

**UNIVERSITAT
DE
VALÈNCIA**



**FACULTAT
DE
FARMÀCIA**

TESIS DOCTORAL
**PROGRAMA DE DOCTORADO “PARASITOLOGÍA HUMANA Y
ANIMAL”**

DEPARTAMENT DE FARMÀCIA I
TECNOLOGIA FARMACÈUTICA I PARASITOLOGIA
FACULTAT DE FARMÀCIA, UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

**DIVERSIDAD GENÉTICA DE LOS PRINCIPALES
VECTORES DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN
BRASIL: REPERCUSIONES EPIDEMIOLÓGICAS EN
EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD**

por

VÍVIAN CHAGAS LIMA

Directores

Dra. MARÍA DOLORES BARGUES CASTELLÓ

Profesora Catedrática de Parasitología
Departament de Farmàcia i
Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia
Facultat de Farmàcia, Universitat de València

Dr. Dr. h. c. SANTIAGO MAS-COMA

Profesor Catedrático de Parasitología
Departament de Farmàcia i
Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia
Facultat de Farmàcia, Universitat de València

Valencia, 2017

Los abajo firmantes Dra. MARÍA DOLORES BARGUES CASTELLÓ y Dr. Dr. h. c. SANTIAGO MAS-COMA, Profesores Catedráticos del Área de Parasitología del Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de València, por la presente:

CERTIFICAN: que Dña VÍVIAN CHAGAS LIMA ha realizado íntegramente el trabajo experimental titulado “DIVERSIDAD GENÉTICA DE LOS PRINCIPALES VECTORES DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN BRASIL: REPERCUSIONES EPIDEMIOLÓGICAS EN EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD” en el Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de València con el fin de optar al Grado de Doctora en Farmacia.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firman la presente, a 09 de Diciembre de 2016, Valencia.

Fdo. Dra. M. D. BARGUES CASTELLÓ

Fdo. Dr. S. MAS-COMA

*“Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor,
la electricidad y la energía atómica:
la voluntad”
Albert Einstein*

CHAGAS LIMA, VÍVIAN 2016.- “DIVERSIDAD GENÉTICA DE LOS PRINCIPALES VECTORES DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN BRASIL: REPERCUSIONES EPIDEMIOLÓGICAS EN EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD” TESIS DOCTORAL (DIRS. DRA. M.D. BARGUES, DR. S. MASCOMA), FACULTAT DE FARMÀCIA, UNIVERSITAT DE VALÈNCIA, VALENCIA 286 pp.

La enfermedad de Chagas, también llamada Tripanosomiasis Americana, es una enfermedad potencialmente mortal causada por el parásito protozoo *Trypanosoma cruzi*, es endémica de América Latina y transmitida, principalmente, por vectores hemípteros de la subfamilia Triatominae adaptados a los hábitats doméstico y peridoméstico. Puesto que el parásito se mantiene en un ciclo zoonótico silvestre y es imposible de eliminar, la única forma de luchar contra la transmisión vectorial consiste en la eliminación de las poblaciones domiciliadas del vector. Los estudios moleculares constituyen una herramienta de gran utilidad a la hora de planificar las campañas de control vectorial, puesto que permiten conocer y comprender la estructura poblacional y los procesos de dispersión y adaptación de estos insectos, los cuales presentan una amplia distribución en las diferentes zonas de América. Entre los principales países endémicos para esta parasitosis, se encuentra Brasil, donde están presentes 10 de los 15 géneros de vectores triatominos conocidos, y que, hasta el momento, 65 de las 148 especies descritas actualmente han sido encontradas en este país. La presente Tesis Doctoral tiene como principal objetivo la realización de un haplotipaje molecular multigénico de los principales vectores de la enfermedad de Chagas en Brasil (de los géneros *Triatoma*, *Panstrongylus* y *Rhodnius*) para contribuir a la vigilancia epidemiológica y al monitoramiento de la expansión geográfica de los triatominos, así como su proceso de domiciliación y transmisión de la enfermedad. En este estudio se han caracterizado a nivel molecular 18 especies procedentes de 36 poblaciones de 9 Estados brasileños y 2 países limítrofes (Perú y Venezuela), mediante la secuenciación y análisis de los marcadores moleculares del ADN ribosomal nuclear (región intergénica completa: ITS-1, 5.8S e ITS-2) y del ADN mitocondrial (16S, ND1, CO1 y CytB). Los resultados obtenidos han proporcionado: 30 haplotipos de la región intergénica completa (22 de éstos obtenidos por primera vez); 33 haplotipos nuevos del gen 16S; 29 haplotipos nucleotídicos (27 de éstos obtenidos por primera vez) y 26 haplotipos aminoacídicos (24 de éstos obtenidos por primera vez) del gen ND1 completo; 28 haplotipos nucleotídicos nuevos y 21 haplotipos aminoacídicos nuevos del gen CO1; y 30 haplotipos nucleotídicos (28 de éstos obtenidos por primera vez) y 28 haplotipos aminoacídicos (26 de éstos obtenidos por primera vez) del gen CytB. Esta combinación de marcadores ribosomales y mitocondriales ha permitido detectar la mayor variabilidad genética posible entre las diferentes especies analizadas. Además, se han llevado a cabo los análisis filogenéticos y de distancias genéticas, lo que ha permitido confirmar la posición taxonómica de las diferentes especies analizadas, con especial atención a los miembros del complejo *T. brasiliensis* (*T. brasiliensis*, *T. juazeirensis*, *T. melanica*, *T. sherlocki*, *T. lenti* y *T. petrocchiae*), y la posición de la especie *T. tibiamaculata*, que aparece compartiendo clado con las especies del género *Panstrongylus*. El análisis multigénico llevado a cabo en el presente estudio, ha aportado información fundamental para la identificación de las distintas especies de triatominos de la enfermedad de Chagas, y diferenciación entre especies crípticas. Estos resultados permiten, además, identificar el origen de los insectos

en nuevas colonizaciones y reinvasiones domiciliarias, así como los posibles cambios adaptativos para las resistencias a los insecticidas, lo que constituye una información clave para la correcta planificación de las acciones de control vectorial.

PALABRAS CLAVE

Enfermedad de Chagas, Triatominae, haplotipaje molecular, ITS-1, ITS-2, 16S, ND1, CO1, CytB, análisis filogenéticos, control vectorial, Brasil.

**Aos meus pais Marcos e Maria das Graças,
pelo exemplo de vida, amor, apoio e dedicação**

AGRADECIMIENTOS

Para la conclusión de esta Tesis Doctoral han participado diversas personas, cada una ha dejado una huella especial y significativa para que cada página pudiera ser escrita.

En primer lugar, quiero darles las gracias a mis directores, la Dra. María Dolores Bargues Castelló, Profesora Catedrática del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universitat de València, y el Dr. Santiago Mas-Coma, Profesor Catedrático del mismo Departamento, por acogerme en su grupo de investigación y por la confianza depositada en mí para la realización de este trabajo. Igualmente agradecerles a los dos por todo lo que me han enseñado, principalmente a perseverar ante una dificultad. A la Dra. Bargues quiero agradecerle la paciencia y apoyo en todos los pasos de la preparación de esta Tesis y por todo el conocimiento transmitido, no solamente sobre los vectores, la biología molecular y la enfermedad de Chagas, sino por hacerme entender que en la ciencia, lo más importante es no rendirse. Del Dr. Mas-Coma he aprendido que para ser un buen parasitólogo es fundamental entender que cada enfermedad tiene que ser vista de una manera global.

Agradecer a la Dra. María Adela Valero Aleixandre y al Dr. José Guillermo Esteban Sanchís por acogerme y por los conocimientos transmitidos. Asimismo, agradecer a los demás docentes del Departamento de Parasitología, Dr. Rafael Toledo Navarro, Dra. Carla Muñoz Antolí-Candela, Dr. Antonio Marcilla Díaz, Dra. María Trelis Villanueva, Dr. Màrius Vicent Fuentes i Ferrer y Dra. María Teresa Galán Puchades.

A todos que han colaborado en el envío de los materiales: en especial al Dr. Carlos Eduardo Almeida y al Dr. Jader Oliveira por la dedicación en la obtención y envío de las muestras; a la Dra. Lileia Diotaiuti y a la Dra. Raquel Aparecida Ferreira de la Coleção de Vetores da Doença de Chagas Fiocruz/COLVEC - Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ por toda la atención especial y la disponibilidad en la remisión de las muestras; al Dr. Israel Molina, por el transporte del material; a los miembros de la red ECLAT (European Community-Latin American Network for Research on the Biology and Control of Triatominae). Sin vosotros esta Tesis no habría sido llevada a cabo, ¡Muchas gracias!

Por supuesto, agradecer al personal de secretaria, Clemente Bañuls Rodilla y Luisa Goicoechea, por la ayuda recibida siempre que he necesitado.

A la Dra. Amparo Martínez Ramírez, Sección de Secuenciación de ADN y Proteínas del Servicio Central de Soporte a la Investigación Experimental (SCSIE), Universitat de València, por su amabilidad y paciencia.

A los parasitólogos Dr. Fernando Simón y Dra. Raquel Pacheco por el cariño y preocupación.

A mis compañeros de laboratorio, por haberme acogido de manera tan especial: Dr. Patricio Artigas, Dr. Messaoud Khoubbane, Dra. Ros Mary Flores y a mi parasito-hermana, Lucía Mateo. Gracias por todos estos días tan especiales, por todas las charlas y dudas resueltas, por todo el apoyo y cariño, por cada broma, sonrisa y consejo. ¡Muchas gracias, Dr. Patricio Artigas y futura doctora Mateo, mis “hermanos moleculares”, por

todo lo que me habéis enseñado y por la paciencia en resolver todas mis dudas siempre con una sonrisa en la cara, sin vosotros la “libreta negra” no hubiera podido ser rellenada!

Al Dr. David Osca por su ayuda y dedicación en los análisis filogenéticos llevados a cabo en la presente Tesis.

A mis queridas “parasitólogas”: Lucia Mateo, Dra. María J. Irisarri, Dra. Alba Cortés, Dra. Raquel Peixoto, Sonia Adam, María Ángeles Martínez, Alicia Galiano, Carla Quesada y Dra. Angela Debenedetti. Por ser las mejores compañeras y por hacer que cada día fuera tan especial. Gracias por las risas y por los consejos, habéis sido parte fundamental en esta caminata.

A los nuevos miembros de la parasitología de Valencia: Ray Seguí, Rodrigo Stheeck, Marta Reguera y Paloma Pérez, por el cariño y amistad.

A todos os meus amigos do Brasil (tenho certeza que cada um sabe muito bem quem mora no meu coração) pelo apoio e carinho.

A los amigos de Salamanca por cada momento único y especial que he pasado con vosotros.

A mis amigos de Valencia y a los mejores compañeros de piso (Lucia, Natalia, Cris, Silvia y Daniel) por estas charlas tan especiales y por todo el cariño recibido.

A mi marido, Pablo Martín Marcos, sin tu amor, cariño y apoyo no hubiera podido lograr este objetivo. ¡TQM!

A mis suegros, Hortensia Marcos y Domingo Martín, por haberme acogido como una hija y haberme apoyado siempre.

