos fueron concordantes. A continuación se describe el árbol generado con datos de nucleótidos y se señalan, cuando es necesario, las diferencias en la topología con las hipótesis obtenidas al usar aminoácidos.

Grupo externo

Los miembros de la tribu Rhodniini se agrupan en un clado bien apoyado (BS = 100, PP = 1). *Triatoma infestans* y *T. vitticeps* se reunieron en un clado (BS = 100, PP = 1), el cual es grupo hermano del resto (BS = 100, PP = 1). *Eratyrus mucronatus* (Nucleótidos: BS = 100, PP = 1; AA: BS = 96, PP = 1) y *Panstrongylus lignarius* (Nucleótidos: BS = 57, PP = 0.9965; AA: BS = 67, PP = 1) aparecen como hermanos de los demás taxones del clado Norte-Centroamericano.

Clado Norte-Centroamericano

Triatoma rubida y *T. nitida* son hermanas y juntas son el clado hermano del resto de las especies del clado Norte-Centroamericano (Nucleótidos: BS = 100, PP = 1; AA: BS = 99, PP = 1). Los taxones *L. costalis* + *T. rubrofasciata* + *T. migrans*, *D. maxima* + *T. lecticularia* y *T. protracta* + *T. barberi* forman un clado hermano de *T. sanguisuga*, *T.*

huehuetenanguensis + complejo *dimidiata* y complejo *phyllosoma* (Nucleótidos: BS = 94, PP = 1; AA: BS = 78, PP = 0.99). Dentro de este clado, aquel que está conformado por *L. costalis* y *T. migrans* + *T. rubrofasciata* (Nucleótidos: BS = 36, PP = 0.9503; AA: BS = 71, PP = 0.9908) corresponde a individuos con distribución fuera del norte y centro de América, denominado clado Eurasiático. El clado hermano del Eurasiático está compuesto por *T. barberi* + *T. protracta* (BS = 100, PP = 1) y *T. lecticularia* + *D. maxima* (BS = 100, PP = 1).

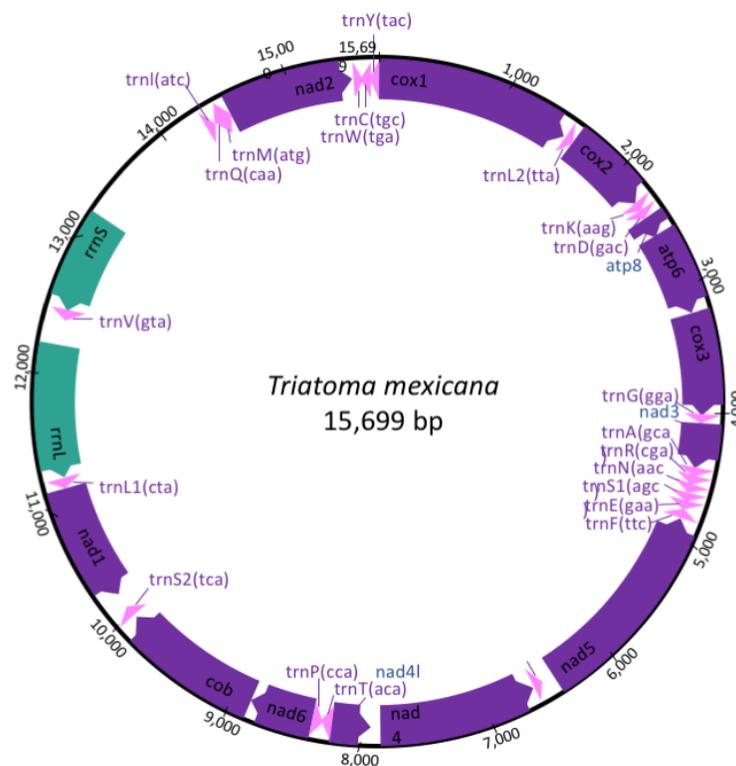


Figura 4. Arreglo del genoma mitocondrial *T. mexicana*. Las flechas indican dirección de los genes. En morado se muestran los genes codificantes de proteínas, en rosa los tRNAs con código de una letra y sus anticodones, y en verde los rRNAs.

Cuadro 5. Resumen del genoma mitocondrial de *T. huehuetenanguensis*.

Nombre	Tipo	Posición Inicio	Posición Término	Longitud	Cadena
Región control	Región control	584	625	42	Pesada
tRNA-Ile	tRNA	630	693	64	Pesada
tRNA-Gln	tRNA	691	759	69	Ligera
tRNA-Met	tRNA	759	826	68	Pesada
ND2	Gen	827	1825	999	Pesada
tRNA-Trp	tRNA	1831	1897	67	Pesada
tRNA-Cys	tRNA	1889	1952	64	Ligera
tRNA-Tyr	tRNA	1952	2016	65	Ligera
COI	Gen	2018	3551	1534	Pesada
tRNA-Leu	tRNA	3551	3620	70	Pesada
COII	Gen	3620	4298	679	Pesada
tRNA-Lys	tRNA	4299	4368	70	Pesada
tRNA-Asp	tRNA	4368	4431	64	Pesada

ATPase8	Gen	4432	4590	159	Pesada
ATPase6	Gen	4584	5267	684	Pesada
COIII	Gen	5254	6038	785	Pesada
tRNA-Gly	tRNA	6039	6101	63	Pesada
ND3	Gen	6099	6454	356	Pesada
tRNA-Ala	tRNA	6455	6517	63	Pesada
tRNA-Arg	tRNA	6522	6585	64	Pesada
tRNA-Asn	tRNA	6588	6651	64	Pesada
tRNA-Ser	tRNA	6651	6719	69	Pesada
tRNA-Glu	tRNA	6719	6782	64	Pesada
tRNA-Phe	tRNA	6782	6846	65	Ligera
ND5	Gen	6847	8558	1712	Ligera
ND4	Gen	8625	9956	1332	Ligera
ND4L	Gen	9950	10243	294	Ligera
tRNA-Thr	tRNA	10246	10308	63	Pesada
tRNA-Pro	tRNA	10309	10375	67	Ligera

ND6	Gen	10376	10879	504	Pesada
COB	Gen	10879	12010	1132	Pesada
tRNA-Ser	tRNA	12011	12079	69	Pesada
ND1	Gen	12200	13123	924	Ligera
tRNA-Leu	tRNA	13118	13182	65	Ligera
Subunidad grande rRNA	rRNA	13183	14450	1268	Ligera
tRNA-Val	tRNA	14439	14508	70	Ligera
Subunidad pequeña rRNA	rRNA	14509	15290	782	Ligera

Triatoma sanguisuga es el taxón hermano de *T. huehuetenanguensis* + complejo *dimidiata*, *T. mexicana* y del complejo *phyllosoma* (BS = 100, PP = 1). *Triatoma huehuetenanguensis* + complejo *dimidiata* son el grupo hermano del complejo *phyllosoma* (Nucleótidos: BS = 100, PP = 1, AA: BS = 100, PP = 0.77). *Triatoma huehuetenanguensis* es la especie hermana del complejo *dimidiata* (Nucleótidos: BS = 100, PP = 1; AA: BS = 40, PP = 0.9899), seguida por el representante de *T. dimidiata* de Veracruz (BS = 100, PP = 1). Después, el taxón más externo es el individuo de Chiapas y el individuo de Costa Rica junto con el de Guatemala forman un clado (BS = 100, PP = 1). El segundo clado, el que comprende al complejo *phyllosoma*, presenta a *T. pallidipennis* como el taxón hermano del resto (BS =

100, PP = 1), seguido por *T. picturata* (BS = 100, PP = 1). *Triatoma recurva* queda como especie hermana de los individuos restantes, luego *T. longipennis* y finalmente *T. phyllosoma* y *T. mazzottii* como especies hermanas (BS = 100, PP = 1).

Ahora bien, la única especie cuya posición no es consistente en los cuatro análisis es *T. mexicana*. En los análisis con nucleótidos aparece como especie hermana del complejo *phyllosoma* (BS = 35, PP = 0.91) y en los análisis con la traducción en aminoácidos se encuentra como hermana de *T. huehuetenanguensis* + complejo *dimidiata* (BS = 25, PP = 0.59), ambas topologías con bajos valores de soporte. Los miembros del complejo *dimidiata* pertenecen a los grupos 1, 2 y 3 designados previamente por distintos autores (ej. Bargues et al., 2008, Dorn et al., 2016). La asignación a priori del individuo de Guatemala incluido en este estudio fue problemática porque en Guatemala se han citado en simpatria todos los grupos del complejo *dimidiata* (ej. Bargues et al., 2008; Dorn et al., 2009; Justi et al., 2018). Sin embargo, por su agrupación con los individuos de Costa Rica en los análisis filogenéticos, es probable que este espécimen pertenezca al grupo 1.

Se calcularon las distancias genéticas para el complejo *dimidiata* + *T. huehuetenanguensis* + *T. mexicana* y para los miembros del complejo *phyllosoma* + *T. mexicana* a través del gen *cox1* (Apéndice D). En nuestra muestra, las distancias entre los representantes del complejo *dimidiata* fueron muy variables. Los individuos más distantes entre sí son *T. huehuetenanguensis* y el individuo de Chiapas (número de diferencias = 160, p = 10.5%). Dentro del complejo, la distancia entre *T. dimidiata* de Veracruz y los individuos de Chiapas, Guatemala y Costa Rica son 6.2%, 6.1% y 5.8%, respectivamente. Los individuos menos distantes entre sí fueron los representantes de Guatemala y Costa Rica (número de diferencias = 25, p = 1.6%). La distancia entre *T. mexicana* y el resto de los

individuos del complejo *dimidiata* y *T. huehuetenanguensis* indica que es la especie más lejana a todas (número de diferencias = 166 - 173, $p = 10.9-12\%$).

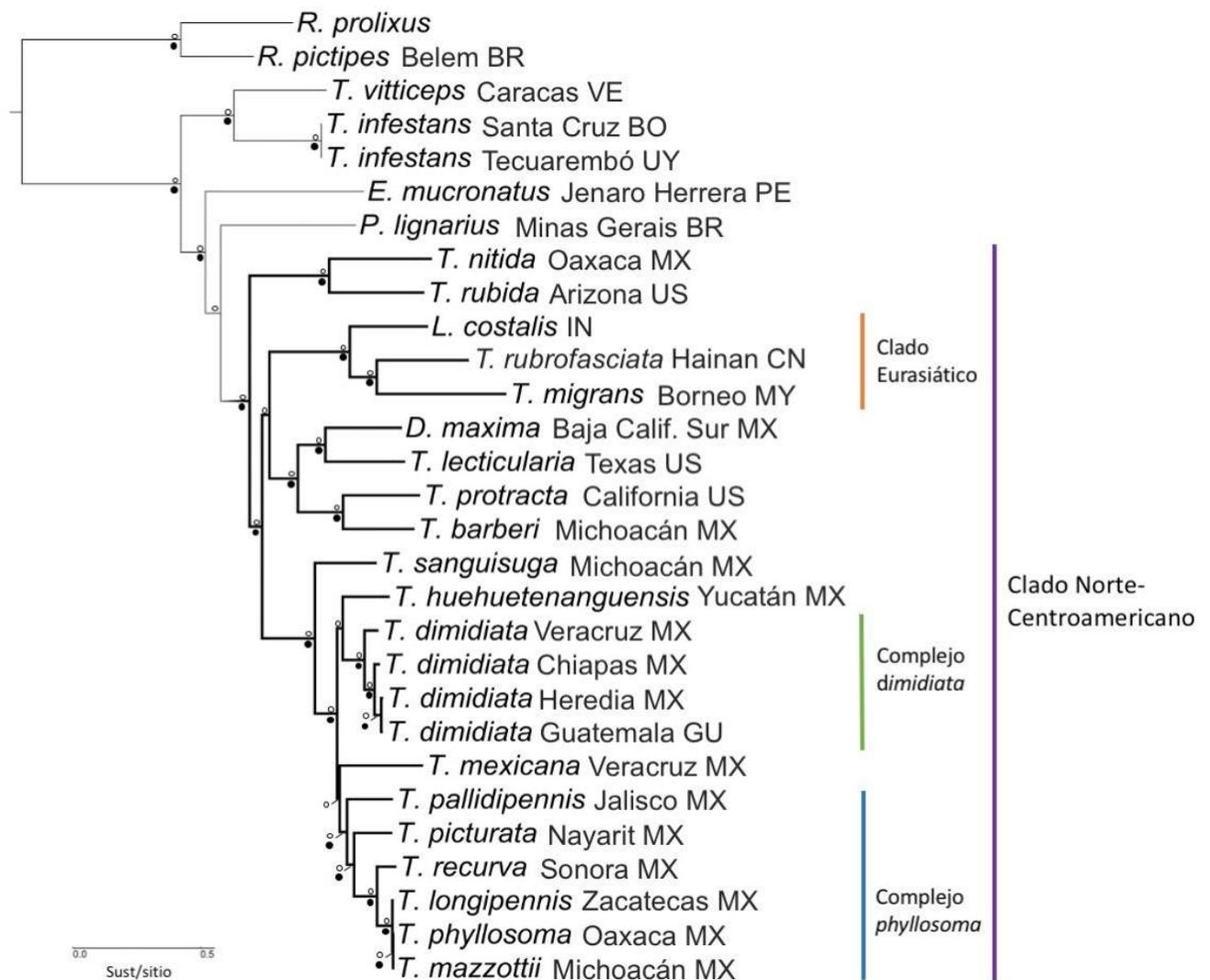


Figura 5. Árbol resultante del análisis de máxima verosimilitud con la matriz concatenada de nucleótidos de los 13 genes mitocondriales codificantes de proteína. En la parte inferior se muestran los nodos con $BS \geq 75$ con un círculo relleno, en la parte superior de las ramas se muestran los nodos con $PP \geq 0.95$ con un círculo delineado.

Para los individuos del complejo *phyllosoma* en general se obtuvieron valores altos de divergencia excepto entre *T. phyllosoma*, *T. mazzottii* y *T. longipennis*. Los individuos más cercanos entre sí son *T. phyllosoma*, *T. mazzottii* y *T. longipennis* (número diferencias = 4 – 8, $p = 0.3\% - 0.5\%$). Mientras que *T. mexicana* aparece como la especie más lejana a todas (número de diferencias=162 – 179, $p = 10.6\% - 11.8\%$).

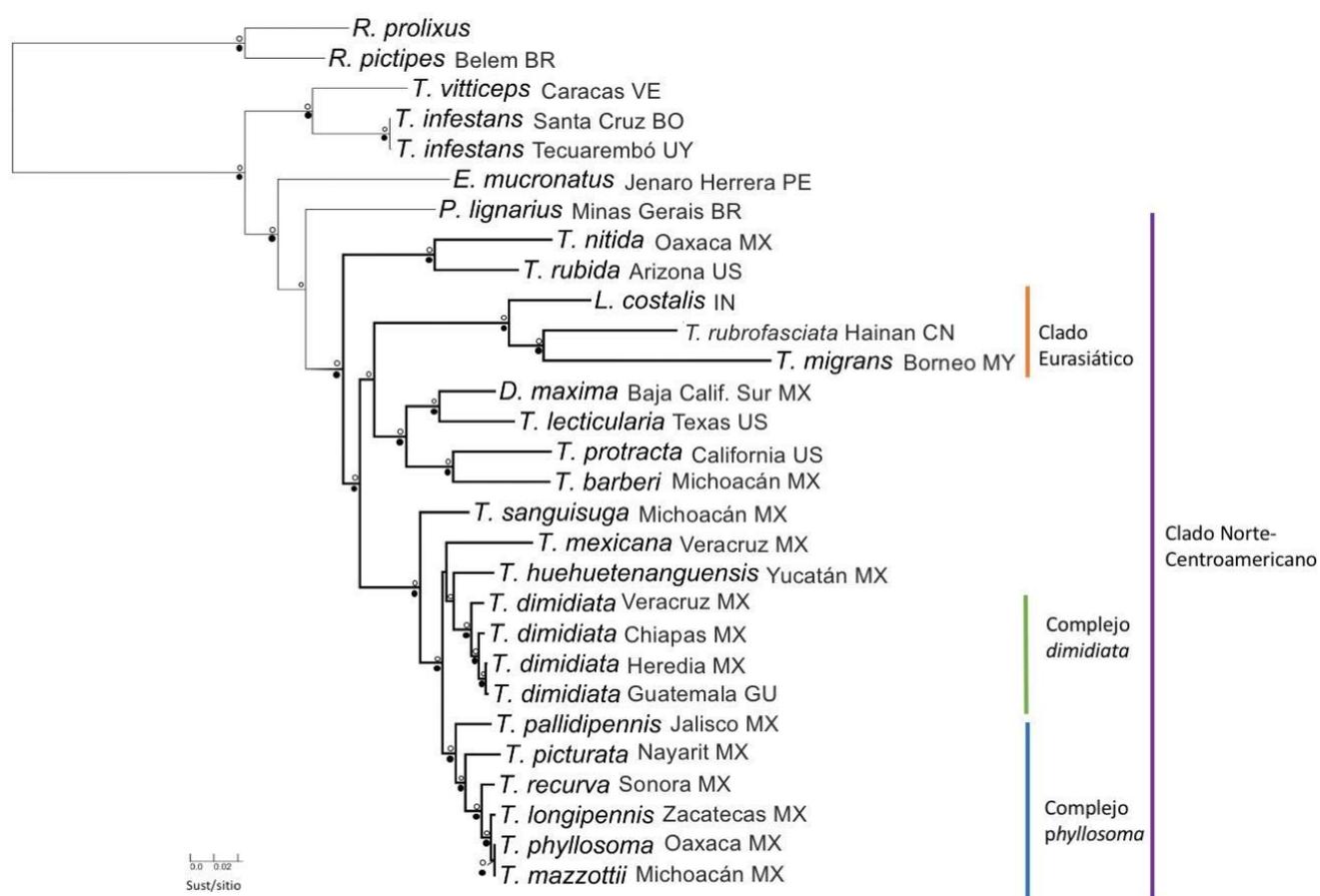


Figura 6. Árbol resultante del análisis de máxima verosimilitud con la matriz concatenada de aminoácidos de los 13 genes mitocondriales codificantes de proteína. En la parte inferior se muestran los nodos con $BS \geq 75$ con un círculo relleno, en la parte superior de las ramas se muestran los nodos con $PP \geq 0.95$ con un círculo delineado.

Reconstrucción de tiempos de divergencia

La topología obtenida con la estimación de los tiempos de divergencia fue muy similar a la obtenida en estudios anteriores (Figura 7) con excepción de la posición de *P. lignarius* con respecto a *E. mucronatus*, pues en este análisis se recuperaron como especies hermanas. A diferencia de los otros análisis, *T. mexicana* se recuperó como hermana del clado que contiene a los complejos *dimidiata* y *phyllosoma*. La separación de las tribus Triatomini y Rhodniini se estima que sucedió hace 17.25 – 23.94 millones de años (Ma). El clado *T. infestans* + *T. vitticeps* divergió del resto de los miembros del grupo hace unos 12.99 – 18.09 Ma. El clado Norte-Centroamericano divergió de *P. lignarius* + *E. mucronatus* hace 15.05 – 20.05 Ma. La divergencia del clado Eurasiático (*L. costalis* + *T. rubrofasciata* + *T. migrans*) de las especies de América sucedió hace 12.42 – 17.3 Ma. A su vez, *L. costalis* divergió de *T. rubrofasciata* + *T. migrans* hace 9 – 10.64 Ma.

La divergencia entre el complejo *dimidiata* + *T. huehuetenanguensis* y el complejo *phyllosoma*, se estima que ocurrió hace 6.73 – 9.49 Ma. *Triatoma huehuetenanguensis* divergió hace 5.46 – 7.83 Ma del complejo *dimidiata*. Con respecto a las especies del complejo *phyllosoma*, *T. pallidipennis* divergió del resto del resto hace 5.8 – 8.23 Ma. *Triatoma longipennis* se separó de *T. phyllosoma* y *T. mazzottii* hace 0.31 – 0.55 Ma, mientras que estas últimas dos divergieron hace solo 0.1 – 0.22 Ma.

Discusión

Genoma mitocondrial del clado Norte-Centroamericano de Triatomini

A pesar de que Triatominae es un grupo de alta importancia médica, con miles de personas afectadas cada año (WHO, 2017), existe muy poca información sobre los genomas mitocondriales de este grupo (Dotson y Beard, 2001; Pita et al., 2017; Dong et al., 2018; Zhao et al., 2019) en contraste con otros organismos de importancia médica (Ej. Los mosquitos, Hao et al., 2017). El tamaño de los genomas mitocondriales que se recuperaron con todos los genes y la región control va de 15,655 a 16,131 pares de bases. Este intervalo está en el límite inferior para el rango de mitogenomas citados para Triatominae (15,908 – 17, 323) (Zhao et al., 2019), pero se acerca al tamaño promedio para Hemiptera, de 15,733 pares de bases (Wang et al., 2015). Esta discrepancia se debe principalmente a la variabilidad en longitud de la región control y de manera secundaria a los genes no codificantes de proteína, tRNAs y rRNAs, que tienen longitudes variables (Li et al., 2012; Li y Liang, 2018). En los datos obtenidos, se observa que efectivamente la región control es de tamaño muy variable. Por otro lado, los genes codificantes, las regiones intergénicas y los genes no codificantes tuvieron muy poca variación en longitud (ausencia de inserciones y deleciones).

El arreglo de genes, tRNAs y rRNAs es consistente en todas las especies estudiadas y en las citadas (Dotson y Beard, 2001; Pita et al., 2017; Dong et al., 2018; Zhao et al., 2019). Este arreglo estructural encontrado corresponde también con el genoma hipotético ancestral de insectos y con la mayoría de los mitogenomas de hemípteros (Cameron, 2014; Kocher et al., 2014; Wang et al., 2015). Hay un sesgo de A+T a lo largo del genoma y la región control es particularmente rica en A+T, esto concuerda con lo citado para hemípteros (ej. Dotson y

Beard, 2001; Wang et al., 2105). La mayor heterogeneidad de secuencias estuvo en *nad3*, *nad4* y *atp8*.

Relaciones filogenéticas

El análisis de los genes codificantes mitocondriales para resolver las relaciones dentro del clado de estudio arrojó árboles bien apoyados en casi todos los nodos. En el presente estudio se obtuvieron filogenias bien resueltas y con valores de apoyo significativos en la mayoría de sus nodos a diferencia de filogenias citadas anteriormente (ej. Ibarra-Cerdeña et al., 2014; Justí et al., 2016). Los análisis con marcadores moleculares, como en el caso de Triatominae, pueden ser de gran ayuda para separar especies y para optimizar las estrategias de control (Monteiro et al., 2001).

La tercera posición suele ser muy variable, puede presentar saturación y tener un efecto negativo sobre la filogenia, por lo que es recomendable realizar los análisis con la traducción en aminoácidos (Yang et al., 2018). Sin embargo, en este estudio los análisis con base en aminoácidos recuperaron topologías muy similares a las obtenidas con la matriz de nucleótidos. Las únicas diferencias involucran solo nodos con valores de apoyo no significativos. El único cambio se observó en la posición de *T. mexicana*, que en los árboles con la matriz de nucleótidos aparece como hermana del complejo *phyllosoma* y en los árboles basados en la matriz de aminoácidos aparece como hermana del complejo *dimidiata* + *T. huehuetenanguensis*.

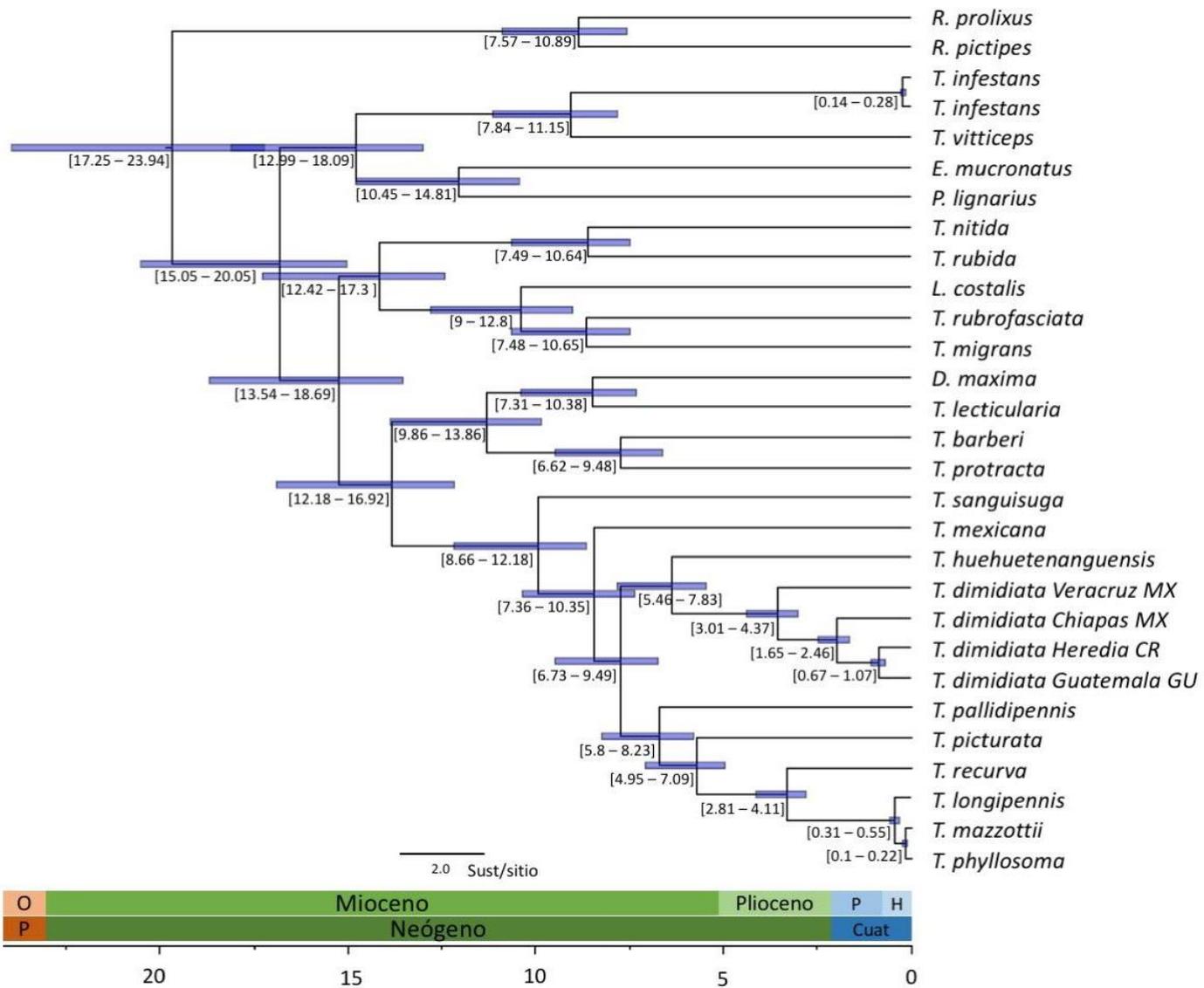


Figura 7. Tiempos de divergencia para clados de la tribu Triatomini. Obtenidos a partir del análisis bayesiano de la matriz concatenada de nucleótidos de 13 genes mitocondriales codificantes de proteína. Calibración realizada con el fósil de *Panstrongylus hispaniolae* (15 – 20 Ma).