Aos meus familiares e amigas mais íntimas, as peças fundamentais da minha caminhada. Muito obrigada por todo o apoio, amor e compreensão! Em especial agradecer as minhas avós, Ivonete e Judite, pelo amor recebido, a Gabriela Torres por ser a minha companheira na Espanha e a Simone Raquel por ser a minha “irmã de alma” e ter sido a pessoa que me ajudou a tomar a decisão de fazer o doutorado.

Aos meus pais e irmãos, o pilar que sustenta a minha vida. Marcos Antônio, Graça, Marcos Alexandre e Jônatas, simplesmente AMO VOCÊS INFINITAMENTE!

Este estudio se ha llevado a cabo gracias a las financiaciones proporcionadas por distintos proyectos y programas de diferentes organismos e instituciones:

- Projeto 10150-13-7, Bolsa de estudos do programa Ciência sem Fronteiras - CAPES/Ministério de Educação do Brasil.
- Proyectos N° ISCIII-RETIC RD06/0021/0017 y RD12/0018/0001, de la Red de Investigación Colaborativa en Enfermedades Tropicales- RICET, ISCIII, Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid, España
- Proyectos PROMETEO/2012/042 y PROMETEO/2016/099 de la Generalitat Valenciana - Ayudas para grupos de investigación de excelencia- programa PROMETEO
- Proyecto 2014/14 - FGUV: SN07.A1414 de la Universitat de València, Vicerectorado de Internacionalización y Cooperación

ÍNDICE.....	15
Índice de Tablas.....	18
Índice de Figuras.....	29
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	33
1.1. LA ENFERMEDAD DE CHAGAS O TRIPANOSOMIASIS AMERICANA..	35
1.1.1. La enfermedad de Chagas: descubrimiento e historia.....	35
1.1.2. Visión general sobre la enfermedad de Chagas: ciclo de vida del parásito, epidemiología, clínica, diagnóstico y tratamiento	36
1.1.3. El control vectorial: precedentes y situación actual	41
1.2. LA SUBFAMILIA TRIATOMINAE: LOS VECTORES DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS	44
1.2.1. Clasificación sistemática y principales características	44
1.2.2. Los vectores de la enfermedad de Chagas en Brasil	46
1.2.2.1. Género <i>Triatoma</i> (Laporte, 1832)	50
1.2.2.2. Género <i>Panstrongylus</i> (Berg, 1879).....	61
1.2.2.3. Género <i>Rhodnius</i> (Stål, 1859)	66
1.3. CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE TRIATOMINOS MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES.....	71
1.3.1. Marcadores moleculares del ADN ribosomal nuclear.....	72
1.3.2. Marcadores moleculares del ADN mitocondrial.....	73
1.3.3. Ventajas y desventajas de marcadores ribosomales y mitocondriales	75
1.3.4. Tendencias actuales: estudios multigénicos y nuevos marcadores moleculares	76
1.3.5. Detección de pseudogenes.....	76
1.4. OBJETIVOS	78
1.4.1. Objetivo general	78
1.4.2. Objetivos específicos.....	78
CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	79
2.1. MATERIALES	81
2.1.1. Muestras biológicas	81
2.2. MÉTODOS	85
2.2.1. Selección de marcadores moleculares	85
2.2.1.1. Marcadores ribosomales nucleares.....	85
2.2.1.2. Marcadores mitocondriales.....	85
2.2.2. Extracción del ADN	85
2.2.3. Amplificación por PCR de los marcadores moleculares.....	86
2.2.4. Electroforesis en gel de agarosa	88

2.2.5. Purificación de los productos de PCR.....	88
2.2.6. Cuantificación y determinación de la pureza del ADN.....	88
2.2.7. Clonación de fragmentos de ADN en bacterias <i>E. coli</i> DH5 α	89
2.2.8. Secuenciación del ADN	90
2.2.9. Análisis de las secuencias.....	90
2.2.10. PCR en tiempo real.....	91
2.2.11. Análisis filogenéticos	93
CAPÍTULO III. RESULTADOS	95
3.1. ANÁLISIS DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO <i>TRIATOMA</i>	97
3.1.1. Resultados obtenidos en el estudio del ADN ribosomal nuclear (ADNr)...	97
3.1.1.1. Análisis de la región intergénica completa del ADNr.....	97
3.1.2. Resultados obtenidos en el estudio del ADN mitocondrial (ADNmt)	105
3.1.2.1. Análisis del gen 16S ARNr	105
3.1.2.2. Análisis de la subunidad I del gen NADH Deshidrogenasa (ND1)	115
3.1.2.3. Análisis de la subunidad I del gen Citocromo Oxidasa (CO1).....	127
3.1.2.4. Análisis del gen Citocromo B (CytB).....	142
3.2. ANÁLISIS DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO <i>PANSTRONGYLUS</i>	160
3.2.1. Resultados obtenidos en el estudio del ADN ribosomal nuclear (ADNr)..	160
3.2.1.1. Análisis de la región intergénica completa del ADNr	160
3.2.2. Resultados obtenidos en el estudio del ADN mitocondrial (ADNmt)	163
3.2.2.1. Análisis del gen 16S ARNr	164
3.2.2.2. Análisis de la subunidad I del gen NADH Deshidrogenasa (ND1)	167
3.2.2.3. Análisis de la subunidad I del gen Citocromo Oxidasa (CO1).....	171
3.2.2.4. Análisis del gen Citocromo B (CytB).....	176
3.3. ANÁLISIS DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO <i>RHODNIUS</i>	180
3.3.1. Resultados obtenidos en el estudio del ADN ribosomal nuclear (ADNr)..	180
3.3.1.1. Análisis de la región intergénica completa del ADNr	180
3.3.2. Resultados obtenidos en el estudio del ADN mitocondrial (ADNmt)	183
3.3.2.1. Análisis del gen 16S ARNr	183
3.3.2.2. Análisis de la subunidad I del gen NADH Deshidrogenasa (ND1)	186
3.3.2.3. Análisis de la subunidad I del gen Citocromo Oxidasa (CO1).....	189
3.3.2.4. Análisis del gen Citocromo B (CytB).....	193
3.4. DETECCIÓN DE PSEUDOGENES.....	199
CAPÍTULO IV. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS	201

4.1. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS DE LAS ESPECIES DE TRIATOMINOS ESTUDIADAS.....	203
4.1.1. Análisis filogenéticos en base a los marcadores moleculares del ADN ribosomal nuclear.....	203
4.1.2. Análisis filogenéticos en base a los marcadores moleculares del ADN mitocondrial.....	206
4.1.3. Análisis filogenéticos conjuntos de los marcadores moleculares del ADN ribosomal nuclear y del ADN mitocondrial.....	209
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN.....	215
5.1. LOS MARCADORES MOLECULARES Y LA TAXONOMÍA DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS	217
5.1.1. Género <i>Triatoma</i>	217
5.1.2. Género <i>Panstrongylus</i>	226
5.1.3. Género <i>Rhodnius</i>	229
5.2. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LOS TRIATOMINOS E IMPLICACIONES EN EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS ..	234
5.2.1. Distribución geográfica y el proceso de domiciliación vectorial	234
5.2.2. Implicaciones en el control de la enfermedad	238
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES.....	245
CAPÍTULO VII. BIBLIOGRAFÍA	253
APÉNDICE.....	281

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación sistemática actual de la subfamilia Triatominae.....	45
Tabla 2. Nuevos casos de enfermedad de Chagas en Brasil por Región y Estado de notificación en el año 2014.....	48
Tabla 3. Distribución de las 65 especies de triatomíneos conocidas en los 27 Estados de Brasil.....	49
Tabla 4. Características de los marcadores del ADN mitocondrial más utilizados en los estudios filogenéticos de triatomíneos	74
Tabla 5. Especies estudiadas, procedencia geográfica de las muestras biológicas y número de muestras analizadas de cada localidad	83
Tabla 6. Composición de la mezcla de PCR	87
Tabla 7. Composición de la PCR de marcaje	90
Tabla 8. Composición de la mezcla de reacción de la PCR en tiempo real	93
Tabla 9. Posiciones variables halladas entre los haplotipos de la región intergénica completa de <i>T. pseudomaculata</i>	98
Tabla 10. Posiciones variables halladas entre el haplotipo de la región intergénica completa de <i>T. sordida</i> obtenido y el haplotipo de la región intergénica completa de esta especie publicado en GenBank.....	98
Tabla 11. Posiciones variables halladas entre los haplotipos de la región intergénica completa de <i>T. brasiliensis</i> obtenidos y los haplotipos de la región intergénica completa de esta especie publicados en GenBank que presentan una mayor homología.....	99
Tabla 12. Posición variable hallada entre el haplotipo de la región intergénica completa de <i>T. juazeirensis</i> obtenido y los haplotipos de la región intergénica completa de esta especie publicados en GenBank	100
Tabla 13. Posiciones variables halladas entre el haplotipo de la región intergénica completa de <i>T. sherlocki</i> obtenido y los haplotipos de la región intergénica completa de esta especie publicados en GenBank	100
Tabla 14. Posición variable hallada entre el haplotipo de la región intergénica completa de <i>T. melanica</i> obtenido y el haplotipo de la región intergénica completa de esta especie publicado en GenBank.....	101
Tabla 15. Posiciones variables halladas entre los haplotipos de la región intergénica completa de <i>T. petrocchia</i> obtenidos en la presente Tesis.....	102
Tabla 16. Posición variable hallada entre los haplotipos de la región intergénica completa de <i>T. melanocephala</i> obtenidos en la presente Tesis.....	102

Tabla 17. Posiciones variables halladas entre los haplotipos de la región intergénica completa de <i>T. vitticeps</i> obtenidos en la presente Tesis	103
Tabla 18. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de los haplotipos de la región intergénica completa de las especies del género <i>Triatoma</i> obtenidos en la presente Tesis.....	104
Tabla 19. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de <i>T. pseudomaculata</i> obtenidos y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que presentan una mayor homología.....	106
Tabla 20. Posiciones variables halladas entre el haplotipo obtenido en la presente Tesis para el gen 16S de <i>T. sordida</i> y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología	107
Tabla 21. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de <i>T. brasiliensis</i> obtenidos y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología.....	108
Tabla 22. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de <i>T. juazeirensis</i> obtenidos y los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank	108
Tabla 23. Posición variable hallada entre los haplotipos del gen 16S de <i>T. sherlocki</i> obtenidos y los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank	109
Tabla 24. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de <i>T. melanica</i> obtenido y los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank	110
Tabla 25. Posiciones variables halladas entre el haplotipo del gen 16S de <i>T. lenti</i> obtenido y el haplotipo del gen 16S de la especie más próxima publicado en GenBank	110
Tabla 26. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de <i>T. petrocchia</i> obtenidos en la presente Tesis	111
Tabla 27. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de <i>T. melanocephala</i> obtenidos y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank	111
Tabla 28. Posiciones variables halladas entre el haplotipo del gen 16S de <i>T. tibiamaculata</i> obtenido y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología.....	112
Tabla 29. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de <i>T. vitticeps</i> obtenidos y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología.....	113
Tabla 30. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de todas los haplotipos del gen 16S ARNr de todas las especies del género <i>Triatoma</i> analizadas en la presente Tesis.	114

Tabla 31. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de <i>T. sordida</i> obtenido y el haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie publicado en GenBank.....	116
Tabla 32. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen ND1 de <i>T. sordida</i> obtenido y el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen ND1 de esta especie publicado en GenBank	116
Tabla 33. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de <i>T. brasiliensis</i> obtenidos y el haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie publicado en GenBank.....	117
Tabla 34. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 de <i>T. brasiliensis</i> obtenidos y el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen ND1 de esta especie publicado en GenBank	118
Tabla 35. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de <i>T. juazeirensis</i> obtenidos en la presente Tesis	119
Tabla 36. Posición variable hallada entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 de <i>T. juazeirensis</i> obtenidos en la presente Tesis.....	119
Tabla 37. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de <i>T. sherlocki</i> obtenidos en la presente Tesis.....	120
Tabla 38. Posición variable hallada entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 de <i>T. sherlocki</i> obtenidos en la presente Tesis	120
Tabla 39. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de <i>T. lenti</i> obtenidos en la presente Tesis	121
Tabla 40. Posición variable hallada entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 de <i>T. lenti</i> obtenidos en la presente Tesis.....	122
Tabla 41. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de <i>T. petrocchiae</i> obtenidos en la presente Tesis	122
Tabla 42. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de <i>T. melanocephala</i> obtenidos en la presente Tesis.....	123
Tabla 43. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 de <i>T. melanocephala</i> obtenidos en la presente Tesis	123
Tabla 44. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas, codones de inicio y parada y procedencia geográfica de los haplotipos del gen ND1 completo de todas las especies del género <i>Triatoma</i> obtenidos en la presente Tesis...	125
Tabla 45. Número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos obtenidos para la proteína codificada por el gen ND1 de las especies del género <i>Triatoma</i> analizadas en la presente Tesis	126

Tabla 46. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de <i>T. pseudomaculata</i> obtenidos y el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de esta especie publicado en GenBank que ha presentado una mayor homología.....	128
Tabla 47. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de <i>T. pseudomaculata</i> obtenidos y el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicado en GenBank que ha presentado mayor homología.....	128
Tabla 48. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de <i>T. sordida</i> obtenido y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	129
Tabla 49. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CO1 de <i>T. sordida</i> obtenido y los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	129
Tabla 50. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos obtenidos del gen CO1 de <i>T. brasiliensis</i> obtenidos y los 3 haplotipos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	130
Tabla 51. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de <i>T. brasiliensis</i> obtenidos y los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	131
Tabla 52. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de <i>T. juazeirensis</i> obtenidos y el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de esta especie publicado en GenBank.....	132
Tabla 53. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de <i>T. sherlocki</i> obtenidos y los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank.....	133
Tabla 54. Posición variable hallada entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de <i>T. sherlocki</i> obtenidos y los 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicados en GenBank.....	133
Tabla 55. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de <i>T. melanica</i> obtenido y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología.....	134
Tabla 56. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CO1 de <i>T. melanica</i> obtenido y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología.....	134
Tabla 57. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de <i>T. lenti</i> obtenidos en la presente Tesis	135

Tabla 58. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de <i>T. petrocchiae</i> obtenidos en la presente Tesis	135
Tabla 59. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de <i>T. melanocephala</i> obtenidos y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank	136
Tabla 60. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de <i>T. melanocephala</i> obtenidos y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicados en GenBank	137
Tabla 61. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de <i>T. tibiamaculata</i> obtenido y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank	137
Tabla 62. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CO1 de <i>T. tibiamaculata</i> obtenido y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicados en GenBank	138
Tabla 63. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de <i>T. vitticeps</i> obtenido y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	139
Tabla 64. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica en adeninas y timinas y procedencia geográfica de todos los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de las especies del género <i>Triatoma</i> obtenidos en la presente Tesis.....	140
Tabla 65. Número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de las especies del género <i>Triatoma</i> obtenidos en la presente Tesis	141
Tabla 66. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CytB de <i>T. pseudomaculata</i> obtenido y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	143
Tabla 67. Posición variable hallada entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CytB de <i>T. pseudomaculata</i> obtenido y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	143
Tabla 68. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CytB de <i>T. sordida</i> obtenido y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	144
Tabla 69. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CytB de <i>T. sordida</i> obtenido y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	144

Tabla 70. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de <i>T. brasiliensis</i> obtenidos y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	145
Tabla 71. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de <i>T. brasiliensis</i> obtenidos y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	146
Tabla 72. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CytB de <i>T. juazeirensis</i> obtenido y el haplotipo nucleotídico del gen CytB de esta especie publicado en GenBank.....	147
Tabla 73. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de <i>T. juazeirensis</i> obtenidos y los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank.....	148
Tabla 74. Posición variable hallada entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de <i>T. sherlocki</i> obtenidos y los 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicados en GenBank.....	148
Tabla 75. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CytB completo de <i>T. melanica</i> obtenido y los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank.....	149
Tabla 76. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CytB completo de <i>T. melanica</i> obtenido y los 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicados en GenBank.....	150
Tabla 77. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CytB completo de <i>T. lenti</i> obtenidos y el haplotipo nucleotídico del gen CytB de esta especie publicado en GenBank.....	150
Tabla 78. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB completo de <i>T. lenti</i> obtenidos y el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicado en GenBank.....	151
Tabla 79. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de <i>T. petrocchiae</i> obtenidos en la presente Tesis.....	151
Tabla 80. Posición variable hallada entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de <i>T. petrocchiae</i> obtenidos en la presente Tesis.....	152
Tabla 81. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de <i>T. melanocephala</i> obtenidos y los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank.....	153
Tabla 82. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de <i>T. melanocephala</i> obtenidos y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie publicados en GenBank.....	153

Tabla 83. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CytB de <i>T. tibiamaculata</i> obtenido y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank	154
Tabla 84. Posición variable hallada entre el haplotipo aminoacídico de la proteína CytB de <i>T. tibiamaculata</i> obtenido y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie publicados en GenBank	155
Tabla 85. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CytB de <i>T. vitticeps</i> obtenido y los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	155
Tabla 86. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica en adeninas y timinas y procedencia geográfica de todos los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de todas las especies del género <i>Triatoma</i> obtenidos en la presente Tesis	157
Tabla 87. Número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de las especies del género <i>Triatoma</i> analizadas en la presente Tesis	158
Tabla 88. Posiciones variables halladas entre los haplotipos de la región intergénica completa de <i>P. megistus</i> obtenidos y los 3 haplotipos de la región intergénica completa de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	161
Tabla 89. Posiciones variables halladas entre el haplotipo de la región intergénica completa de <i>P. geniculatus</i> obtenido y las secuencias del ITS-1 e ITS-2 de esta especie publicadas en GenBank	162
Tabla 90. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de todas los haplotipos de la región intergénica de las especies del género <i>Panstrongylus</i> obtenidos en la presente Tesis	163
Tabla 91. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de <i>P. megistus</i> obtenidos y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	165
Tabla 92. Posiciones variables halladas entre el haplotipo del gen 16S de <i>P. geniculatus</i> obtenido y los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank	165
Tabla 93. Posiciones variables halladas entre el haplotipo del gen 16S de <i>P. lutzi</i> obtenido y los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank.....	166
Tabla 94. Posiciones variables halladas entre el haplotipo del gen 16S de <i>P. herreri</i> obtenido y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank.....	166
Tabla 95. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de todos los haplotipos del gen 16S de las especies del género <i>Panstrongylus</i> obtenidos en la presente Tesis	167
Tabla 96. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de <i>P. megistus</i> obtenidos en la presente Tesis	168

Tabla 97. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína ND1 de <i>P. megistus</i> obtenidos en la presente Tesis	168
Tabla 98. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de <i>P. geniculatus</i> obtenido y el haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie publicado en GenBank.....	169
Tabla 99. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de <i>P. geniculatus</i> obtenido y el haplotipo de la proteína ND1 de esta especie publicado en GenBank ...	169
Tabla 100. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas, codones de inicio y parada y procedencia geográfica de todos los haplotipos del gen ND1 de las especies estudiadas del género <i>Panstrongylus</i> obtenidos en la presente Tesis ..	170
Tabla 101. Número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 de las especies del género <i>Panstrongylus</i> obtenidos en la presente Tesis	171
Tabla 102. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de <i>P. megistus</i> obtenidos y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicado en GenBank que han presentado mayor homología	172
Tabla 103. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de <i>P. megistus</i> obtenidos y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	173
Tabla 104. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de <i>P. herreri</i> obtenido y el haplotipo del gen CO1 de esta especie publicado en GenBank	174
Tabla 105. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CO1 de <i>P. herreri</i> obtenido y el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicado en GenBank	174
Tabla 106. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de todos los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de las especies del género <i>Panstrongylus</i> obtenidos en la presente Tesis.....	175
Tabla 107. Número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de las especies del género <i>Panstrongylus</i> obtenidos en la presente Tesis	175
Tabla 108. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de <i>P. megistus</i> obtenidos y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	176
Tabla 109. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos obtenidos de la proteína codificada por el gen CytB de <i>P. megistus</i> y las 3 secuencias publicadas en GenBank de esta especie que han presentado mayor homología	177

Tabla 110. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CytB de <i>P. herreri</i> obtenido y el haplotipo nucleotídico del gen CytB de <i>P. lignarius</i> publicado en GenBank	178
Tabla 111. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CytB de <i>P. herreri</i> y el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CytB de <i>P. lignarius</i> publicado en GenBank.....	178
Tabla 112. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de las especies del género <i>Panstrongylus</i> obtenidos en la presente Tesis	179
Tabla 113. Número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de las especies del género <i>Panstrongylus</i> obtenidos en la presente Tesis	179
Tabla 114. Posiciones variables halladas entre los haplotipos de la región intergénica completa de <i>R. robustus</i> obtenidos y el haplotipo del ITS-1 de esta especie publicado en GenBank	181
Tabla 115. Posiciones variables halladas entre los haplotipos obtenidos de la región intergénica completa de <i>R. pictipes</i> y las secuencia del ITS-2 de esta especie publicada en GenBank	181
Tabla 116. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de los haplotipos de la región intergénica completa de las especies del género <i>Rhodnius</i> obtenidos en la presente Tesis	182
Tabla 117. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de <i>R. neglectus</i> obtenidos y los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank	184
Tabla 118. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de <i>R. robustus</i> obtenidos y los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank	184
Tabla 119. Posiciones variables halladas entre el haplotipo del gen 16S de <i>R. pictipes</i> obtenido y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología.....	185
Tabla 120. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de los haplotipos del gen 16S de las especies del género <i>Rhodnius</i> obtenidos en la presente Tesis	185
Tabla 121. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de <i>R. pictipes</i> obtenidos en la presente Tesis.....	187
Tabla 122. Posición variable hallada entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 completo de <i>R. pictipes</i> obtenidos en la presente Tesis	188
Tabla 123. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas, codones de inicio y parada y procedencia geográfica de todos los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de las especies del género <i>Rhodnius</i> obtenidos en la presente Tesis	188