El clado conformado por especies con distribución en Eurasia (*L. costalis*, *T. rubrofasciata*, *T. migrans*) se encuentra anidado dentro del clado Norte-Centroamericano. El género *Triatoma* se recuperó en todos los análisis como parafilético respecto a los géneros *Dipetalogaster*, *Linshcosteus*, *Eratyrus* y *Panstrongylus*, algo que se ha reportado en varios estudios (ej. Justi et al., 2014; Justi et al., 2016). Incluso desde la morfología, Lent y Wygodzinsky (1979) reconocían que la descripción del género *Triatoma* está basada en caracteres plesiomórficos y que es un grupo parafilético.

Panstrongylus se obtuvo, al igual que en otros estudios, como el género hermano del clado Norte-Centroamericano (Ibarra-Cerdeña et al., 2014; Justi et al., 2014; Justi et al., 2016), aunque en este estudio aparece también como taxón hermano de las otras especies de Sudamérica. Este género se ha recuperado como parafilético con respecto a algunas especies de *Triatoma* en estudios que tienen un muestreo más inclusivo de *Panstrongylus* (Ibarra-Cerdeña et al., 2014; Justi et al., 2014; Justi et al., 2016). Para resolver mejor la posición de *P. lignarius* es necesario incluir a otros representantes del género.

Triatoma rubida y *T. nitida* aparecen juntas en todos los análisis, con un soporte muy alto y concordantes con algunos análisis anteriores (Hypša et al., 2002; Ibarra-Cerdeña et al., 2014). Estas especies tienen una distribución amplia, *T. nitida* se distribuye en Costa Rica, Guatemala, Honduras y sur de México, mientras que *T. rubida* se distribuye en el sur de EUA y en el norte de México principalmente (Lent y Wygodzinsky, 1979). *Linshcosteus costalis* aparece como especie hermana de *T. migrans* + *T. rubrofasciata*, las tres se han encontrado principalmente en Asia. *Linshcosteus* habita en India, *T. migrans* se encuentra desde India hasta las islas Filipinas y *T. rubrofasciata* es pantropical (Dujardin et al., 2015). Posiblemente el ancestro de estas especies tuvo su origen en América y posteriormente se dispersó y

diversificó en Asia (Justi et al., 2016). La presencia de estas especies dentro del clado Norte-Centroamericano obliga a reconsiderar el nombre de este clado.

Se ha observado que la morfología de *Linshcosteus*, en general, es distinta del resto de los Triatomini (Schaefer y Coscarón, 2001). Incluso se consideró la posibilidad de colocar el género en la tribu Linshcosteusini con base en sus sinapomorfías morfológicas (Carcavallo et al., 2000). En este estudio no se encontraron evidencias para clasificar a este clado como un grupo distinto a Triatomini ya que aparece anidado dentro de la tribu y dentro del clado Norte-Centroamericano.

Las especies Euroasiáticas forman un clado junto con *T. barberi* + *T. protracta* y *T. lecticularia* + *D. maxima*, el cual ya se había citado antes (Justi et al., 2014; Ibarra-Cerdeña et al., 2014; Justi et al., 2016). Las especies de *T. protracta*, *T. lecticularia* y *D. maxima* tienen distribución en el norte de México y sur de EUA, mientras que *T. barberi* está distribuida en el centro de México (Lent y Wygodzinsky, 1979; Jurberg y Galvão, 2006). El complejo *protracta*, compuesto por *T. protracta*, *T. barberi*, *T. peninsularis*, *T. sinaloensis*, *T. neotomae* y *T. nitida* (Ibarra-Cerdeña et al., 2009), no se recuperó ya que *T. nitida* se reúne con *T. rubida*, mientras que *T. protracta* + *T. barberi* y *D. maxima* + *T. lecticularia* se reúnen con las especies Euroasiáticas. Un análisis que incluya a más miembros del complejo *protracta* es necesario para poder determinar si es un grupo monofilético o no.

El segundo grupo del clado Norte-Centroamericano contiene a *T. sanguisuga*, *T. mexicana*, al complejo *dimidiata* + *T. huehuetenanguensis* y al complejo *phyllosoma*. La posición de *T. sanguisuga*, que se distribuye en EUA y norte de México, como hermana del resto está bien apoyada (BS = 100, PP = 1 para ambas matrices) y concuerda con filogenias anteriores (Justi et al., 2016). En nuestros análisis con la matriz de nucleótidos *T. mexicana* aparece como la especie hermana del complejo *phyllosoma* (BS = 35, PP = 0.0.9069),

mientras que con la matriz de aminoácidos *T. mexicana* aparece como hermana del complejo *dimidiata* + *T. huehuetenanguensis* (BS = 25, PP = 0.5863).

De acuerdo con la morfología de *T. mexicana* observamos caracteres que nos permitirían agruparla con ambos clados. Por ejemplo, el tamaño de las manchas negras en el corium y el color de las manchas naranjas indicarían que es una especie cercana al complejo *phyllosoma* (Lent y Wygodzinsky, 1979). Esta relación también está reportada en el estudio de Ibarra-Cerdeña et al. (2014). Por otro lado, caracteres como el tamaño de los hemiélitros, el tamaño del primer segmento de las antenas y la ausencia de muchas setas y pelos en comparación con especies de *phyllosoma*, posicionan a esta especie más cercana a *T. dimidiata* (Lent y Wygodzinsky, 1979). Esta posición también es apoyada por el estudio de Justi et al. (2016) y por Ibarra-Cerdeña et al. (2014).

Las distancias genéticas entre *T. mexicana* y el complejo *dimidiata* + *T. huehuetenanguensis* van de 10.9 - 12%, mientras que las distancias entre *T. mexicana* y el complejo *phyllosoma* van de 10.6 - 11.8%. Ambas distancias son similares, por lo que no se puede concluir a través de este método si *T. mexicana* es más cercana al complejo *phyllosoma* o al complejo *dimidiata* + *T. huehuetenanguensis*. La posición de *T. mexicana* como especie hermana del complejo *phyllosoma*, del complejo *dimidiata* o de ambos complejos no se ha resuelto aún (Bargues et al., 2008; Espinoza et al., 2013; Ibarra-Cerdeña et al., 2014; Justi et al., 2016). Sin embargo, los ángulos humerales en el pronoto de *T. mexicana*, son un carácter diagnóstico y único de la especie, por lo que es posible que sea en realidad una especie hermana de ambos complejos. Para poder re-evaluar sus relaciones evolutivas y determinar a qué complejo es más cercana, se deben de hacer análisis con un muestreo más amplio y con otros caracteres, como comportamiento y biología.

Relaciones dentro del complejo *dimidiata* + *T. huehuetenanguensis*

Se encontró un clado correspondiente al complejo *dimidiata* con *T. huehuetenanguensis* como especie hermana, estos en conjunto son el grupo hermano del complejo *phyllosoma* relación que ya se ha citado antes en numerosas ocasiones (ej. Justi et al., 2014, Pech-May et al., 2019). Hypša et al. (2002) propusieron que *T. dimidiata* pertenecía al complejo *phyllosoma*, pero nuestros datos rechazan esta hipótesis pues podemos observar que estos dos clados están bien separados y con un alto valor de apoyo (PP = 1, BS = 100). Por morfología también podemos distinguir a las especies del complejo *phyllosoma* de *T. dimidiata* por caracteres como el color (amarillo pálido en *T. dimidiata* y naranja-rojo en el complejo *phyllosoma*), tamaño y cantidad de setas (mayor en *phyllosoma*) y tamaño de las alas (menor en el complejo *phyllosoma*), entre otros (Lent y Wygodzinsky, 1979).

Las distancias genéticas de *cox1* entre tres representantes del complejo *dimidiata* y *T. huehuetenanguensis* sobrepasan el 2.48%, distancia propuesta para Triatominae, lo que sugiere que al menos dos de los cuatro individuos podrían pertenecer a especies distintas según lo descrito para Triatominae (Mendonça et al., 2016; Alevi et al., 2018). Mientras que los representantes de Costa Rica y Guatemala pertenecen a la misma especie, de acuerdo con este criterio. Aunque las distancias genéticas y el tamaño de la muestra de este estudio no son criterio suficiente para poder discernir entre los linajes del complejo *dimidiata*, son información valiosa para dar pie a análisis más comprensivos para evaluar este complejo. Aunque se ha propuesto que el locus *cox1* no es útil para distinguir la variación intra e interespecífica en las especies de *Triatoma* de Sudamérica (Justi et al., 2014), este ha servido, tanto en otras especies de Triatominae como en Heteroptera para poder discernir especies (ej. Jung et al., 2010; Alevi et al., 2018).

Los individuos de Costa Rica y Guatemala junto con el individuo de Chiapas corresponden con el grupo 1 o *T. d. dimidiata* (Bargues et al., 2008), grupo I (Monteiro et al., 2013), haplogrupo 3 (Pech-May et al., 2019), *T. dimidiata* s.s. y el grupo 2 (Justi et al., 2018). La distribución de este linaje es la más amplia del complejo y abarca el sur de México (principalmente Chiapas), Centroamérica, Costa Rica, Panamá y Colombia (Dorn et al., 2009; Monteiro et al., 2013; Justi et al., 2018).

El individuo de Veracruz es parte de otro linaje conocido como grupo 2 (Bargues et al., 2008), grupo II (Monteiro et al., 2013), haplogrupo 2 (Pech-May et al., 2019) o *T. d. maculipennis* (Bargues et al., 2008). Este linaje está caracterizado por una distribución que va del sur y este de México al sur de Guatemala y Belice (Dorn et al., 2009; Monteiro et al., 2013). La especie hermana de los grupos 1 y 2 del complejo *dimidiata* es *T. mopan* (Dorn et al., 2018), que habita únicamente en las cuevas de Belice y fue descrita recientemente a partir de especímenes antes considerados como parte del complejo *dimidiata*.

Se ha observado con distintos datos que las poblaciones del grupo 2 junto con las poblaciones del grupo 1 conforman un grupo monofilético y juntos tienen la distribución más amplia del complejo, por lo que proponen que se les denomine *T. dimidiata* s.s. (Justi et al., 2018). Pech-May y colaboradores (2019) sugieren que, de acuerdo con la evidencia genética, ecológica y morfológica, los clados 1 y 2 representan especies distintas. Esta hipótesis está apoyada por las distancias genéticas citadas en este estudio (5.8 - 6.2%), mayores a lo propuesto para discernir especies en Triatominae (2.48%, Mendonça et al., 2016; Alevi et al., 2018). Se ha citado que las diferencias en forma de la cabeza son marcadas para las poblaciones del norte, centro y sur de América (Bustamante et al., 2004). También se sabe que presentan variación en la coloración y genitales, lo que sugiere que *T. dimidiata* s.l. contiene mucha variación, no solo genética y ecológica sino también morfológica (Lent y

Jurberg, 1985). Es importante incluir otros representantes de *T. dimidiata* de distintas localidades para poder tener varios individuos de todos los grupos y evaluar de manera acertada cuántos son los taxones presentes en *T. dimidiata* hasta ahora.

Triatoma huehuetenanguensis, antes considerada como parte del complejo *dimidiata* (Bargues et al., 2008; Monteiro et al., 2013; Dorn et al., 2016) fue recientemente descrita (Lima-Cordón et al., 2019). Justi et al. (2018) reportan que este linaje habita principalmente los árboles de palma en ambientes peridomésticos e intra-domésticos. Este clado está distribuido principalmente en la península de Yucatán (México), Petén (Guatemala) y Belice (Dorn et al., 2009; Monteiro et al., 2013; Justi et al., 2018).

Triatoma huehuetenanguensis ha sido citada en simpatría con el haplogrupo 2 e incluso hay evidencias de hibridación entre estos dos grupos (Bargues et al., 2008; Dorn et al., 2009; Herrera-Aguilar et al., 2009). En el complejo *dimidiata* hay evidencias de simpatría e hibridación entre grupos (Bargues et al., 2008; Herrera-Aguilar et al., 2009; Pech-May et al., 2019). Y existen registros de hibridación entre los distintos linajes en estudios en condiciones de laboratorio (García et al., 2013). Esto no necesariamente compromete el estatus de todos estos linajes como especies o fenotipos distintos, si pueden mantener su identidad a pesar de presentar hibridación (McIntosh et al., 2014; Martínez-Ibarra et al., 2015). El hecho de que estén en simpatría, pero que aún puedan mantener su identidad (por ejemplo, en Yucatán) podría interpretarse incluso como evidencia adicional de que son especies distintas (Coyne, 1994). Este estudio demuestra la amplia variación genética en el genoma mitocondrial en los linajes del complejo *dimidiata*. Su gran variación genética puede ser un factor que contribuye a su capacidad de resistencia a estrategias de control, ya que parte de esta variación puede generar fenotipos que permitan esta resistencia (Mougabure-Cueto y Picollo, 2015). Es por esta variación que se han sugerido distintas estrategias de

control vectorial para las distintas poblaciones del complejo y así evitar reinfestaciones (Gómez-Palacio et al., 2013).

El complejo *dimidiata* es un grupo que efectivamente presenta mucha variación y que muy probablemente esté compuesto por más de una especie. Particularmente los grupos 1 y 2 se pueden distinguir como especies distintas por las distancias genéticas citadas en este estudio. Por otro lado, hacen falta análisis con un muestreo más amplio con marcadores informativos y análisis morfológico para poder determinar si los linajes del complejo *dimidiata* son especies distintas o si es más bien una especie que presenta mucha variación. De igual manera, falta incrementar el muestreo para evaluar las distancias genéticas y poder hacer inferencias más sólidas. Hasta ahora, la morfología de *T. dimidiata* se ha reportado como muy variable (ej. Lent y Wygodzinsky, 1979), aunque ya se han identificado caracteres morfológicos y moleculares para poder describir nuevas especies a partir de poblaciones de *T. dimidiata* (Dorn et al., 2018; Lima-Cordón et al., 2019). Es posible que con más análisis interdisciplinarios se llegue a resolver pronto el estatus de las poblaciones de *T. dimidiata*.

Relaciones dentro del complejo phyllosoma

El complejo *phyllosoma* en este estudio está representado por *T. pallidipennis*, *T. picturata*, *T. recurva*, *T. longipennis*, *T. mazzottii* y *T. phyllosoma*. *Triatoma recurva* se anidó dentro del complejo (BS = 100, PP = 1). La presencia de *T. recurva* dentro del complejo ya se ha citado anteriormente (Pfeiler et al., 2006). Se ha observado que los miembros del complejo *phyllosoma* tienen distribuciones que se sobrelapan. Por ejemplo, *T. mazzottii*, *T. picturata* y *T. phyllosoma* están presentes en el estado de Oaxaca (Lent y Wygodzinsky, 1979).

En este estudio las distancias genéticas entre *T. mazzottii*, *T. phyllosoma* y *T. longipennis* caen dentro del intervalo de distancias esperadas entre individuos conespecíficos (menor al 2.48%, Mendonça et al., 2016; Alevi et al., 2018). No es la primera vez que se reportan distancias genéticas correspondientes a subespecies en vez de a especies para los miembros del complejo *phyllosoma* (Pfeiler et al., 2006; Mas-Coma y Bargues, 2009). Al igual que en este estudio, *T. mazzotti* y *T. phyllosoma* han sido consistentemente recuperadas como especies hermanas e incluso en morfología son muy parecidas (Lent y Wygodzinsky, 1979; Martínez et al., 2006; Espinoza et al., 2013). En general, se ha citado una alta similitud genética interespecífica (Bargues et al., 2008; Espinoza et al., 2013).

Varios estudios filogenéticos realizados con marcadores mitocondriales y nucleares recuperan el clado formado por *T. mazzottii*, *T. phyllosoma* y *T. longipennis*, pero las ramas no son tan cortas como en este estudio (ej. Justi et al., 2014). Sugerimos que las ramas cortas generadas por los marcadores mitocondriales pueden deberse a conespecificidad o a introgresión del DNA mitocondrial entre estas especies. La posibilidad de introgresión mitocondrial entre las especies simpátricas de *T. longipennis*, *T. pallidipennis* y *T. picturata* se ha sugerido antes con base en un marcador mitocondrial y fenotipos antenales (Martínez-Hernández et al., 2010). La introgresión es común en especies que hibridan al tener áreas de distribución simpátrica (Mastrantonio et al., 2016).

Se ha propuesto que *T. pallidipennis*, *T. phyllosoma*, *T. picturata*, *T. mazzottii*, *T. longipennis* y *T. bassolsae* son la misma especie, y que no hay evidencias moleculares suficientes para mantenerlas como especies distintas, dadas sus pocas diferencias genéticas en el gen nuclear *ITS-2* (Bargues et al., 2008). Por ejemplo, con el marcador nuclear *ITS-2* no se pudieron distinguir entre sí las especies de *T. mazzottii*, *T. phyllosoma*, *T. pallidipennis* y *T. bassolsae* (Bargues et al., 2008), pero con el uso del marcador mitocondrial *cob* se

pueden diferenciar los taxones aunque con ramas muy cortas, como en este estudio (Martínez et al., 2006).

En un estudio se observó que principalmente machos de *T. recurva* y hembras de *T. phyllosoma* pueden producir descendencia viable y fértil (Martínez-Ibarra et al., 2015), mientras que las cruzas con las especies *T. mexicana*, *T. pallidipennis*, *T. picturata* y *T. mazzottii* produjeron descendencia infértil o no viable (Martínez-Ibarra et al., 2015). Es probable que sean especies en proceso de divergencia (Martínez et al., 2006). Todas estas evidencias pueden sugerir que el intercambio genético, facilitado por áreas de distribución conjuntas, dificulta el proceso de divergencia (Bargues et al., 2008).

Las especies del complejo *phyllosoma* son tratadas por algunos autores como un género diferente: *Meccus* (Carcavallo et al., 2000; Martínez-Ibarra et al., 2015). Las evidencias para erigir al género *Meccus* eran su monofilia y sus distintivas características morfológicas y genéticas (Carcavallo et al., 2000; Martínez et al., 2006). Sin embargo, cabe mencionar que *Meccus* no se ha recuperado como monofilético en unos análisis, por lo que la mayoría de los autores mantiene al complejo *phyllosoma* dentro de *Triatoma* (ej. Ibarra-Cerdeña et al., 2014; Justí et al., 2014).

Con los resultados obtenidos en este estudio podemos observar que las especies *T. phyllosoma*, *T. mazzottii*, *T. longipennis*, *T. recurva*, *T. pallidipennis* y *T. picturata* forman un clado bien definido y monofilético. Para determinar si *T. phyllosoma*, *T. mazzottii* y *T. longipennis* son conespecíficas o si la falta de diferenciación en el genoma mitocondrial se debe a introgresión es necesario hacer análisis con datos nucleares y con más individuos.

Los datos morfológicos tampoco apoyan la separación de *T. phyllosoma* y *T. mazzottii*, cuyas pocas diferencias radican en el tamaño de la cabeza, los ojos y los hemielitros (Lent y Wygodzinsky, 1979). En contraste, *T. longipennis*, presenta diferencias más

significativas, en particular la menor cantidad de setas (restringidas al mesosterno) en comparación con *T. phyllosoma* o *T. mazzotti*, sus hemiélitros más alargados y sus pilosidades en la zona ventral, lo que podría sugerirnos que esta sí es una especie distinta (Lent y Wygodzinsky, 1979). Las cortas ramas y distancias genéticas en este caso pueden ser evidencia de introgresión mitocondrial entre *T. longipennis* y *T. phyllosoma* - *T. mazzottii*.

Eventos geológicos

El fósil que se utilizó para calibrar el árbol corresponde a la especie de *Panstrongylus hispaniolae*, ancestro de las especies vivas de *Panstrongylus* (Poinar, 2013). Una característica muy importante que tiene este fósil y que lo hace un buen elemento para la calibración es que fue encontrado en ámbar, por lo que los caracteres morfológicos permitieron poner a esta especie sin ambigüedad dentro del género *Panstrongylus* (Poinar, 2013). La topología obtenida con la estimación de los tiempo de divergencia recuperó un clado formado por *E. mucronatus* y *P. lignarius*, algo que no se encontró en los análisis de máxima verosimilitud y bayesianos. Esta relación no se había citado antes, por lo que falta evidencia de otro tipo (genes nucleares, más individuos, morfología) para poder evaluarla.

Los tiempos de divergencia de todos los linajes del clado Norte-Centroamericano son mucho más antiguos que los citados por Pech-May et al. (2019) y Monteiro et al. (2013). En el estudio de Pech-May et al. (2019), el ancestro común entre el complejo *dimidiata* y el complejo *phyllosoma* es de hace 0.78 – 2.15 Ma, aquí se encontró que este evento está entre 6.73 – 9.49 Ma. Por lo tanto, ellos estimaron que todos los eventos de especiación que dieron origen al menos a estos tres linajes del complejo *dimidiata* sucedieron en el Pleistoceno (Monteiro et al., 2013; Pech-May et al., 2019). Las edades tan recientes que encontraron

pueden deberse a la selección del marcador, dos fragmentos de *nad4*, la tasa de sustitución de 0.11 sustituciones/sitio/ma y al número de individuos de *T. dimidiata*, que en ese estudio fue mayor (Pech-May et al., 2019). Por otro lado, en un estudio con *18S* y *ITS-2* se estimaron edades más antiguas y que corresponden más con los datos encontrados en nuestra filogenia (Bargues et al., 2000).

En general, las edades obtenidas y la topología coinciden con otros estudios que se han realizado sobre filogenia y biogeografía de Triatominae (Bargues et al., 2000; Ibarra-Cerdeña et al., 2014; Justi et al., 2016). Según nuestros datos, la divergencia de las tribus Rhodniini y Triatomini sucedió hace alrededor de 17.25 – 23.94 millones de años. La edad propuesta para la tribu Triatomini ~32 Ma (Hwang y Weirauch, 2012) es mayor a los resultados de este estudio.

Se estima que la divergencia entre las especies sudamericanas *P. lignarius* + *E. mucronatus* y el Norte-Centroamericano es un evento que sucedió hace 15.05 – 20.05 Ma, y que puede estar relacionado con el surgimiento del Istmo de Panamá. El Istmo de Panamá comenzó a formarse hace alrededor de unos 30 Ma, en el Oligoceno (Bacon et al., 2013; O’Dea et al., 2016). Del Mioceno Temprano al Mioceno Medio (hace alrededor de 20 Ma), la masa continental comenzó a permitir la dispersión de animales (O’Dea et al., 2016). Es posible que la formación del Istmo de Panamá, haya permitido que el ancestro de las especies de Centro y Norteamérica migrara desde Sudamérica, en vez de haber migrado desde Centroamérica hacia el sur (Ibarra-Cerdeña et al., 2014). La dispersión pudo haberse dado también por foreshore, pues muchos mamíferos terrestres comenzaron su dispersión hace alrededor de 20 ma (O’Dea et al., 2016).

Dentro del clado Norte-Centroamericano aparecen *L. costalis*, *T. migrans*, distribuidas en Asia, y *T. rubrofasciata*, con distribución cosmopolita en los trópicos

(Dujardin et al., 2015; Justi y Galvão, 2017). Se ha propuesto que el ancestro de *T. rubrofasciata* se originó en América, y dió origen a *Linshcosteus costalis*, *T. migrans* y el resto de las especies de Triatominae distribuidos en Asia (Hypša et al., 2002; Dujardin et al., 2015). La hipótesis anterior sugiere que estos géneros fuera de América tienen un origen independiente al resto de Triatominae (que tienen origen en América) y *T. rubrofasciata* dio origen a las especies fuera de América (Gorla et al., 1997; Hypša et al., 2002). Esto no está apoyado por los datos obtenidos en este estudio pues este clado aparece anidado dentro de *Triatoma* del Norte y Centro. Esto sugiere que el ancestro de estas tres especies primero llegó a Asia y luego diversificó.

El tiempo de divergencia de *Linshcosteus*, *T. migrans* y *T. rubrofasciata* se estima en 12.42 – 17.3 Ma. Estudios anteriores (Hypša et al., 2002; Justi et al., 2016) han sugerido que el origen de estas especies fue en América y que la divergencia del clado Eurasiático fue favorecida por la pérdida del puente continental del Estrecho de Bering, hace aproximadamente 5.32 Ma (Gladenkov et al., 2002; Justi et al., 2016). En nuestro análisis, la divergencia de este clado es considerablemente más antigua a este evento, por lo que no se puede concluir que esta haya sido la razón de su divergencia. Con estos datos también se rechaza la hipótesis de que las especies de Triatominae llegaron a Eurasia por dispersión mediada por humanos en los siglos XVII – XX (Tartarotti et al., 2006).

Observaciones finales

La subfamilia Triatominae es un grupo morfológicamente muy heterogéneo cuya taxonomía actual no refleja las relaciones evolutivas. La taxonomía de Triatominae presenta varios problemas debidos en parte a que está basada en buena medida en la morfología de la cabeza,

pero los estudios moleculares han puesto en evidencia que la taxonomía actual de este grupo no refleja su filogenia (Martínez et al., 2006; Justi y Galvão, 2017). Las incongruencias abarcan desde la clara parafilia del género *Triatoma* hasta la taxonomía del complejo *dimidiata*. Cada vez se sabe más sobre la evolución de Triatominae, sobre todo gracias la combinación de estudios moleculares, morfológicos y ecológicos. Ha habido múltiples estudios que ponen en duda varios aspectos de la taxonomía actual (Justi y Galvão, 2017). Sin embargo, se ha optado por una visión conservadora y permanecer con la taxonomía antigua para mantener la consistencia con trabajos anteriores y por practicidad (Schofield y Galvão, 2009).