Tabla 124. Número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 de las especies del género <i>Rhodnius</i> obtenidos en la presente Tesis	189
Tabla 125. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de <i>R. pictipes</i> obtenidos y los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank	191
Tabla 126. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de <i>R. pictipes</i> y los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicados en GenBank.....	191
Tabla 127. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de todos los haplotipos del gen CO1 de las especies del género <i>Rhodnius</i> obtenidos en la presente Tesis	192
Tabla 128. Número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de las especies del género <i>Rhodnius</i> obtenidos en la presente Tesis	192
Tabla 129. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CytB de <i>R. neglectus</i> obtenido y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	193
Tabla 130. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CytB de <i>R. neglectus</i> obtenido y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	194
Tabla 131. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de <i>R. robustus</i> obtenidos y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	195
Tabla 132. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de <i>R. robustus</i> obtenidos y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología.....	195
Tabla 133. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de <i>R. pictipes</i> obtenidos y los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank	196
Tabla 134. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de <i>R. pictipes</i> obtenidos y los 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicados en GenBank	196
Tabla 135. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de todos los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de las especies del género <i>Rhodnius</i> obtenidos en la presente Tesis	197

Tabla 136. Número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en la presente Tesis 197

Tabla 137. Especies, procedencia geográfica y haplotipos (con número de acceso de GenBank), de los diferentes marcadores moleculares utilizados en los análisis filogenéticos llevados a cabo en el presente estudio 213

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Berenice, niña en la que Carlos Chagas diagnosticó <i>T. cruzi</i> por primera vez..	35
Figura 2. Carlos Chagas en el Instituto Oswaldo Cruz y con su equipo de trabajo en Lassance, Minas Gerais, Brasil (1908), donde vio por primera vez el vector de la enfermedad	36
Figura 3. Ciclo de vida del <i>T. cruzi</i>	38
Figura 4. Primeros signos de la enfermedad de Chagas: chagoma de inoculación (A) y signo de Romaña (B)	40
Figura 5. Mapa físico de Brasil con la distribución de los 26 Estados y el Distrito Federal en las cinco grandes regiones	47
Figura 6. Ejemplar adulto de <i>T. pseudomaculata</i> (A) (http://triatology.cpqrr.fiocruz.br) y distribución geográfica de <i>T. pseudomaculata</i> en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).	51
Figura 7. Ejemplar adulto de <i>T. sordida</i> (A) (http://triatology.cpqrr.fiocruz.br) y distribución geográfica de <i>T. sordida</i> en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).	52
Figura 8. Ejemplares adultos de <i>T. b. macromelasoma</i> (A) y <i>T. b. brasiliensis</i> (B) (adaptado de Costa <i>et al.</i> , 2013) y distribución geográfica de <i>T. brasiliensis</i> en Brasil (C) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).	53
Figura 9. Ejemplar adulto de <i>T. juazeirensis</i> (A) (http://triatology.cpqrr.fiocruz.br) y distribución geográfica de <i>T. juazeirensis</i> en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).	54
Figura 10. Ejemplar adulto de <i>T. melanica</i> (A) (http://triatology.cpqrr.fiocruz.br) y distribución geográfica de <i>T. melanica</i> en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).	55
Figura 11. Ejemplar adulto de <i>T. sherlocki</i> (A) y distribución geográfica de <i>T. sherlocki</i> en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).	55
Figura 12. Ejemplar adulto de <i>T. lenti</i> (A) (http://triatology.cpqrr.fiocruz.br) y distribución geográfica de <i>T. lenti</i> en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).	57
Figura 13. Ejemplar adulto de <i>T. petrocchiae</i> (A) (http://triatology.cpqrr.fiocruz.br) y distribución geográfica de <i>T. petrocchiae</i> en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).	58
Figura 14. Ejemplar adulto de <i>T. melanocephala</i> (A) (http://triatology.cpqrr.fiocruz.br) y distribución geográfica de <i>T. melanocephala</i> en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).	59

Figura 15. Ejemplar adulto de <i>T. tibiamaculata</i> (A) (http://triatology.cpqrr.fiocruz.br) y distribución geográfica de <i>T. tibiamaculata</i> en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).....	60
Figura 16. Ejemplar adulto de <i>T. vitticeps</i> (A) (http://triatology.cpqrr.fiocruz.br) y distribución geográfica de <i>T. vitticeps</i> en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).....	61
Figura 17. Ejemplar adulto de <i>P. megistus</i> (A) (http://triatology.cpqrr.fiocruz.br) y distribución geográfica de <i>P. megistus</i> en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).....	63
Figura 18. Ejemplar adulto de <i>P. geniculatus</i> (A) (http://triatology.cpqrr.fiocruz.br) y distribución geográfica de <i>P. geniculatus</i> en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).....	64
Figura 19. Ejemplar adulto de <i>P. lutzii</i> (A) (http://triatology.cpqrr.fiocruz.br) y distribución geográfica de <i>P. lutzii</i> en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).....	65
Figura 20. Ejemplar adulto de <i>P. herreri</i> (A) (http://triatology.cpqrr.fiocruz.br) y distribución geográfica de <i>P. herreri</i> en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).....	66
Figura 21. Ejemplar adulto de <i>R. neglectus</i> (A) (http://triatology.cpqrr.fiocruz.br) y distribución geográfica de <i>R. neglectus</i> en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).....	68
Figura 22. Ejemplar adulto de <i>R. robustus</i> (A) (http://triatology.cpqrr.fiocruz.br) y distribución geográfica de <i>R. robustus</i> en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).....	69
Figura 23. Ejemplar adulto de <i>R. pictipes</i> (A) (http://triatology.cpqrr.fiocruz.br) y distribución geográfica de <i>R. pictipes</i> en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).....	70
Figura 24. Esquema del ADN ribosomal nuclear eucariota.....	72
Figura 25. Esquema del ADN mitocondrial completo de <i>T. dimidata</i>	75
Figura 26. Procedencia geográfica de las muestras analizadas.....	84
Figura 27. Árbol filogenético en base a la región intergénica completa de todas las especies estudiadas. Se ha utilizado la secuencia de la especie <i>C. lectularius</i> como grupo externo. La barra de escala indica el número de sustituciones por posición de la secuencia. El valor de soporte de los nodos ha sido obtenido con el software RAxML mediante el método filogenético de Máxima Verosimilitud, 1.000 réplicas.....	205
Figura 28. Árbol filogenético en base a los marcadores del ADN mitocondrial. Se ha utilizado la secuencia de la especie <i>C. lectularius</i> como grupo externo. La barra de escala indica el número de sustituciones por posición de la secuencia. El valor de soporte de los	

nodos ha sido obtenido con el software RAxML mediante el método filogenético de Máxima Verosimilitud, 1.000 réplicas 208

Figura 29. Árbol filogenético conjunto de los marcadores del ADN ribosomal nuclear y del ADN mitocondrial. Se ha utilizado la secuencia de la especie *C. lectularius* como grupo externo. La barra de escala indica el número de sustituciones por posición de la secuencia. El valor de soporte de los nodos ha sido obtenido con el software RAxML mediante el método filogenético de Máxima Verosimilitud, 1.000 réplicas..... 211

Figura 30. Zonas de distribución de especies del complejo *T. brasiliensis* en Brasil, donde se puede observar las posibles zonas de solapamiento..... 237

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1.1. LA ENFERMEDAD DE CHAGAS O TRIPANOSOMIASIS AMERICANA

La enfermedad de Chagas, también llamada Tripanosomiasis Americana, es una enfermedad potencialmente mortal causada por el parásito protozoo *Trypanosoma cruzi* y transmitida por insectos triatominos. Se encuentra sobre todo en zonas endémicas de 21 países de América Latina y está considerada como una de las más importantes “Enfermedades Tropicales Desatendidas” o “Neglected Tropical Diseases” que son “un conjunto de enfermedades infecciosas, muchas de ellas parasitarias, que afectan principalmente a las poblaciones más pobres y con un limitado acceso a los servicios de salud, especialmente aquellos que viven en áreas rurales remotas y en barrios marginales” (WHO, 2015).

1.1.1. La enfermedad de Chagas: descubrimiento e historia

En 1907, el médico brasileño Carlos Chagas (1879-1934) viajó a petición del sanitarista Oswaldo Cruz al norte del Estado brasileño de Minas Gerais, donde se estaba construyendo el ferrocarril, para trabajar en una campaña antipalúdica. Pasado un año de su presencia en la región, Chagas “conoció” el insecto hematófago vulgarmente conocido como “barbeiro”. Alertado por la presencia de estos insectos en el interior de las casas de la región, decidió investigar la posibilidad de transmisión de algún parásito al ser humano, ya que a parte de malaria, encontró pacientes con cuadros clínicos de difícil interpretación.

Analizando tales insectos, encontró parásitos flagelados en su intestino, lo que creyó ser formas de *Trypanosoma minasense*, especie que infectaba a determinados monos de la región. Al volver a Rio de Janeiro y analizar los insectos y monos infectados, Carlos Chagas verificó que se trataba de una nueva especie de tripanosomátido, al cual, en homenaje a su maestro Oswaldo Cruz, lo denominó *Schizotrypanum cruzi*. En un inicio, él pensaba que era un nuevo género, y, posteriormente, se cambió su clasificación a *Trypanosoma cruzi*. Poco tiempo después retornó a la región de Minas Gerais para intentar identificar el hospedador vertebrado del parásito y encontró un gato y una niña infectados con *T. cruzi* (Chagas Filho, 1968).

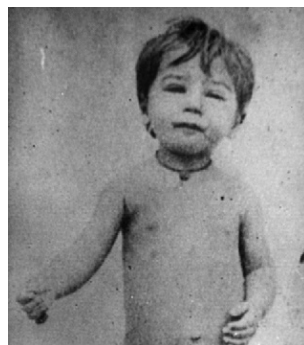


Figura 1. Berenice, niña en la que Carlos Chagas diagnosticó *T. cruzi* por primera vez. Fuente: Archivos del Instituto Oswaldo Cruz.

Entre 1909 y 1912, Carlos Chagas describió una nueva enfermedad, su agente etiológico, sus reservorios naturales y su transmisor, a parte de las características clínicas y epidemiológicas de la enfermedad, caso único en la historia de la medicina (Chagas, 1909).

I. INTRODUCCIÓN

A parte de todas las características de la enfermedad, Carlos Chagas también se percató de que era un problema de salud pública importante. En publicaciones (Chagas, 1911), fotos y películas, él mostró al país entero que “esta “nueva tripanosomiasis” alcanzaba enormes áreas de Minas Gerais y otros Estados brasileños y que podría poner en peligro la vitalidad y productividad de las personas rurales en el país”.

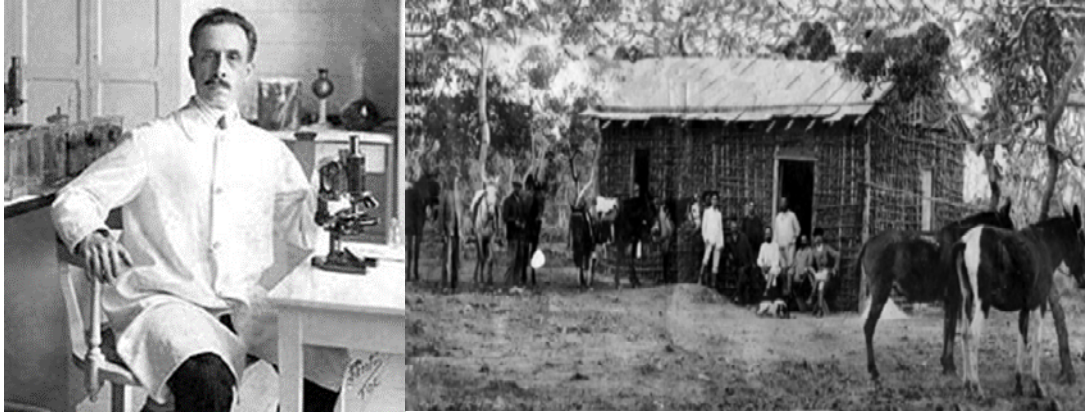


Figura 2. Carlos Chagas en el Instituto Oswaldo Cruz (izquierda) y con su equipo de trabajo en Lassance, Minas Gerais, Brasil (1908), donde vio por primera vez el vector de la enfermedad (derecha). Fuente: Archivos del Instituto Oswaldo Cruz.

Aunque hace alrededor de un siglo que se describió por primera vez la enfermedad de Chagas, se cree que el “antepasado de *T. cruzi*” probablemente fue introducido en América del Sur vía murciélagos hace aproximadamente 7-10 millones de años (Baker *et al.*, 1978; Hamilton *et al.*, 2012). Datos paleoparasitológicos sugieren que la Tripanosomiasis Americana humana proviene del área Andina, cuando se fundó los primeros establecimientos en la región costera del desierto de Atacama (Araújo *et al.*, 2009). La detección más temprana de una infección por *T. cruzi* en un humano proviene de una momia Chinchorro (primeras poblaciones de la región costera del desierto de Atacama en Perú del sur y Chile del norte) de 9000 años, comprobada por la amplificación por PCR de secuencias de ADN del kinetoplasto del parásito (Rothhammer *et al.*, 1985; Aufderheide *et al.*, 2004). Todo esto demuestra que la tripanosomiasis americana ya se presentaba como un problema de salud pública desde la época precolombina.

1.1.2. Visión general sobre la enfermedad de Chagas: ciclo de vida del parásito, epidemiología, clínica, diagnóstico y tratamiento

Ciclo de vida del parásito

El agente causal de la enfermedad de Chagas es el parásito *Trypanosoma cruzi*, protozoo flagelado microscópico cuya posición sistemática es la siguiente (Levine *et al.*, 1980):

Reino PROTISTA Haeckel, 1866

Subreino PROTOZOA Goldfuss, 1818; emend. Levine *et al.* (1980)

Phylum SARCOMASTIGOPHORA Honigberg and Balaniuth, 1963;
emend. Levine *et al.* (1980)

Subphylum MASTIGOPHORA Diesing, 1866; Levine *et al.* (1980)

Clase ZOOMASTIGOPHOREA Calkins, 1909

Orden KINETOPLASTIDA Honigberg, 1963

Familia TRYPANOSOMATIDAE Doflein, 1901; emend. Grobбен, 1905

Género *Trypanosoma* Gruby, 1843

Subgénero *Schizotrypanum* Chagas, 1909

El ciclo de vida de *T. cruzi* se desenvuelve entre dos hospedadores, el triatomino vector y un mamífero, a través de los cuales el parásito pasa por tres estadios diferenciados: tripomastigotes, epimastigotes y amastigotes.

El ciclo empieza cuando un triatomino vector pica a un hospedador vertebrado infectado y junto con la sangre ingiere formas tripomastigotas del parásito. Estos tripomastigotes en el insecto se transforman en epimastigotes que en el intestino medio se multiplican rápidamente por división binaria transformándose después en tripomastigotes metacíclicos, la forma infectante para el hospedador vertebrado. Posteriormente, cuando el triatomino vuelve a alimentarse, estas formas metacíclicas salen a través de sus deyecciones y penetran por la herida de la picadura o a través de una mucosa (ojos, nariz o boca) e invaden las células epiteliales. En el hospedador vertebrado se transforma en amastigotes intracelulares, se replican y se transforman en tripomastigotes, los cuales van a romper las células y salir al torrente sanguíneo. Posteriormente, se diseminan por el organismo e invaden nuevas células (Chagas, 1913; De Souza, 2002).

Actualmente, este parásito se encuentra circulando por la naturaleza entre más de un centenar de especies de mamíferos distribuidos en siete órdenes diferentes y decenas de especies de vectores. Además, los ciclos de transmisión del *T. cruzi* son multivariantes y complejos ya que se encuentran en diferentes regiones fitogeográficas y en diversos nichos ecológicos, lo que contribuye a que cada tipo de ecotopo presente focos de transmisión con perfiles epidemiológicos distintos (Schofield, 2000; Noireau *et al.*, 2009).

I. INTRODUCCIÓN

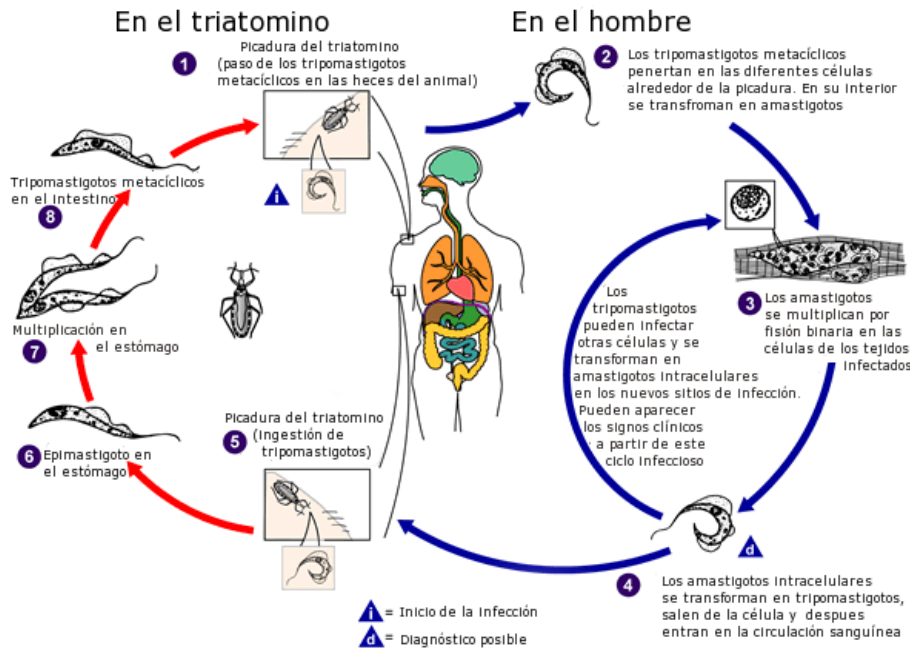


Figura 3. Ciclo de vida del *T. cruzi* (Figura obtenida y modificada de CDC – Centers for Disease Control and Prevention: <http://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>).

A parte de la complejidad de las asociaciones parásito – vector – hospedador, hay que resaltar la gran variabilidad genética y biológica que presenta esta especie de *Trypanosoma*, lo que ha llevado a diferentes clasificaciones, según biotopos, zimotopos o grupos genéticos. En 2009 se estableció una nomenclatura única, la cual ha sido revisada en 2012, donde se clasifica a *T. cruzi* en 6 grupos genéticos o DTUs (de la sigla en inglés “Discret Typing Units”): TcI a TcVI, presentando distribuciones diferentes, como por ejemplo TcII, TcIV y TcV que predominan en el cono sur (Zingales *et al.*, 2009; 2012).

Epidemiología

Desde el principio Carlos Chagas ya sospechaba que “*la transmisión de la enfermedad trascendería las zonas rurales de Minas Gerais*” (Chagas, 1909). En 1911, en una conferencia realizada en la Academia Nacional de Medicina de Brasil, él ya afirmaba que “*...la extensión e intensidad endémica serán inmensas en algunas zonas, especialmente entre las poblaciones rurales*”.

En efecto, mientras se iba obteniendo más conocimiento, se observó que la distribución de los triatominos vectores abarcaba un área muy amplia, entre los 40° de latitud norte y 46° de latitud sur, con registros de infección humana autóctona desde el sur de los Estados Unidos hasta la Provincia de Chubut en Argentina (Zeledón, 1972; Marsden, 1983; Carcavallo *et al.*, 1999).

Actualmente, se calcula que hay alrededor de 7 millones de personas infectadas con *T. cruzi* en el mundo, la mayoría de ellas en América Latina, donde la enfermedad es endémica en 21 países: Argentina, Belice, Venezuela, Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Guyana, Guyana Francesa, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, Bolivia, Surinam y Uruguay.

La enfermedad de Chagas es uno de los mayores problemas de salud en América Latina, donde causa la muerte de más de 7000 personas al año y se estima que hay más de 25 millones de personas en peligro de contraer la enfermedad. Está considerada una de las enfermedades parasitarias más importante en América en términos de impacto socioeconómico, estimándose pérdidas de 662.000 años potenciales de vida activa por incapacidad o mortalidad (DALYs) (Hotez *et al.*, 2008; WHO, 2015).

En América Latina la principal vía de transmisión es la vectorial, a través del contacto con las heces infectadas de los insectos hematófagos de la subfamilia Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). Aunque la forma más importante de transmisión sea la vectorial, *T. cruzi* también puede ser transmitido por: (i) alimentos contaminados con el parásito (con las heces de los insectos triatominos), (ii) transfusión sanguínea, (iii) trasplante de órganos, (iv) transmisión congénita y (v) accidentes de laboratorio (Dias & Schofield, 1999; Coura, 2015).

Primitivamente, la circulación del parásito estaba restringida a los mamíferos y los triatominos silvestres, caracterizándose como una zoonosis – era una enfermedad de animales silvestres, transmitida por especies silvestres del insecto vector. La intervención del hombre sobre el ambiente, ha promovido el desplazamiento de los triatominos de sus ecotopos silvestres, los cuales han encontrado en las viviendas humanas, cuando mal construida o conservada, y en su entorno peridomiciliar, las condiciones ideales de abrigo y supervivencia (Forattini, 1980; Schofield *et al.*, 1999).

A parte del importante proceso de domiciliación de los vectores, otro gran problema en términos epidemiológicos que hay que destacar es la “globalización” de la enfermedad. La inmigración masiva de latinoamericanos desde los países endémicos a otros continentes, como Europa y Norteamérica, ha hecho con que aparezcan casos en zonas no endémicas, transmitidos a través de transfusión sanguínea, trasplante de órganos y por vía congénita. Todo ello ha hecho que esta parasitosis, antes una simple zoonosis que afectaba la población más pobre del medio rural de Latinoamérica, alcance niveles mundiales, sin distinción de medio y nivel socio-económico. Esta actual situación epidemiológica pone de manifiesto que si esta enfermedad no es abordada adecuadamente, puede llegar a convertirse en una importante amenaza para la salud global (Coura & Viñas, 2010; Coura *et al.*, 2014; Pinazo & Gascon, 2015).

Clínica

El vector triatomino parasitado al picar a un humano defeca próximo al local de la picadura. Las heces depositadas contiene la forma infectante del parásito, que al penetrar por la herida o mucosa puede llevar al surgimiento de los llamados “señales de la puerta de entrada”, que son lesiones inflamatorias características de la transmisión vectorial detectadas en alrededor de 20 % a 50 % de los casos. Estos signos pueden ser el chagoma de inoculación – lesión levemente elevada, rojiza y con algunos centímetros de diámetro que puede aparecer en miembros, tronco y rostro - y el signo de Romaña – edema palpebral unilateral que corresponde a una reacción inflamatoria frente a la penetración del parásito en la conjuntiva y alrededores (Romaña, 1935; Tatto *et al.*, 2007).