Hay una gran reticencia a cambiar la clasificación, bajo el argumento de que hay poca ganancia en realizar estos cambios con base en caracteres que las personas encargadas del control vectorial no podrán identificar (Schofield y Galvão, 2009). La prioridad para este grupo de importancia médica es la fácil identificación por la gente que trabaja en control vectorial, y consideran que la clasificación congruente con la filogenia no tiene ningún impacto inmediato aparente en la epidemiología y biología Triatominae (Schofield y Galvão, 2009). Sin embargo, poder determinar las relaciones evolutivas de manera efectiva permitiría hacer inferencias sobre la biología y ecología de los grupos hermanos de las especies más estudiadas (Schaefer, 2003; Justi y Galvão, 2017). Un cambio en la clasificación actual para que esta se vuelva más representativa de la biología y evolución de Triatominae implicaría reeducar a los y las trabajadoras de campo para la identificación morfológica, pero a la larga sería más benéfica por el poder predictivo que conlleva.

Conclusiones

- Este estudio contribuye con 25 genomas mitocondriales nuevos y aporta evidencias para resolver las relaciones de varios linajes dentro del clado de estudio.
- El genoma mitocondrial dentro de la subfamilia Triatominae es muy conservado, no existen rearrreglos en los genes, cambios en los anticodones de los tRNAs, ni un número significativo de inserciones o deleciones intragénicas.
- Los datos concatenados de los trece genes mitocondriales son buenos marcadores para poder determinar las relaciones dentro del clado Norte-Centroamericano, ya que las topologías tienen los mayores valores de apoyo citados hasta ahora.
- Las especies con distribución exclusivamente fuera de América, *L. costalis* y *T. migrans*, y *T. rubrofasciata*, especie pantropical, están anidadas en el clado Norte-Centroamericano.
- Los tiempos de divergencia junto con los eventos geológicos indican que Triatominae tuvo su origen en Sudamérica y que su distribución a Centro y Norteamérica fue propiciada por el Istmo de Panamá.
- *Triatoma longipennis*, *T. mazzottii* y *T. phyllosoma* podrían ser conespecíficas o bien presentar introgresión mitocondrial.

Referencias

- Aguilar, R.A., Torres, B.N., Jimenez, M.C., Jurberg, J., Galvão, C. y Carcavallo, R. 1999. *Triatoma bassolsae* sp.n. do México, com uma chave para as espécies do complexo “phyllosoma” (Hemiptera, Reduviidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94: 353-359.
- Alevi, K.C.C., Garcia, A.C.C., Guerra, A.L., Figueiredo-Moreira, F.F., de Oliveira, J., da Rosa, J.A. y de Azeredo-Oliveira, M.T. 2018. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 99:954 – 956.
- Avise, J.A., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, E., Neigel, J.E., Reeb, C.A. & Saunders, N.C. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology Systematics*, 18: 489–522.
- Bacon, C.D., Mora, A., Wagner, W.L. y Jaramillo, C.A. 2013. Testing geological models of evolution of the Isthmus of Panama in a phylogenetic framework. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 171: 287 - 300. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2012.01281.x>.
- Barber, H.G. 1932. A new species of *Rhodnius* from Panama (Hemiptera: Reduviidae). *Journal of the Washington Academy of Science*, 22, 514-517.
- Barber, H. G. 1938. A new genus and species of the subfamily Triatominae (Reduviidae: Hemiptera). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 40(4): 104-105.
- Bargues, M.D., Marcilla, A., Ramsey, J.M., Dujardin, J.P., Schofield, C.J. y Mas-Coma, S. 2000. Nuclear rDNA-based molecular clock of the evolution of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), vectors of Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95(4): 567 - 573.
- Bargues, M.D., Klisiowicz, D.R., González-Candelas, F., Ramsey, J.M., Monroy, C., Ponce, C., Salazar-Schettino, P.M., Panzera, F., Abad-Franch, F., Sousa, O.E., Schofield, C.J., Dujardin, J.P., Guhl, F. & Mas-Coma, S., 2008. Phylogeography and genetic variation of *Triatoma dimidiata*, the main Chagas disease vector in Central America, and its position within the genus *Triatoma*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2(5), e233.
- Bargues, M.D., Schofield, C. y Dujardin, J-P. 2017. Classification and systematics of the Triatominae. En: Telleria, J. y Tibayrenc, M. (eds) *American Trypanosomiasis Chagas disease. One hundred years of research*. 2ª edición. Elsevier, Oxford. 826 pp.
- Barrera-Vargas, E. 2009. *Dipetalogaster maximus* para IREKANI, IB, UNAM. Disponible en: <http://unibio.unam.mx/irekani/handle/123456789/5582?proyecto=Irekani>.
- Berg, C. 1879. *Hemiptera Argentina enumeravit speciesque novas*. P.E.Coni, Buenos Aire, 316 pp.
- Bernière, S.F., Bosseno, M.F., Magallón-Gastelúm, E., Castillo-Ruvalcaba, E.G., Gutiérrez, M.S., Montaña-Luna, E.C., Basulto, J.T., Mathieu-Daudé, F., Walter, A. y Lozano-Kasten, F. 2007. Peridomestic colonization of *Triatoma longipennis* (Hemiptera, Reduviidae) and

Triatoma barberi (Hemiptera, Reduviidae) in a rural community with active transmission of *Trypanosoma cruzi* in Jalisco state, Mexico. *Acta Tropica*, 101(3): 249-257.

Bernt, M., Donath A., Jühling, F., Externbrink, F., Florentz, C., Fritzsche, G., Pütz, J., Middendorf, M., Stadler, P.F. 2013. MITOS: Improved de novo metazoan mitochondrial genome annotation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 69:313–319.

Beutel, R.G., Friederich, F., Ge, S.Q. y Yang, X.K. (2014) *Insect Morphology and Phylogeny*. Walter de Gruyter, Berlin. 516 pp. f

Boore, J.L., Collins, T.M., Stanton, D., Daehler, L.L. y Brown, W.M. 1995. Deducing the pattern of arthropod phylogeny from mitochondrial DNA rearrangements. *Nature*, 376. 163-165.

Bouckaert, R., Vaughan, T.G., Barido-Sottani, J., Duchêne, S., Fourment, M., Gavryushkina, A., Heled, J., Jones, G., Kuhnert, D., De Maio, N., Matschiner, M., Mendes, F.K., Müller, N.F., Ogilvie, H.A., du Plessis, L., Popinga, A., Rambaut, A., Rasmussen, D., Siveroni, I., Suchard, M.A., Wu, C.H., Xie, D., Stadler, T. y Drummond, A.J. 2019. BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS computational biology*, 15(4): e1006650. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006650>.

Bredden, G. 1903. Neue Paläotropische Reduviinen. *Gesellschaft Naturforschender Freunde*, 3: 111-129.

Burger, G., Gray, M.W. y Lang, B.F. 2003. Mitochondrial genomes: anything goes. *Trends in Genetics*, 19(12): 709-717. DOI: 10.1016/j.tig.2003.10.012

Burmeister, H. 1835. *Handbuch der Entomologie*. Tome 2, part 1. T. Enslin, Berlin, 400 pp.

Bustamante, D.M., Monroy, C., Menes, M., Rodas, A., Salazar-Schettino, P.M., Rojas, G., Pinto, N., Guhl, F. y Dujardin, J.P. 2004. Metric variation among geographic populations of the Chagas vector *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Tritatominae) and related species. *Journal of Medical Entomology*, 41(3): 296-301.

Cameron, S.L. 2014. Insect mitochondrial genomics: implications for evolution and phylogeny. *Annual Review of Entomology*, 59:95-117.

Capinera, J.L. (ed) 2008. *Encyclopedia of Entomology*. 2ª edición. Springer Science and Business Media, Dordrecht. 4346 pp.

Carcavallo, R.U., Martínez, A. y Pelaez, D. 1987. Una nueva especie de *Triatoma* Laporte, de México. *Chagas*, 4: 4-5.

Carcavallo, R.U., Jurberg, J., Lent, H., Noireau, F. y Galvão, C. 2000. Phylogeny of the Tritatominae (Hemiptera: Reduviidae). Proposal for taxonomic arrangements. *Entomología y Vectores*, 7 (Suppl. 1): 1–99.

- Cassis, G., Gross, G.F. Houston, W.W.K. y Wells, A. 2002. *Zoological Catalogue of Australia. Hemiptera: Heteroptera (Pentatomomorpha). 27.3B*. CSIRO Publishing, Victoria. 741 pp.
- Castillo, D. y Wolff, M. 2000. Aspectos del comportamiento de los triatominos (Hemiptera: Reduviidae), vectores de la enfermedad de Chagas. *Biomédica*, 20: 59-64.
- Coyne, T.A. 1994. Ernst Mayr and the origin of species. *Evolution*, 48(1): 19 – 30.
- Cuba, C.A., Abad-Franch, F., Rodríguez, J.R., Vásquez, F.V., Velásquez, L.P. y Miles, M.A. 2002. The triatominos of Northern Peru, with emphasis on the ecology and infection by trypanosomes of *Rhodnius ecuadoriensis* (Triatominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(2): 175-183.
- Cui, Y., Xie, Q., Hua, J., Dang, K., Zhou, J., Liu, X., Wang, G., Yu, X. y Bu, W. 2013. Phylogenomics of Hemiptera (Insecta: Paraneoptera) based on mitochondrial genomes. *Systematic Entomology*, 38: 233–245. DOI: 10.1111/j.1365-3113.2012.00660.x.
- Curry, J.P. 1994. *Grassland invertebrates. Ecology, influence on soil fertility and effects on plant growth*. Chapman & Hall, Londres. 451 pp.
- Degnan, J.H. y Rosenberg, N.A. 2009. Gene tree discordance, phylogenetic inference and the multispecies coalescent. *Trends in Ecology and Evolution*, 24: 332–340.
- De Geer, C. 1773. *Memoires pour servir a l'histoire des insectes*. Tome III. Pierrer Hesselberg, Stockholm. 696 pp.
- De la Rúa, N.M., Bustamante, D.M., Menes, M., Stevens, L., Monroy, C., Kilpatrick, W., Rizzo, D., Klotz, S.A., Schmidt, J., Axen, H.J. y Dorn, P.L. 2014. Towards a phylogenetic approach to the composition of species complexes in the North and Central American *Triatoma*, vectors of Chagas Disease. *Infection, Genetics and Evolution*, 24:157-166. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.03.019.
- DeSalle, R., Schierwater, B. y Hadrys, H. 2017. MtDNA: The small workhorse of evolutionary studies. *Frontiers in Bioscience*, 22: 873 - 887.
- Días, J.C.P., Silveira, A.C., Schofield, C.J. The impact of Chagas disease control in Latin America- A review. 2002. *Memórias do instituto Oswaldo Cruz*, 97(5): 603-612.
- Distant, W.L. 1904. *The Fauna of British India, including Ceylon and Burma*. Rhynchota, 2 (Heteroptera). 503 pp.
- Dong, L., Ma, X., Wang, M., Zhu, D., Feng, Y., Zhang, Y., Wang, J. 2018. Complete mitochondrial genome of the Chagas disease vector, *Triatoma rubrofasciata*. *Korean Journal of Parasitology*, 56(5): 515 – 519. DOI: <https://doi.org/10.3347/kjp.2018.56.5.515>.

- Dorn, P.L., Justi, S.A., Dale, C., Stevens, L., Galvão, C., Lima-Cordón, R., Monroy, C. 2018. Description of *Triatoma mopan* sp. n. from a cave in Belize (Hemiptera, reduviidae, Triatominae). *ZooKeys*, 775: 69 – 95. DOI: 10.3897/zookeys.775.22553.
- Dorn, P.L., de la Rúa, N.M., Axen, H., Smith, N., Richards, B.R., Charabati, J., Suarez, J., Woods, A., Pessoa, R., Monroy, C., Kilpatrick, C.W. y Stevens, L. 2016. Hypothesis testing clarifies the systematics of the main Central American Chagas disease vector, *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811), across its geographic range. *Infection, Genetics and Evolution*, 44: 431-443.
- Dorn P.L., Calderón C., Melgar S., Moguel B., Solorzano E., Dumonteil, E., Rodas, A., Rúa de la, N., Garnica, R. & Monroy, C. 2009. Two distinct *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) taxa are found in sympatry in Guatemala and Mexico. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 3(3): e393. DOI:10.1371/journal.pntd.0000393.
- Dorn, P.L., Monroy, C., Curtis, A. 2007. *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811): A review of its diversity across its geographic range and the relationship among populations. *Infection, Genetics and Evolution*, 7:343 - 352. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2006.10.001>.
- Dotson, E.M. y Beard, C.B. 2001. Sequence and organization of the mitochondrial genome of the Chagas disease vector, *Triatoma dimidiata*. *Insect Molecular Biology*, 10(3): 205 – 215. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2583.2001.00258.x>.
- Downton, M., Castro, L.R. y Austin, A.D. 2002. Mitochondrial gene rearrangements as phylogenetic characters in the invertebrates: the examination of genome ‘morphology’. *Invertebrate Systematics*, 16: 345-356. DOI: 10.1071/IS02003.
- Drummond, A.J., Suchard, M.A., Xie, D. y Rambaut, A. 2012. Bayesian Phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, 29(8): 1969 – 1973.
- Du, C., Zhang, L., Lu, T., Ma, J., Zeng, C., Yue, B. y Zhang, X. 2017. Mitochondrial genomes of blister beetles (Coleoptera, Meloidae) and two large intergenic spacers in *Hycleus* genera. *BMC Genomics*, 18:698. DOI: 10.1186/s12864-017-4102-y.
- Duchene, S., Archer, F.I., Vilstrup, J., Caballero, S. y Morin, P.A. 2011. Mitogenome phylogenetics: the impact of using single regions and partitioning schemes on topology, substitution rate and divergence time estimation. *PLoS ONE*, 6(11): e27138. DOI: 10.1371/journal.pone.0027138
- Dujardin, J.P. y Schofield, C.J. 2004. Triatominae: Systematics, Morphology and Population Biology. En: Maudlin, I., Holmes, P.H. y Miles M.A. (eds) *The Trypanosomiases*. CABI Publishing, Oxfordshire. p 181- 202.
- Dujardin, J.P., Lam, T.X., Khoa, P.T. y Schofield, C.J. 2015. The rising importance of *Triatoma rubrofasciata*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110(3): 319 – 323. DOI: 10.1590/0074-02760140446.