Hay dos fases distintas de la enfermedad: la aguda y la crónica. La primera empieza con la aparición de los signos citados anteriormente y se caracteriza por un período de incubación asintomático de 7 a 14 días o de manifestaciones muy leves como fiebre, hepatoesplenomegalia y linfadenopatía, que muchas veces puede pasar inadvertida.

I. INTRODUCCIÓN



Figura 4. Primeros signos de la enfermedad de Chagas: chagoma de inoculación (A) y signo de Romaña (B) (Fotografías obtenidas de: <https://www.bioscience.org/2003/v8/e/948/figures.htm>).

En un pequeño número de casos el paciente puede desarrollar miocarditis o meningoencefalitis, que puede culminar en muerte si se producen complicaciones (Tanowitz *et al.*, 1992).

La fase crónica surge tras superar la fase aguda y al principio el paciente pasa por un período asintomático que, en aproximadamente 70 % de los casos, puede durar toda la vida. Durante esta fase los parásitos permanecen ocultos principalmente en el músculo cardíaco y digestivo. Transcurridos entre 10 y 30 años, en 30 % de los pacientes se desarrollan trastornos cardíacos (la cardiopatía chagásica), y hasta un 10 % de los casos presentan alteraciones digestivas (como el megacolon o megaesófago), neurológicas o mixtas. Con el pasar de los años la infección puede causar la muerte súbita o insuficiencia cardíaca por la destrucción del músculo cardíaco, pero en general los pacientes diagnosticados en etapas no muy avanzadas tienen un buen pronóstico y pueden sobrevivir por un largo período de tiempo (Coura, 2007; Pérez-Molina *et al.*, 2015).

Diagnóstico

El diagnóstico de la enfermedad de Chagas puede ser llevado a cabo mediante técnicas parasitológicas, inmunológicas o moleculares.

Los métodos parasitológicos (hemocultivo, observación directa en sangre o el xenodiagnóstico) son los de elección en la fase aguda de la enfermedad, donde la parasitemia es elevada. Durante la fase crónica, cuando la parasitemia es baja, los resultados mediante diagnóstico parasitológico suelen ser en general negativos y el diagnóstico por medio de técnicas inmunológicas (ELISA, hemaglutinación, o inmunofluorescencia) es el método principal (Gomes *et al.*, 2009; Afonso *et al.*, 2012).

La amplificación de ácidos nucleicos mediante PCR es la técnica molecular utilizada para el diagnóstico de la enfermedad, la cual presenta una alta especificidad y sensibilidad (50 % - 70 %) y está indicada para el diagnóstico en la fase aguda y para monitorizar la respuesta frente al tratamiento (Murcia *et al.*, 2010; Schijman *et al.*, 2011).

En algunas situaciones se pueden dar resultados ambiguos o falsos positivos. Las técnicas como el western blot pueden auxiliar en estas circunstancias, especialmente en los países endémicos para *Leishmania* spp donde la probabilidad de reactividad cruzada es alta (Riera *et al.*, 2012).

El desarrollo de un test de diagnóstico rápido y de alta sensibilidad y especificidad (por ejemplo, una inmunocromatografía utilizando proteínas recombinantes) es un reto

todavía pendiente. En los países con precario acceso a los sistemas de salud el desarrollo de un test facilitaría bastante el diagnóstico de la enfermedad (Chappuis *et al.*, 2010).

Tratamiento

Actualmente no existe ninguna vacuna efectiva para prevenir la enfermedad de Chagas, pudiendo ser tratada únicamente con dos fármacos: el benznidazol y el nifurtimox. Ambos medicamentos son eficaces casi al 100 % para curar la enfermedad si se administran al comienzo de la infección en la etapa aguda. Sin embargo, la eficacia de éstos disminuye a medida que transcurre más tiempo desde el inicio de la infección (Dias, 2006; Coura & Borges-Pereira, 2011; Albajar-Viñas & Dias, 2014).

A pesar de los beneficios de la medicación para prevenir el avance de la enfermedad hay que tener en cuenta una serie de objeciones como: las posibles reacciones adversas (que pueden presentarse en hasta un 40 % de los pacientes tratados); la duración del tratamiento (que no puede sobrepasar los dos meses) y las contraindicaciones, entre las cuales, el hecho de que no pueden ser administrados a las embarazadas ni a las personas con insuficiencia renal o hepática o que presenten antecedentes de enfermedades del sistema nervioso (Jackson *et al.*, 2010; Pinazo *et al.*, 2010; Hasslocher-Moreno *et al.*, 2012).

Estudios recientes han podido demostrar la eficacia de un nuevo medicamento para el tratamiento de la enfermedad en fase crónica, el posaconazol. Este fármaco ha sido probado en seres humanos y se ha podido demostrar que presentan actividad contra *T. cruzi*, aunque no lo suficiente para llegar a la cura. Estos resultados representan uno de los avances más importantes en el tratamiento de la enfermedad de Chagas, y abren una ventana a nuevas estrategias de tratamiento, como las terapias de combinación o incluso tratamientos secuenciales (Francisco *et al.*, 2015; Molina *et al.*, 2015).

Debido a los inconvenientes que los fármacos benznidazol y nifurtimox presentan y las limitaciones que el posaconazol presenta, seguir con la búsqueda de nuevos fármacos que presenten menos toxicidad y que sean efectivos también en la fase crónica de la enfermedad, así como una posible vacuna efectiva para posible control de la enfermedad, son los grandes retos para el futuro (Rassi *et al.*, 2010; Pérez-Molina *et al.*, 2015).

1.1.3. El control vectorial: precedentes y situación actual

En una conferencia realizada en 1911, Carlos Chagas ya anteveía cuál sería el principal objetivo del control de la enfermedad de Chagas: “Está claro que el factor epidemiológico básico de la enfermedad está constituido por un insecto, un compañero constante del hombre en sus domicilios, y por ello fácilmente vulnerable a la destrucción...Medidas sanitarias en este sentido, especialmente la mejoría de las condiciones de vida, probablemente representaría un acto administrativo de mayor importancia”.

Aun sabiendo que la eliminación del vector es la principal forma de control de la enfermedad, hay una serie de factores limitantes a la hora de erradicar los triatominos, como por ejemplo la gran variedad de reservorios silvestres y domésticos, la presencia de ciclos silvestres y las malas condiciones de los domicilios humanos. Estas limitaciones, unidas al hecho de que no haya una vacuna efectiva, resaltan la importancia de que el control de los vectores presentes en los domicilios y peridomicilios sea la principal forma de frenar la enfermedad (Dias & Schofield, 1999; Coura & Dias, 2009; Coura, 2013).

I. INTRODUCCIÓN

Fue a partir de 1947, cuando Emmanuel Dias (discípulo de Carlos Chagas) descubrió la acción de los insecticidas clorados contra los triatominos, que las bases de la lucha anti-vectorial fueron creadas. En el año siguiente se realizaron pruebas de campo y se comprobó la alta acción toxica de estos insecticidas para las poblaciones domiciliadas de vectores (Dias & Pellegrino, 1948), que posteriormente fueron ratificados en estudios realizados en Argentina (Romaña & Aballos, 1948) y Uruguay (Osimani *et al.*, 1950).

Durante los años 60 se puso en marcha los primeros programas de control vectorial en Brasil, Argentina, Chile y Venezuela, los cuales dieron buenos resultados y fueron el soporte para los futuros programas internacionales.

La primera iniciativa a nivel internacional fue la lanzada en 1991 por los gobiernos de los países del Cono Sul, la INCOSUR, que estaba integrada por Argentina, Bolivia, Brasil, Paraguay y Uruguay y cuyo principal objetivo era la eliminación del principal vector de la región, *Triatoma infestans* Klug, 1834. Se obtuvieron buenos resultados y se llegó a certificar la interrupción de la transmisión de la enfermedad por este vector en Chile, Uruguay y amplias zonas de Argentina, Brasil y Paraguay entre 1998 y 2003. Actualmente esta iniciativa se centra en el mantenimiento de la eliminación de *T. infestans* y de vectores secundarios en Argentina, Brasil, Chile, y Uruguay (Schofield & Dias, 1999).

En 1997, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela firmaban el “Pacto Andino” con el objetivo de controlar los principales vectores en estos países: *Rhodnius prolixus* Stal, 1859, *Rhodnius ecuadoriensis* Lent and León, 1958 y *T. dimidiata* Latreille, 1811. El progreso de esta iniciativa ha sido lento debido en gran parte a la falta de conocimiento de las características biológicas de estos vectores, lo que ha dificultado las medidas adecuadas de control (Guhl & Vallejo, 1999; Guhl, 2007).

En 1998 fue lanzada la “Iniciativa de los Países de Centro América” (IPCA) por Belice, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaragua y Panamá. Esta iniciativa tenía dos objetivos principales: la eliminación de *R. prolixus* y disminución de las infestaciones domésticas por *T. dimidiata*. El avance de esta iniciativa ha sido positivo y actualmente la eliminación de *R. prolixus* es un objetivo muy cercano, en cambio, el control de *T. dimidiata* todavía es un reto en la región. En 2003, México se unió a la IPCA, la cual ha sido la primera medida tomada por este país para el control vectorial de la enfermedad de Chagas (Ponce, 2007).

En 2004, la “Iniciativa de los Países Amazónicos para la Vigilancia y Control de la Enfermedad de Chagas” (AMCHA) fue la última iniciativa internacional lanzada en Latinoamérica. Constituida por Brasil, Colombia, Ecuador, Guyana, Guyana Francesa, Perú, Surinam y Venezuela con el objetivo de controlar la transmisión de la enfermedad en la cuenca del Amazonas, ya que nuevos patrones de transmisión estaban surgiendo en esta zona debido a la deforestación de la selva y el contacto de la población con los ciclos selváticos del parásito (Coura *et al.*, 2002).

Las iniciativas de control vectorial suelen estar basadas en 5 etapas diferentes: la etapa 0 o inicial consiste en la recogida de datos epidemiológicos en los países endémicos para esta enfermedad; la primera fase es la del reconocimiento de los sitios donde hay la enfermedad y donde la trasmisión ocurre. En esta etapa hay una coordinación entre gobierno y personal de la salud con el objetivo de determinar la distribución y predominio de la transmisión mediante pruebas de control para posterior intervención y vigilancia; la siguiente fase se fundamenta en la eliminación de la transmisión doméstica (determinada en los estudios de la etapa anterior). En esta etapa se aplican campañas de fumigación de las casas y construcciones peridomésticas con insecticidas de tipo piretroide. A partir de

los resultados de este paso, si se han eliminado los focos domésticos, se pasa a la cuarta etapa, cuya finalidad es prevenir la domiciliación de los vectores y las reinfestaciones y controlar los ciclos silvestres de los vectores; La última fase, la de la vigilancia, cuando la transmisión vectorial es rara y el riesgo de transmisión transfusional también se ha reducido, quizá sea la etapa más difícil debido a la tendencia a relajarse en la vigilancia y a retirar recursos para el control (Dias *et al.*, 2002).

Uno de los pasos que presenta grandes complicaciones es el control de las reinfestaciones de las viviendas por las mismas especies, que ocurre cuando existe un flujo entre las poblaciones silvestres y domésticas o peridomésticas. En estas situaciones, para poder definir la mejor estrategia a seguir, es esencial un estudio detallado de la biología del vector. Con esta finalidad las características genéticas de las especies pueden aportar datos extremadamente importantes para el estudio del proceso de domiciliación así como para la diferenciación entre las poblaciones silvestres y domiciliadas (Abad-Franch & Monteiro, 2005).

La gran importancia de conocer las características genéticas de los vectores también puede verse reflejada en los estudios sobre la aparición de resistencia a los piretroides (Reithinger *et al.*, 2009). Se han detectado poblaciones de *T. infestans* resistentes a deltametrina en Argentina y Bolivia, lo que ha podido ocasionar fallos en los mecanismos de control vectorial en estos países (Picollo *et al.*, 2005; Mougabure-Cueto *et al.*, 2015).

Además, lo que se ve actualmente es la importancia que algunos vectores secundarios están tomando en los lugares donde el vector principal ha sido eliminado o controlado, como se puede observar en Chile con la creciente aparición de *Mepraia spinolai* Gajardo and Jorg, 1940 tras la eliminación de *T. infestans* (Cattan *et al.*, 2002), con *Panstrongylus megistus* Burmeister, 1835 en Brasil (Patterson *et al.*, 2009) y *Triatoma guasayana* Wygodzinsky and Abalos, 1949 en Argentina (Vazquez-Prokopec *et al.*, 2005), que pasan a tener un papel muy importante en la transmisión de la enfermedad e invasión de domicilios (Dias, 2009). Estos cambios epidemiológicos dejan claro la necesidad de la constante vigilancia de las zonas tratadas y del estudio de estos vectores secundarios.

Los futuros retos se basan en tres desafíos a enfrentar, el primero es sostener las medidas de control ya alcanzadas en la transmisión vectorial domiciliar; el segundo es la diferenciación entre especies crípticas de triatomíneos mediante métodos sencillos de identificación; el tercero es la necesidad de desarrollar modelos de vigilancia y control que puedan reducir el riesgo de transmisión asociado o directamente dependiente del ciclo silvestre de transmisión, así como la posible invasión y adaptación de las especies consideradas silvestres (Miles *et al.*, 2003; Dias, 2015).

I. INTRODUCCIÓN

1.2 LA SUBFAMILIA TRIATOMINAE: LOS VECTORES DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

1.2.1. Clasificación sistemática y principales características

La subfamilia Triatominae fue descrita por Jeannel en 1919 y presenta la siguiente posición sistemática:

Reino ANIMALIA Linnaeus, 1758

Phylum ARTHROPODA Siebold, 1846

Clase INSECTA Linnaeus, 1735

Orden HEMIPTERA Linnaeus, 1758

Familia REDUVIIDAE Latreille, 1807

Subfamilia TRIATOMINAE Jeannel, 1919

La clasificación actual de la subfamilia Triatominae está basada principalmente en la revisión de Lent & Wygodzinsky (1979), sin embargo, a partir de su publicación nuevas especies fueron descritas y otras revalidadas.

Actualmente la subfamilia Triatominae está organizada en 5 tribus y 15 géneros, agrupando un total de 148 especies (aunque algunas de ellas puedan futuramente ser consideradas variaciones poblacionales) (Bargues *et al.*, 2016) (Tabla 1). De los 15 géneros, 3 son especialmente importantes en cuanto a vectores de la enfermedad de Chagas: Géneros *Triatoma* Laporte, 1832 y *Panstrongylus* Berg, 1879 (que pertenecen a la Tribu Triatomini Jeannel, 1919) y el Género *Rhodnius* Stal, 1859 (que pertenece a la Tribu Rhodniini Pinto, 1926) (Schofield & Galvão, 2009; Galvão, 2014).

Aunque la familia Reduviidae esté distribuida mundialmente, la subfamilia Triatominae se encuentra principalmente en el continente Americano. Según los diferentes estudios genéticos y moleculares actuales, se sugiere que el origen de este grupo es polifilético (diferentes ancestrales habrían dado origen a las diferentes especies de este taxón) (Schofield & Galvão, 2009; Justi *et al.*, 2014), aunque sea reconocida por varios autores como una subfamilia de origen monofilética (que presenta un único ancestral común para todas las especies de la subfamilia) (Lent & Wygodzinsky, 1979; Hypsa *et al.*, 2002; Weirauch, 2008).

Todavía hay muchas dudas sobre el origen y evolución de la subfamilia Triatominae y actualmente diversos estudios moleculares están siendo llevados a cabo con la finalidad de solucionar este dilema.

La importancia de un triatomino como vector está determinada por diversos factores, principalmente los biológicos y geográficos, como por ejemplo su capacidad vectorial, su capacidad de adaptación al hábitat humano (domiciliación) y su distribución geográfica.

Subfamilia	Tribu	Género	Número de especies válidas
Triatominae	Alberproseniini	<i>Alberprosenia</i>	2
		Bolboderini	<i>Belminus</i>
	<i>Bolbodera</i>		1
	<i>Microtriatoma</i>		2
	<i>Parabelminus</i>		2
	Cavernicolini		<i>Cavernicola</i>
	Rhodniini	<i>Psammolestes</i>	3
		<i>Rhodnius</i>	19
	Triatomini	<i>Dipetalogaster</i>	1
		<i>Eratyrus</i>	2
		<i>Hermanlenticia</i>	1
		<i>Linshcosteus</i>	6
		<i>Panstrongylus</i>	14*
		<i>Paratriatoma</i>	1
		<i>Triatoma</i>	84***.***
Total	15	148	

* Este género presenta una especie fósil: *P. hispaniolae* (Ponair Jr., 2013); ** este género presenta una especie fósil: *T. dominicana* (Ponair Jr., 2005); *** 12 especies han sido asignadas para los 3 géneros: *Meccus* (6 especies), *Mepraia* (3 especies), *Nesotriatoma* (3 especies).

Tabla 1. Clasificación sistemática actual de la subfamilia Triatominae (adaptado de Barges *et al.*, 2016).

La capacidad vectorial de las diferentes especies de vectores depende de características como el grado de antropofilia, de metaciclogénesis (producción de un mayor número de formas infectantes de *T. cruzi*) y del tiempo entre la ingesta de sangre y deyección.

Los triatominos son insectos primitivamente silvestres que viven en los nidos de sus hospedadores, entre rocas o en árboles y plantas, siempre asociados a mamíferos y aves. Hay, entretanto, especies que son capaces de adaptarse secundariamente al hábitat humano, donde suelen vivir en los huecos de las paredes de piedra de corrales, en los gallineros y en las viviendas humanas.

Según su relación con el hábitat humano los vectores triatominos pueden ser clasificados en diferentes grupos: (a) especies silvestres – encontradas estrictamente en ambiente silvestre; (b) especies intrusivas – mayormente silvestres, pero muchos especímenes adultos encontrados en el interior de viviendas humanas, probablemente atraídos allí por la luz o introducidos a través de hospedadores (marsupiales, por ejemplo). En esta situación, no hay ninguna prueba de colonización (huevos, ninfas); (c) especies domiciliadas – presencia de adultos, ninfas y huevos dentro de las casas o en el peridomicilio (lo que significa que completan el ciclo en el ambiente doméstico), pero las

I. INTRODUCCIÓN

colonias no son abundantes y representan una adaptación provisional al entorno humano. No es necesariamente una situación permanente y tales especies pueden desaparecer de este entorno sin cualquier medida de control; (d) especies domésticas – son especies domiciliadas que presentan una extensión geográfica amplia. Además de la extensión geográfica discontinua, la desaparición de tales colonias depende de la intervención humana (Waleckx *et al.*, 2015).

Cabe resaltar que situaciones intermedias pueden ocurrir, como por ejemplo especies consideradas domésticas que pueden presentar poblaciones o focos silvestres, como se puede observar con *T. infestans* (Dujardin *et al.*, 2002; Noireau & Dujardin, 2010).

El proceso de domiciliación y adaptación al hábitat humano está relacionado con la capacidad de los vectores de colonizar nuevos ambientes, lo que dependerá de distintos factores, sobretodo de su constitución genética, que conferirá a los vectores domiciliados mecanismos fisiológicos que posibilitarán la adaptación a un nuevo ambiente, con temperatura, humedad y fuentes alimenticias probablemente diferentes de sus ecotopos naturales.

El mantenimiento de las poblaciones de triatominos en los entornos domésticos implica una especialización y simplificación de los caracteres morfológicos y genéticos, que será irreversible. Estos procesos ocurren principalmente por restricción genética y aislamiento de la población silvestre, lo que conllevará a una pérdida de variabilidad genética (Dujardin, 1998; Schofield *et al.*, 1999).

Las diferencias genéticas entre poblaciones silvestres y domésticas son buenos marcadores para detectar la domiciliación de los triatominos, proceso de suma importancia epidemiológica ya que el riesgo de transmisión de esta enfermedad está claramente relacionado con la presencia de los vectores en el entorno humano (Lyman *et al.*, 1999; Panzera *et al.*, 2004).

Aunque todas las especies de triatominos son potenciales vectores, aquéllas que tengan alta capacidad de dispersión y adaptación a los entornos humanos serán de gran importancia para el control de la transmisión de *T. cruzi*. Conocer todas las características genéticas y datos de dispersión de los vectores son fundamentales para las campañas de control epidemiológico de la enfermedad (Monteiro *et al.*, 2001).

1.2.2. Los vectores de la enfermedad de Chagas en Brasil

Brasil, oficialmente República Federativa do Brasil, es el país más largo de América del Sur y el quinto más grande del mundo en área total. Con un territorio de 8,5 millones de km² y una población estimada de más de 205 millones de habitantes (2015), está dividido en 26 Estados y un Distrito Federal agrupados en 5 grandes regiones: Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste y Sur (Figura 5), las cuales presentan diferentes características geográficas, económicas y culturales (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística- IBGE: [http:// www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)).



Figura 5. Mapa físico de Brasil con la distribución de los 26 Estados y el Distrito Federal en las cinco grandes regiones (Figura obtenida del Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE: <http://www.ibge.gov.br>).

La situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en Brasil ha sufrido varios cambios a través de los años, no únicamente como resultado de las actividades de control, sino también por el desarrollo socio-económico que ha sufrido el país, como se ha podido observar con la mejora de las viviendas, la creciente urbanización y la migración de las poblaciones rurales al medio urbano, por ejemplo.

Los datos epidemiológicos actuales en Brasil, según el número de casos agudos notificados de la enfermedad de Chagas, han sido recopilados en la Tabla 2, donde las cifras han sido especificadas por región y Estado del país. Se ha podido observar el destacable número de casos de la Región Norte, más precisamente en el Estado de Pará (Ministério da Saúde/SVS – Brasil - Sistema de Informação de Agravos de Notificação, 2015).