Dumonteil, E., Gourbière, S., Barrera-Pérez, M., Rodríguez-Félix, E., Ruiz-Piña, H., Baños-López, O., Ramírez-Sierra, M.J., Menu, F., Rabinovich, J.E. 2002. Geographic distribution of *Triatoma dimidiata* and transmission dynamics of *Trypanosoma cruzi* in the Yucatan peninsula of Mexico. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 67: 176–183.

Dumonteil, E., Ruiz-Piña, H., Rodríguez-Félix, E., Barrera-Pérez, M., Ramirez-Sierra, M.J., Rabinovich, J.E. y Menu, F. 2004. Re-infestation of houses by *Triatoma dimidiata* after intra-domicile insecticide application in the Yucatán peninsula, Mexico *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99(3): 253-256. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762004000300002>.

Espinoza, B., Martínez-Ibarra, J.A., Villalobos, G., de la Torre, P., Lacleste, J.P., Martínez-Hernández, F. 2013. Genetic variation of North American triatomines (Insecta: Hemiptera: Reduviidae): initial divergence between species and populations of Chagas disease vector. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 88(2): 275 – 284. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.12-0105>.

Erichson, W.F. 1848. Insecten. En: Schomburgk R. *Reisen in Britisch-GUIANA in der jahren 1840- 1844 im auftrag Sr Majestat des Konings von Pruessen*. Weber, Leipzig. pp. 553-617.

Galvão, C., Carcavallo, R., Silva da. D. y Jureberg, J. 2003. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. *Zootaxa*, 202:1-36.

Galvão, C., Jurberg, J., Carcavallo, R.U., Mena-Segura, C.A., Galíndez-Girón, I., Curto-de Casas, S. I. 1998. Geographical distribution and alti-latitudinal dispersion of some genera and species of the tribe Triatomini Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93(1): 33-37.

Galvão, C. y Justi, S.A. 2015. An overview on the ecology of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). *Acta Tropica*, 151: 116-125. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.06.006>.

García, M., Menes, M., Dorn, P.L., Monroy, C., Richards, B., Panzera, F. & Bustamante, D.M. 2013. Reproductive isolation revealed in preliminary crossbreeding experiments using field collected *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) from three ITS-2 defined groups. *Acta Tropica*, 128:714-718.

Gelman, A., y Rubin, D. 1992. Inference from iterative simulation using multiple sequences. *Stat Sci*, 7: 457 - 511.

Ghuri, M.S.K. 1976. The Indian triatomine genus *Linschosteus* (Reduviidae). *Systematic Entomology*, 1: 183-187.

Gladenkov, A.Y., Oleinik, A.E., Marincovich, L.J. y Barinov, K.B. 2002. A refined age for the earliest opening of Bering Strait. *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology*, 183 (3 – 4): 321 – 328. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-0182\(02\)00249-3](https://doi.org/10.1016/S0031-0182(02)00249-3).

Glenn, T.C., Nilsen, R.A., Kieran, T.J., Sanders, J.G., Bayona-Vázquez, N.J., Finger, J.W., Pierson, T.W., Bentley, K.E., Hoffberg, S.L., Louha, S., García-De Leon, F.J., del Rio Portilla, M.A., Reed, K.D., Anderson, J.L., Meece, J.K., Aggrey, S.E., Rekaya, R., Alabady, M., Belanger, M., Winger, K., Faircloth, B.C., 2019. Adaptamerama I: universal stubs and primers for 384 unique dual-indexed or 147,456 combinatorially-indexed Illumina libraries (iTru, iNext). *PeerJ*, 7:e7755. <http://doi.org/10.7717/peerj.7755>.

Gómez-Palacio, A., Triana, O., Jaramillo-O, N., Dotson, E.M. y Marcet, P. 2013. Eco-geographical differentiation among Colombian populations of the Chagas disease vector *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae). *Infection, Genetics and Evolution*, 20: 352 - 261. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.09.003>.

Gómez-Palacio, A., Arboleda, S., Dumonteil, A. & Townsend, A. 2015. Ecological niche and geographic distribution of the Chagas disease vector, *Triatoma dimidiata* (Reduviidae: Triatominae): Evidence for niche differentiation among cryptic species. *Infection, Genetics and Evolution*, 36: 15-22.

Gorla, D.E., Dujardin, J.P., Schofield, C.J. 1997. Biosystematics of Old World Triatominae. *Acta Tropica*, 63:127-40. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(97\)87188-4](https://doi.org/10.1016/S0001-706X(97)87188-4).

Grimaldi, D.A. y Engel, M.S. 2005. *Evolution of the insects*. Cambridge University Press, Nueva York. 763 pp.

Guhl, F., Aguilera, G., Pinto, N. y Vergara, D. 2007. Actualización de la distribución geográfica y ecoepidemiología de la fauna de triatomíneos (Reduviidae: Triatominae) en Colombia. *Biomédica*, 27, suppl. 1: 143-162.

Guhl, F. 2009. Enfermedad de Chagas: Realidad y perspectivas. *Revista Biomédica*, 20(3): 228-234.

Guindon, S., Dufayard, J. F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., y Gascuel, O. 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic biology*, 59(3): 307 - 321.

Guzmán-Bracho, C. 2001. Epidemiology of Chagas disease in Mexico: an update. *Trends in Parasitology*, 17(8): 372-377.

Hao, Y.J., Zou, Y.L., Ding, Y.R., Xu, W.Y., Yan, Z.T., Dong, X.D., Fu, W.B., Li, T.J. y Chen, B. 2017. Complete mitochondrial genomes of *Anopheles stephensi* and *An. dirus* and comparative evolutionary mitochondriomics of 50 mosquitoes. *Scientific Reports*, 7: 7666. DOI: [10.1038/s41598-017-07977-0](https://doi.org/10.1038/s41598-017-07977-0).

- Herrera-Aguilar, M., Be-Barragán, L.A., Ramírez-Sierra, M.J., Triper, F., Dorn, P. & Dumonteil, E. 2009. Identification of a large hybrid zone between sympatric sibling species of *Triatoma dimidiata* in the Yucatan peninsula, Mexico, and its epidemiological importance. *Infection, Genetics and Evolution*, 9: 1345-1351.
- Hieu, H.V., Do, L.T., Pita, S., Ha, H., Khoa, P.T., Tuan, P.A., Mai, T.P., Lien, N.G. y Panzera, F. 2019. Biological attributes of the kissing bug *Triatoma rubrofasciata* from Vietnam. *Parasites & Vectors*, 12. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3844-6>
- Hillis, D.M. y Bull, J.J. 1993. An Empirical Test of Bootstrapping as a Method for Assessing Confidence in Phylogenetic Analysis. *Systematic Biology*, 42(2): 182 - 192. DOI: <https://doi.org/10.1093/sysbio/42.2.182>.
- Huelsenbeck, J. y Rannala, B. 2004. Frequentist properties of Bayesian posterior probabilities of phylogenetic trees under simple and complex substitution models. *Systematic Biology*, 53(6): 904 - 913. DOI: 10.1080/10635150490522629.
- Hwang, W.S. y Weirauch, C. 2012. Evolutionary history of assassin bugs (Insecta: Hemiptera: Reduviidae): insights from divergence dating and ancestral state reconstruction. *PLoS ONE*, 7(9): e45523. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045523>
- Hypša, V., Tietz, D.F., Zrzavý, J., Rego, R.O., Galvão, C. y Jurberg, J. 2002. Phylogeny and biogeography of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): molecular evidence of a New World origin of the Asiatic clade. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 23:447–457. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(02\)00023-4](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(02)00023-4).
- Ibarra-Cerdeña, C.N., Zaldívar-Riverón, A., Peterson, A.T., Sánchez-Cordero, V., Ramsey, J.M., 2014. Phylogeny and niche conservatism in north and Central American triatomine bugs (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), vectors of Chagas' disease. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(10), e3266.
- Iturralde-Vinent, M.A. y MacPhee, R.D.E. 1996. Age and paleogeographical origin of Dominican Amber. *Science*, 272: 185 – 1852.
- Iturralde-Vinent, M.A. 2001. Geology of the amber-bearing deposits of the Greater Antillers. *Caribbean Journal of Science*, 0:0, 141 – 167.
- Jeannel, R. 1919. Insectes Hémiptères, iii. Henicocephalidae et Reduviidae. En: *Voyage de Ch.Alluaud et R.Jeannel en Afrique orientale (1911-1912)*, pp. 131-314.
- Jiménez, M.L. y Palacios, C. 2002. Life cycle and reproductive and feeding behaviour of *Dipetalogaster maximus* (Uhler) (Reduviidae: Triatominae) under laboratory conditions in Baja California Sur, Mexico. *Southwestern Entomologist*, 27(1):
- Jurberg, J. y Galvão, C. 1997. *Hermanlenticia* n. gen. da tribo Triatomini, com um rol de espécies de Triatominae (Hemiptera, Reduviidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92(2): 181-185. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761997000200009>.

- Jurberg, J. y Galvão, C. 2006. Biology, ecology, and systematics of Triatominae (Heteroptera, Reduviidae), vectors of Chagas disease, and implications for human health. *Denisia*, 19: 1095-1116.
- Justi, S.A., Dale, C. y Galvão, C. 2014. DNA barcoding does not separate South American *Triatoma* (Hemiptera: Reduviidae). *Chagas Disease vectors. Parasites & Vectors*, 7:519.
- Justi, S.A., Cahan, S., Stevens, L., Monroy, C., Lima, R. y Dorn, P.L. 2018. Vectors of Diversity: Genome wide diversity across the geographic range of the Chagas disease vector *Triatoma dimidiata* sensu lato (Hemiptera: Reduviidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 120:144-150 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.12.016>.
- Justi, S.A. y Galvão, C. 2017. The evolutionary origin of diversity in Chagas disease vectors. *Trends in Parasitology*, 33(1):42 – 52. DOI: 10.1016/j.pt.2016.11.002.
- Justi, S.A., Galvão, C. y Schrago, C.G. 2016. Geological changes of the Americas and their influence on the diversification of the Neotropical kissing bugs (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(4): e0004527. DOI:10.1371/journal.pntd.0004527.
- Justi, S.A., Russo, C.A.M., Mallet, J.R.D.S., Obara, M.T. y Galvão, C. 2014. Molecular phylogeny of Triatomini (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Parasites and Vectors*, 7: 149.
- Jung, S., Duwal, R.K. y Lee, S. 2010. COI barcoding of true bugs (Insecta, Heteroptera). *Molecular Ecology*, 11: 266-270.
- Katoh, K. 2013. MAFFT: Multiple program for amino acid or nucleotide sequences. Disponible en: <https://mafft.cbrc.jp/alignment/software/>.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Mentjies, P., & Drummond, A. (2012). Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647-1649.
- Kocher, A., Kamilari, M., Lhuillier, E., Coissac, E., Péneau, J., Chave, J. y Murienne, J. 2014. Shotgun assembly of the assassin bug *Brontostoma colossus* mitochondrial genome (Heteroptera, Reduviidae). *Gene*, 552: 184–194.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger data sets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7): 1870-1874.
- Lanfear, R., Calcott, B., Ho, S. Y., y Guindon, S. 2012. PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular biology and evolution*, 29(6): 1695-1701.

- Lanfear, R., Frandsen, P. B., Wright, A. M., Senfeld, T., Calcott, B. 2016. PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution*, 34(3), 772-773.
- Lartillot, N., Lepage, T. y Blanquart, S., 2009. PhyloBayes 3: a Bayesian software package for phylogenetic reconstruction and molecular dating. *Bioinformatics*, 25(17): 2286–2288. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp368>.
- Latreille, P.A. 1811. Insectes de l'Amérique recueillis pendant le voyage de MM. de Humboldt et Bonpland. En: Humboldt A. & Bonpland A. *Voyage aux régions équinoxiales du nouveau continent*. Vol.1 pp.197-397.
- Laporte, F.L.de 1832/3. Essai d'une classification systematique de l'ordre des Hémiptères (Hémiptères, Hétéroptères, Latr.). *Magazine de Zoologie*, 1: 1-88.
- Lazzari, C.R., Pereira, M.H. y Lorenzo, M.G. 2013. Behavioural biology of Chagas disease vectors. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 108: 34-47.
- Leconte, J.L. 1855. Remarks on two species of American *Cimex*. *Proceedings of the Academy of Natural Science*, Philadelphia, 7, p.404.
- Lent, H. & Wygodzinsky, P.W. 1979 Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 163: 125–520.
- Lent, H. y Jurberg, J. 1985. Sobre a variação intra-específica em *Triatoma dimidiata* (Latreille) e *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera, Reduviidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 80(3): 285 – 299.
- Lent, H., Jurberg, J.1983. Estudo comparativo da genitalia externa masculina de *Linshcosteus costalis* Ghauri e *L. kali* Lent & Wygodzinsky (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 78: 421-429.
- Li, H., Liu, H., Shi, A., Štys, P., Zhou, X. y Cai, W. 2012. The complete mitochondrial genome and novel gene arrangement of the unique-headed bug *Stenopirates* sp. (Hemiptera: Enicocephalidae). *PLoS ONE*, 7(1); e29419. DOI: 10.1371/journal.pone.0029419.
- Li, H., Leavengood, Jr. J.M., Chapman, E.G., Burkhardt, D., Song, F., Jiang, P., Liu, J., Zhou, X. y Cai, W. 2017. Mitochondrial phylogenomics of Hemiptera reveals adaptive innovations driving the diversification of true bugs. *Proceedings of the Royal Society B*, 284: 20171223. DOI: <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2017.1223>.
- Li, K. y Liang, A.P. 2018. Hemiptera mitochondrial control region: new insights into the structural organization, phylogenetic utility, and roles of tandem repetitions of noncoding

- segment. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(5): 1292. DOI: 10.3390/ijms19051292.
- Lima-Cordón, R.A., Monroy, M.C., Stevens, L., Rodas, A., Rodas, G.A., Dorn, P.L. y Justi, S.A. 2019. Description of *Triatoma huehuetenanguensis* sp. n., a potential Chagas disease vector (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *ZooKeys*, 820: 51 – 70. DOI: 10.3897/zookeys.820.27258.
- Maldonado-Capriles, J. 1990. Systematic catalogue of the Reduviidae of the world (Insecta: Heteroptera). *Caribbean Journal of Science* (Special ed.), University of Puerto Rico, Mayagüez, 694 pp.
- Martínez, A. y Carcavallo, R.U. 1977. Un nuevo Triatominae neotropical (Hemiptera: Reduviidae). *Folia Entomologica Mexicana*, 38: 109-118.
- Martínez, A., Carcavallo, R.U. y Pelaez, D. 1984. *Triatoma brailovskyi*, nueva especie Triatominae de México. *Chagas*, 1: 39-42.
- Martínez, F.H., Villalobos, G.C., Cevallos, A.M., de la Torre, P., Laclette, J.P., Alejandre-Aguilar, R. y Espinoza, B. 2006. Taxonomic study of the *Phyllosoma* complex and other triatomine (Insecta: Hemiptera: Reduviidae) species of epidemiological importance in the transmission of Chagas disease: Using ITS-2 and mtCytB sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 41(2): 279 – 287. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.05.002>.
- Martínez-Hernández, F., Martínez-Ibarra, J.A., Catalá, S., Villalobos, G., de la Torre, P., Laclette, J.P., Alejandre-Aguilar, R. y Espinoza, B. 2010. Natural crossbreeding between sympatric species of the *Phyllosoma* complex (Insecta: Hemiptera: Reduviidae) indicate the existence of only one species with morphologic and genetic variations. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 82(1): 74 – 82. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0272>.
- Martínez-Ibarra, J.A., Noguera-Torres, B., Licón-Trillo, A., Alejandre-Aguilar, R., Salazar-Schettino, P.M. y Vences-Blanco, M.O. 2015. Biological aspects of crosses between *Triatoma recurva* (Stål), 1868 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) and other members of the *Phyllosoma* complex. *Journal of Vector Ecology*, 40(1): 117 – 122. DOI: <https://doi.org/10.1111/jvec.12139>.
- Mas-Coma, S. y Bargues, M.D. 2009. Populations, hybrids and the systematic concepts of species and subspecies in Chagas disease triatomine vectors inferred from nuclear ribosomal and mitochondrial DNA. *Acta Tropica*. 110, 112–136.
- Mastrantonio, V., Porretta, D., Urbanelli, S., Crasta, G. y Nascetti, G. 2016. Dynamics of mtDNA introgression during species range expansion: insights from an experimental longitudinal study. *Scientific Reports*, 6: 30355. DOI: 10.1038/srep30355.
- Mazzottii, L. 1940. Una nueva especie de *Triatoma* en Mexico. *Ciencia México*, 1: 22-23.

- McIntosh, E.J., Rossetto, M., Weston, P.H. y Wardle, G.M. 2014. Maintenance of strong morphological differentiation despite ongoing natural hybridization between sympatric species of *Lomatia* (Proteaceae). *Annals of Botany*, 113: 861 – 872. DOI: 10.1093/aob/mct314.
- Mendonça, V.J., Alevi, K.C.C., Pinotti, H., Gurgel-Gongalves, R., Pita, S., Guerra, A.L., Panzera, F., Araújo, R.F., Azeredo-Oliveira, M.T.V. y Rosa, J.A. 2016. Revalidation of *Triatoma bahiensis* Sherlock & Serafim, 1967 (Hemiptera: Reduviidae) and phylogeny of the *T. brasiliensis* species complex. *Zootaxa*, 4107: 239–254.
- Miles, M.A., Fleiciangeli, M.D. & Rojas de Aarias, A. 2003. American tripanosomiasis (Chagas' disease) and the role of molecular epidemiology in guiding control strategies. *Science, medicine and the future*, 326: 1444-1448.
- Mougabure-Cueto, G. y Picollo, M.I. 2015. Insecticide resistance in vector Chagas Disease: evolution, mechanisms and management. *Acta Tropica*, 149: 70 – 85. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.05.014>.
- Monteiro, F.A., Escalante, A.A. y Beard, C.B. 2001. Molecular tools and triatomine systematics: a public health perspective. *TRENDS in Parasitology*, 17(7): 344 – 348.
- Monteiro, F.A., Peretolchina, T., Lazoski, C., Harris, K., Dotson, E.M., Abad-Franch, F., Tamayo, E., Pennington, P.M., Monroy, C., Cordon-Rosales, C., Salazar-Schettino, P.M., Gómez-Palacio, A., Grijalva, M.J., Beard, C.B & Marcet, P.L. 2013. Phylogeographic pattern and extensive mitochondrial DNA divergence disclose a species complex within the Chagas disease vector *Triatoma dimidiata*. *PLoS ONE*. 8(8): e70974. DOI: 10.1371/journal.pone.0070974.
- Neiva, A. 1911. Zwei neue Afrikanische Arten des Genus *Triatoma* (oder Conorhinus). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 13, 239-240.
- Neiva, A. 1912. Notas de entomología médica e descrição de duas novas espécies de Triatomas norte-americanas. *Brasil-Médico*, 26: 21-22.
- Noireau, F. y Dujardin, J-P. 2010. Biology of Triatominae. En: Telleria, J. y Tibayrenc, M. (eds.) *American Trypanosomiasis. Chagas Disease: One hundred years of research*. 1ª edición. Elsevier, Londres. p. 149-168.
- O'Dea, A., Lessios, H.A., Coates, A. G., Eytan, R. I., Restrepo-Moreno, S., Cione, A. L., Collins, L. S., de Queiroz, A., Farris, D. W., Norris, R. D., Stallard, R. F., Woodburne, M. O., Aguilera, O., Aubry, M.P., Berggren, W. A., Budd, A. F., Cozzuol, M. A., Coppard, S. E., Duque-Caro, H., Finnegan, S., Gasparini, G. M., Grossman, E. L., Johnson, K. G., Keigwin, L. D., Knowlton, N., Leigh, E.G., Leonard-Pingel, J., Marko, P.B., Pyenson, N.D., Rachello-Dolmen, P., Soibelzon, E., Soibelzon, L., Todd, J.A., Vermeij, G.J. y Jackson, J.B.C. 2016. Formation of the Isthmus of Panama. *Science Advances*, 2 (8): e1600883. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600883>.

Panizzi, A.R. y Grazia, J. (Eds). 2015. *True bugs (Heteroptera) of the Neotropics*. Springer, Nueva York. 901 pp.

Panzer, F., Pérez, R., Panzer, Y., Ferrandis, R., Ferreiro, M.J. y Calleros, L. 2010. Cytogenetics and genome evolution in the subfamily Triatominae (Hemiptera:Reduviidae). *Cytogenetic and Genome Research*, 128:77-87. DOI: 10.1159/000298824.

Patterson, J.S., Schofield, C.J., Dujardin, J-P. y Miles, M.A. 2001. Population morphometric analysis of the tropicopolitan bug *Triatoma rubrofasciata* and relationships with Old World species of *Triatoma*: evidence of New World ancestry. *Medical and Veterinary Entomology*, 15: 443-451.

Pech-May, A., Mazariegos-Hidalgo, C.J., Izeta-Alberdi, A., López-Cancino, S.A., Tun-Ku, E., De la Cruz-Félix, K., Ibarra-Cerdeña, C.N., González-Ittig, R.E. y Ramsey, J.M. 2019. Genetic variation and phylogeography of the *Triatoma dimidiata* complex evidence a potential center of origin and recent divergence of haplogroups having differential *Trypanosoma cruzi* and DTU infections. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(1): e0007044. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007044>.

Pfeiler, E., Bitler, B.G., Ramsey, J.M., Palacios-Cardiel, C. y Markow, T.A. 2006. Genetic variation, population structure, and phylogenetic relationships of *Triatoma rubida* and *T. recurva* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from the Sonoran Desert, insect vectors of the Chagas' disease parasite *Trypanosoma cruzi*. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 41: 209 – 221. DOI: 10.1016/j.ympev.2006.07.001.

Pinto, C. 1926. Triatomídeos da Venezuela, com a descrição de uma nova espécie do gênero *Eutriatoma*. *Anais da Faculdade de Medicina de Sao Paulo*, 1: 85– 87.

Pita, S., Panzer, F., Vela, J., Mora, P., Palomeque, T. y Lorite, P. 2017. Complete mitochondrial genome of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), main vector of Chagas disease. *Infection, Genetics and Evolution*, 54:158-163. DOI: 10.1016/j.meegid.2017.06.003

Poinar, G. 2013. *Panstrongylus hispaniolae* sp.n. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), a new fossil triatomine in Dominican amber with evidence of gut flagellates. *Paleodiversity*, 6:1 – 8.

Rambaut, A., Drummond, A.J., Xie, D., Baele, G., y Suchard, M.A. 2018. Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, syy032. DOI:10.1093/sysbio/syy032.

Ramírez, C.J., Jaramillo, C.A., Delgado, M. del P., Pinto, N.A., Aguilera, G. y Guhl, F. 2005. Genetic structure of sylvatic, peridomestic and domestic populations of *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) from an endemic zone of Boyaca, Colombia. *Acta Tropica*, 93: 23-29.

Ramsey, J.M., Peterson, A.T., Carmona-Castro, O., Moo-Llanes, D.A., Nakazawa, Y., Butrick, M., Tunk_Ku, E., de la Cruz-Félix, K. e Ibarra-Cerdeña, C.N. 2015. Atlas of Mexican Triatominae (Reduviidae: Hemiptera) and vector transmission of Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110(3): 339 - 352. DOI: 10.1590/0074-02760140404.

Rinker, D.C., Pitts, R.J. y Zwiebel L.J. 2016. Disease vectors in the era of next generation sequencing. *Genome Biology*, 17(1): 95. DOI: 10.1186/s13059-016-0966-4.

Rodriguero, M.S. y Gorla, D.E. 2004. Latitudinal gradient in species richness of the New World Triaominae (Reduviidae). *Global Ecology and Biogeography*, 13 (1): 75-84.

Rokas, A., Williams, B.L., King, N. y Carroll, S.B. 2003. Genome-scale approaches to resolving incongruence in molecular phylogenies. *Nature*, 425: 798 – 804.

Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., y Huelsenbeck, J. P. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61(3): 539-542.

Ryckman, R.E. 1971. The genus *Paratriatoma* in western NorthAmerica (Hemiptera: Reduviidae). *Journal of Medical Entomology*, 8:87-97

Ryckman, R.E. y Ryckman, A.E. 1967. Epizootology of *Trypanosoma cruzi* in southwestern North America. *Journal of Medical Entomology*, 4(2): 180-188.

Salazar-Schettino, P.M., Rojas-Wastavino, G.E., Rosales-Piña, J.S., Vences-Blanco, M.O. y Cabrera-Bravo, M. (2013). *Triatoma mexicana* Herrich-Schaeffer (Hemiptera:Reduviidae: Triatominae) Descripción de la genitalia del macho y morfología externa de la hembra. *EntomoBrasilis*, 6(1): 68 – 73.

Salazar-Schettino, P.M., Rojas-Wastavino, G.E., Cabrera-Bravo, M., Bucio-Torres, M.I., Martínez-Ibarra, J.A., Monroy-Escobar, M.C., Rodas-Retaba, A., Guevara-Gómez, y., Vences-Blanco, M.O., Ruiz-Hernández, A.L. y Torres-Gutiérrez, E. 2010. Revisión de 13 especies de la familia *Triatominae* (Hemiptera: Reduviidae) vectores de la enfermedad de Chagas, en México. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 1(1): 57 - 80.

Schaefer, C.W. y Coscarón, M.C. 2001. The status of *Linshcosteus* in Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). *Journal of Medical Entomology*, 38(6): 862-867. DOI: <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.6.862>.

Schaefer, C.W. 2003. Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): systematic questions and some others. *Neotropical Entomology*, 32(1): 1 - 10.

Schofield, C.J. 2000a. Biosystematics and evolution of the Triatominae. *Cuadernos de Saúde Pública*, 16 (suppl. 2): 89-92. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2000000800010>.

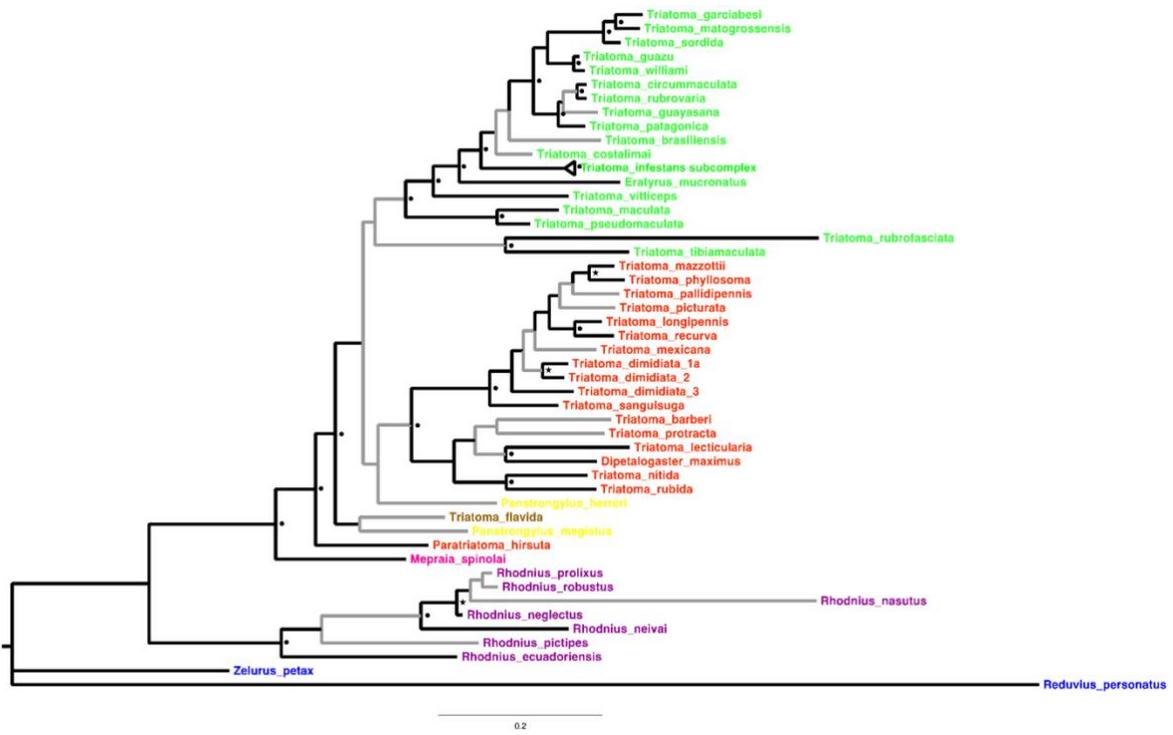
- Schofield, C.J. 2000b. *Challenges of Chagas disease vector control in Central America: Position paper. Global collaboration for development of pesticides for public health (GCDPP)*. WHO, 36 pp.
- Schofield, C.J. y Galvão C. 2009. Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. *Acta Tropical*, 110:88–100. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2000000800010>.
- Schuh, R.T. y Slater, J.A. 1995. *True bugs of the world (Hemiptera: Heteroptera). Classification and natural history*. Cornell University Press, Nueva York. 341 pp.
- Stål, C. 1859. Monographie der Gattung *Conorhinus* und Verwandten. *Berliner Entomologische Zeitschrift*, 3, 99-117.
- Stål, C. 1872. Enumeratio Hemipterorum. Pars 2. *Kongliga Svenska Vetenskaps-Akademiens Handlingar*, 10: 1-159.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30(9): 1312 – 1313.
- Stevens, L., Monroy, M.C., Rodas, A.G., Hicks, R.M., Lucero, D.E., Lyons, L.A. & Dorn, P.L. 2015. Migration and gene flow among domestic populations of the Chagas insect vector *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) detected by microsatellite loci. *Journal of Medical Entomology*, 52(3): 419-428. DOI: 10.1093/jme/tjv002.
- Stevens, J. y Schofield, C.J. 2003. Phylogenetics and sequence analysis – some problems for the unwary. *Trends in Parasitology*, 19(12): 582-588.
- Tamay-Segovia, P., Alejandro-Aguilar, R., Martínez, F., Villalobos, G., de la Serna, F.J., de la Torre, P., Laclette, J.P., Blum-Dominguez, S. & Espinoza, B. 2008. Two *Triatoma dimidiata* clades (Chagas disease vector) associated with different habitats in southern Mexico and Central America. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 78, 472–478.
- Takashi-Obara, M., da Silva-Cardoso, A., Gonçalves-Pinto, M.C., Rodriguez-Souza de, C., Albuquerque e Silva, R., Gyrgel-Gonçalves, R. 2013. *Eratyrus mucronatus* Stål, 1859 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae): First report in the State of Acre, Brazil, and updated geographic distribution in South America. *Check List*, 9(4): 851 – 854.
- Tartarotti, E., Azeredo-Oliveira, M.T.V. y Ceron, C.R. 2006. Phylogenetic approach to the study of Triatomines (Triatominae, Heteroptera). *Brazilian Journal of Biology*, 66(2B): 703 – 708. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-566X2003000100001>.
- Torres-Montero, J., López-Monteón, A., Dumonteil, E. Y Ramos-Ligonio, A. 2012. House infestation dynamics and feeding sources of *Triatoma dimidiata* in central Veracruz, Mexico. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 86(4): 677-682

- Uhler, P.R. 1894. Observations upon the Heteropterous Hemiptera of Lower California, with description of new species. *Proceedings of the California Academy of Science* (series 2), 4: 223-295.
- Usinger, R.L. 1939. Descriptions of new Triatominae with a key to genera (Hemiptera, Reduviidae). *University of California Publications in Entomology*, 7, 33-56.
- Usinger, R.L., 1941. Notes and descriptions of neotropical Triatominae (Hemiptera, Reduviidae). *Pan-Pacific Entomologist*, 17(2): 49–57.
- Usinger, R. 1944. The Triatominae of North and Central America and the West Indies and their public health significance. *U.S. Public Health Bulletin*, 288: 1–83.
- Vázquez-García, L. y Villalobos, A. 1987. *Zoología del Phylum Arthropoda*. 6ª edición. Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V., CDMX. 381 pp.
- Wang, Y., Chen, J., Jiang, L. & Qiao, G. 2015. Hemipteran mitochondrial genomes: features, structures and implications for phylogeny. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(6): 11834-14290.
- Weirauch, C. y Munro, J.B. 2009. Molecular phylogeny of the assassin bugs (Hemiptera: Reduviidae), based on mitochondrial and nuclear ribosomal genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 53: 287-299. DOI: 10.1016/j.ympev.2009.05.039.
- Weirauch, C. y Schuh, R.T. 2011. Systematics and evolution of Heteroptera: 25 years of progress. *Annual Review of Entomology*, 56: 487-510.
- WHO - World Health Organization 2007. Grupo de trabajo científico sobre la enfermedad de Chagas. TDR/GTC/09, Ginebra.
- WHO - World Health Organization.2017. Fact Sheet Nr 340. Marzo 2017. Chagas disease (American trypanosomiasis). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>.
- Wygodzinsky, P. 1948. Sobre *Panstrongylus* del Perú, con la descripción de una nueva especie (Triatominae, Reduviidae, Hemiptera). *Anales del Instituto de Medicina Regional, Tucumán*, 2, 197-208.
- Wygodzinsky, P. y Abalos, J.W. 1949. *Triatoma guasayana* sp.n. (Triatominae, Reduviidae, Hemiptera) (Nota previa). *Semana Médica*, Buenos Aires, 56, 2.
- Yang, H., Li, T., Dang, K. y Bu, W. 2018. Compositional and mutational rate heterogeneity in mitochondrial genomes and its effect on the phylogenetic inferences of Cimicomorpha (Hemiptera: Heteroptera). *BMC Genomics*, 19(1): 264. DOI: 10.1186/s12864-018-4650-9.
- Xia, X., Xie, Z., Kjer, K.M., 2003. 18S ribosomal RNA and tetrapod phylogeny. *Systematic Biology*, 52(3): 283–295.

Zeledón, R. y Ponce, C. 1972. Descripción de una nueva especie de *Triatoma* de Honduras, América Central (Hemiptera, Reduviidae). *Revista de Biología Tropical*, 20: 275-279.

Zeledón, R., Solano, G., Zúñiga, A. y Swartzwelder, J.C. 1973. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811). III. Habitat and blood sources. *Journal of Medical Entomology*, 10(4): 363-370.

Zhao, Y., Jiang, M., Wu, Y., Song, F., Cai, W. y Li, H. 2019. Mitochondrial genomes of three kissing bugs (Reduviidae: Triatominae) and their phylogenetic implications). *International Journal of Biological Macromolecules*, 134: 26 – 42.



Apéndice B. Filograma bayesiano obtenido de un análisis de los genes *cox1*, *cob*, *12S*, *16S*, *18S*, y *28S*. En rojo se muestran las especies que pertenecen al clado Norte-Centroamericano recuperado en el estudio. Fuente: Ibarra-Cerdeña et al. (2014).

Apéndice C. Distribución de las especies que conforman el clado Norte-Centroamericano (Lent y Wygodzinsky, 1979; Jurberg y Galvão, 2006; Ramsey et al., 2015).

Especie	Distribución
<i>D. maxima</i>	México (BC sur)
<i>H. matsunoii</i>	norte de Perú
<i>Linshcosteus</i> sp.	India
<i>Pa. hirsuta</i>	Suroeste de EUA y noroeste de México
<i>T. barberi</i>	México (Colima, CDMX, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Tlaxcala)
<i>T. bolivari</i>	México (Jalisco)
<i>T. brailovsky</i>	México (Jalisco, Colima)
<i>T. dimidiata</i>	Centroamérica
<i>T. gerstaeckeri</i>	EUA (Nuevo México, Texas), México (Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, San Luis Potosí, Tamaulipas)
<i>T. huehuetenanguensis</i>	México (Chiapas, Campeche, Yucatán, Quintana Roo), Guatemala (Huehuetenango, Petén), Honduras (Yoro), Belice (Cayo)
<i>T. lecticularia</i>	EUA, México (Nuevo León)
<i>T. longipennis</i>	México (Aguascalientes, Chihuahua, Colima, Jalisco, Nayarit, Sinaloa, Zacatecas)
<i>T. mazzotti</i>	México (Durango, Guerrero, Michoacán, Oaxaca)
<i>T. migrans</i>	India (Sikkim), Indonesia (Borneo, Java, Sumatra), Malasia (Malaya, Sarawak), Filipinas, Tailandia
<i>T. mopan</i>	Belice (Cueva de Río Frío)
<i>T. nitida</i>	Costa Rica, Guatemala, Honduras, México (Yucatán)
<i>T. pallidipennis</i>	México (Colima, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Puebla)
<i>T. phyllossoma</i>	México (Oaxaca)
<i>T. picturata</i>	México (Colima, Jalisco, Nayarit, Oaxaca)
<i>T. protracta</i>	EUA, México (BC, Coahuila, Chihuahua, Durango, Nuevo León, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Zacatecas)
<i>T. recurva</i>	EUA (Arizona), México (Chihuahua, Nayarit, Sinaloa, Sonora)
<i>T. rubida</i>	EUA (Arizona, California, Texas, Nuevo México), México (BC, Nayarit, Sinaloa, Sonora, Veracruz)
<i>T. ryckmani</i>	Guatemala y Honduras
<i>T. sanguisuga</i>	EUA y México

Apéndice D. Distancias p sin corregir (derecha) y número de diferencias (izquierda) entre *T. mexicana* y los miembros del complejo *dimidiata* + *T. huehuetenanguensis* y entre *T. mexicana* y los miembros del complejo *phyllosoma*.

A) complejo *dimidiata*

		1	2	3	4	5	6
1	<i>T. dimidiata</i> Chiapas MX		0.036	0.038	0.062	0.105	0.114
2	<i>T. dimidiata</i> Heredia CR	55		0.016	0.058	0.101	0.112
3	<i>T. dimidiata</i> Guatemala GU	58	25		0.061	0.102	0.112
4	<i>T. dimidiata</i> Veracruz MX	94	89	93		0.098	0.109
5	<i>T. dimidiata</i> Yucatán MX	160	154	155	149		0.120
6	<i>T. mexicana</i>	173	170	171	166	183	

B) complejo *phyllosoma*

		1	2	3	4	5	6	7
1	<i>T. phyllosoma</i>		0.003	0.003	0.068	0.103	0.112	0.116
2	<i>T. mazzottii</i>	4		0.005	0.068	0.104	0.113	0.114
3	<i>T. longipennis</i>	4	8		0.068	0.102	0.113	0.118
4	<i>T. recurva</i>	104	104	103		0.098	0.109	0.106
5	<i>T. picturata</i>	157	159	156	150		0.102	0.109
6	<i>T. pallidipennis</i>	170	172	172	166	156		0.116
7	<i>T. mexicana</i>	177	173	179	162	166	177	