Estudios recientes demuestran que aproximadamente 60% de los nuevos casos de enfermedad de Chagas en Brasil son consecuencia de la transmisión oral, especialmente en la Región Amazónica, mientras que los casos de transmisión vectorial son de alrededor del 10%. Además, en casi 30% de los casos, no ha sido determinado el mecanismo de transmisión, lo que indica la necesidad de una mayor vigilancia en Brasil para la correcta detección de nuevos casos de la enfermedad (Abad-Franch *et al.*, 2014).

I. INTRODUCCIÓN

ENFERMEDAD DE CHAGAS AGUDA - Casos confirmados notificados en el "Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Brasil"	
Casos confirmados por Región/Estado de notificación	
Período:2014	
Región e correspondiente Estado de notificación	Casos_confirmados
Región Norte	192
.. Rondônia	1
.. Acre	2
.. Amazonas	5
.. Pará	170
.. Amapá	12
.. Tocantins	2
Región Nordeste	3
.. Maranhão	1
.. Paraíba	1
.. Pernambuco	1
Región Sudeste	1
.. São Paulo	1
Región Sul	1
.. Rio Grande do Sul	1
Región Centro-Oeste	1
.. Distrito Federal	1
Total	198

Tabla 2. Nuevos casos de enfermedad de Chagas en Brasil por Región y Estado de notificación en el año 2014. Fuente: Ministério da Saúde/SVS – Brasil - Sistema de Informação de Agravos de Notificação.

Para la comprensión de los aspectos epidemiológicos relacionados con la transmisión de *T. cruzi*, el estudio de la distribución geográfica de los triatomíneos es de extrema importancia y debe ser considerado para la vigilancia y campañas de control vectorial.

Se ha observado que de los 15 géneros de triatomíneos conocidos, 10 están presentes en Brasil y, hasta el momento, 65 de las 148 especies descritas actualmente han sido encontradas en el país (Tabla 3) (Lent & Wygodzinsky, 1979; Silveira *et al.*, 1984; Carcavallo & Martinez, 1985; Carcavallo *et al.*, 1999; Carcavallo *et al.*, 2001; Carcavallo *et al.*, 2002; Costa *et al.*, 2002; Costa *et al.*, 2006; Costa & Felix, 2007; Abad-Franch *et al.*, 2009; Carbajal de la Fuente *et al.*, 2009; Costa & Lorenzo, 2009; Gurgel-Gonçalves & Cuba, 2009; Jurberg *et al.*, 2009; Patterson *et al.*, 2009; Gorla & Noireau, 2010; Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2012). Con excepción de *Alberprosenia malheiroi*, *Belminus laportei*, *Microtriatoma trinidadensis*, *Panstrongylus diasi*, *P. lenti*, *Parabelminus yurupucu*, *Rhodnius amazonicus*, *Triatoma baratai*, *T. jatai* y *T. pintodiasi* todas las demás especies ya han sido halladas infectadas naturalmente por tripanosomátidos (Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Las principales especies objeto de este estudio, según la distribución geográfica en Brasil son: (i) Género *Triatoma*: *T. pseudomaculata*, *T. sordida* y *T. brasiliensis*; (ii) Género *Panstrongylus*: *P. megistus*, *P. geniculatus*, *P. lutzi*; (iii) Género *Rhodnius*: *R. neglectus*, *R. robustus* y *R. pictipes*.

A continuación se detalla las principales características de las especies citadas anteriormente.

ESPECIES

ESTADOS BRASILEÑOS

	AC	AL	AM	AP	BA	CE	DF	ES	GO	MA	MG	MS	MT	PA	PB	PE	PI	PR	RJ	RN	RO	RR	RS	SE	SP	SC	TO	Total	
<i>Alberprosenia malheroi</i>														x														1	
<i>Belminus laportei</i>														x															1
<i>Cavernicola lenti</i>			x																									1	
<i>C. pilosa</i>					x			x			x		x	x					x								x	7	
<i>Eratyrus mucronatus</i>			x							x			x	x													x	5	
<i>Microtriatoma borbai</i>									x				x						x	x								4	
<i>M. trinidadensis</i>													x	x												x		3	
<i>Panstrongylus diasi</i>					x		x	x	x	x	x	x													x		x	9	
<i>P. geniculatus</i>	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x				x	x	x		x	x		x		x	20	
<i>P. guentheri</i>												x																1	
<i>P. lenti</i>									x																			1	
<i>P. herreri</i>				x						x				x													x	4	
<i>P. lutzii</i>	x				x	x					x				x	x	x				x			x				9	
<i>P. megistus</i>	x				x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x			x	x	x	x	22	
<i>P. rufotuberculatus</i>				x									x	x														3	
<i>P. tupyambai</i>																								x				1	
<i>Parabelminus carioca</i>																				x								1	
<i>P. yurupucu</i>					x																							1	
<i>Psammolestes coreodes</i>												x	x															2	
<i>P. tertius</i>	x				x	x	x		x	x	x		x	x	x	x	x								x		x	14	
<i>Rhodnius amazonicus</i>				x																								1	
<i>R. brethesi</i>				x																								1	
<i>R. domesticus</i>					x			x			x								x	x					x	x		7	
<i>R. milesi</i>														x														1	
<i>R. montenegrensis</i>																												1	
<i>R. nasutus</i>					x	x				x					x	x	x				x							7	
<i>R. neglectus</i>					x		x		x	x	x	x	x		x	x	x	x							x		x	13	
<i>R. paraensis</i>				x											x													2	
<i>R. pictipes</i>				x	x					x			x	x													x	9	
<i>R. robustus</i>	x			x	x					x			x	x													x	10	
<i>R. stali</i>												x																1	
<i>R. zeledoni</i>																												1	
<i>Triatoma arthurneivai</i>											x																x	2	
<i>T. baratai</i>												x																1	
<i>T. brasiliensis</i>		x			x	x			x	x					x	x	x								x		x	11	
<i>T. carvalhoi</i>																												1	
<i>T. circummaculata</i>																												1	
<i>T. costalimai</i>					x				x				x														x	4	
<i>T. deaneorum</i>									x				x															2	
<i>T. delpontei</i>																												1	
<i>T. guazu</i>													x															1	
<i>T. infestans</i>					x																							2	
<i>T. jatai</i>																											x	1	
<i>T. juazeirensis</i>					x																							1	
<i>T. jurbergi</i>													x															1	
<i>T. klugi</i>																												1	
<i>T. lenti</i>					x				x																			2	
<i>T. maculata</i>																												1	
<i>T. matogrossensis</i>												x																1	
<i>T. melanica</i>											x																	1	
<i>T. melanocephala</i>					x										x	x									x			5	
<i>T. oliveirai</i>																												1	
<i>T. petrocchiaie</i>					x										x	x												4	
<i>T. pintodiasi</i>																												1	
<i>T. platensis</i>																												1	
<i>T. pseudomaculata</i>	x				x	x	x		x	x	x	x	x		x	x	x								x		x	15	
<i>T. rubrofasciata</i>	x				x					x					x	x	x											10	
<i>T. rubrovaria</i>																												1	
<i>T. sherlocki</i>					x																							1	
<i>T. sordida</i>					x		x		x	x	x	x	x		x	x									x	x	x	13	
<i>T. tibiamaculata</i>		x			x			x			x					x										x	x	x	10
<i>T. vanda</i>													x	x														2	
<i>T. vitticeps</i>					x			x			x																	4	
<i>T. williamsi</i>									x			x	x															3	
<i>T. wygodzinsky</i>												x																2	
	2	7	10	3	23	7	7	7	14	14	15	13	20	15	10	12	11	7	8	8	4	4	12	8	11	4	16		

Tabla 3. Distribución de las 65 especies de triatomos conocidas en los 27 Estados de Brasil. La última línea indica el total de especies registradas en cada Estado y la última columna indica el número total de Estados donde está localizada cada especie (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

I. INTRODUCCIÓN

1.2.2.1. Género *Triatoma* (Laporte, 1832)

El género *Triatoma* es el más numeroso de la subfamilia Triatominae con alrededor de 72 especies descritas actualmente (Galvão & Paula, 2014).

Todas las especies de este género son probablemente capaces de transmitir *T. cruzi* y muchas de ellas son capaces de adaptarse a los entornos humanos, lo que merece especial atención debido a su gran importancia epidemiológica en la enfermedad (Schofield & Galvão, 2009).

Las especies de este género presentan una extensa distribución geográfica y ocupan una amplia gama de hábitats, estando asociadas principalmente a mamíferos y aves (Carcavallo *et al.*, 1998b).

Según Gaunt & Miles, 2000, el género *Triatoma* se ha desarrollado en hábitats terrestres (rocosos), sin embargo podemos encontrar muchas especies preferentemente arbóreas y que pueden ser halladas en las copas de palmeras y entre los huecos de árboles.

Existen algunas especies dentro de este género cuya importancia epidemiológica es relevante en los países endémicos, como es el caso de *T. infestans*, que sigue siendo el principal vector de la enfermedad de Chagas en Sudamérica, y *T. dimidiata*, la principal especie transmisora en Centroamérica (Bargues *et al.*, 2006; 2008; Ramirez-Sierra & Dumonteil, 2016).

La gran variedad de características morfológicas, genéticas y ecológicas presente en este género ha conducido a la división de algunas especies consideradas “crípticas” o “hermanas” (especies morfológicamente indistinguibles pero reproductivamente aisladas) en complejos (actualmente hay 8 complejos y 8 subcomplejos clasificados dentro de este género). Como es el caso de las especies pertenecientes al complejo *T. brasiliensis*, fundamental en la transmisión de la enfermedad de Chagas en el noreste de Brasil (Usinger *et al.*, 1966; Lent & Wygodzinsky, 1979; Schofield y Galvão, 2009; Bargues *et al.*, 2010).

En Brasil, las principales especies vectoras del género *Triatoma*, según la distribución geográfica actual, son *T. pseudomaculata*, presente en 15 Estados del país, seguida de *T. sordida*, que se encuentra en 13 Estados, y *T. brasiliensis*, localizada en 11 Estados brasileños (Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Triatoma pseudomaculata

Triatoma pseudomaculata Corrêa & Espínola, 1964, encontrada únicamente en Brasil, es la especie del género *Triatoma* con la más amplia distribución geográfica en el país (encontrada en 15 Estados), siendo considerada endémica de los biomas de Cerrado (sabana brasileña) y Caatinga (zonas semiáridas de remanentes forestales) brasileños (de acuerdo con la división biogeográfica propuesta por Morrone, 2006) (Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2012; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Este vector se encuentra con mayor frecuencia en el peridomicilio, asociado a nidos de aves y bajo las cortezas de los árboles. Sin embargo, en los Estados de Ceará y Minas Gerais, se han observado procesos de domiciliación completos, lo que podría estar relacionado con el cambio climático y la deforestación (Freitas *et al.*, 2005; Assis *et al.*, 2007; Assis *et al.*, 2009).

En algunas áreas del nordeste del país este vector es la especie más común después de *T. brasiliensis* (Dias *et al.*, 2000; Carbajal de la Fuente *et al.*, 2007; Barbosa-Silva *et al.*, 2016). Este hecho, unido al proceso de invasión y adaptación al domicilio, resalta la importancia de mantener esta especie bajo constante vigilancia.

Actualmente se encuentra en los Estados brasileños de Alagoas, Bahia, Ceará, Distrito Federal, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe y Tocantins (Figura 6) (Carbajal de la Fuente *et al.*, 2009; Maeda *et al.*, 2012; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

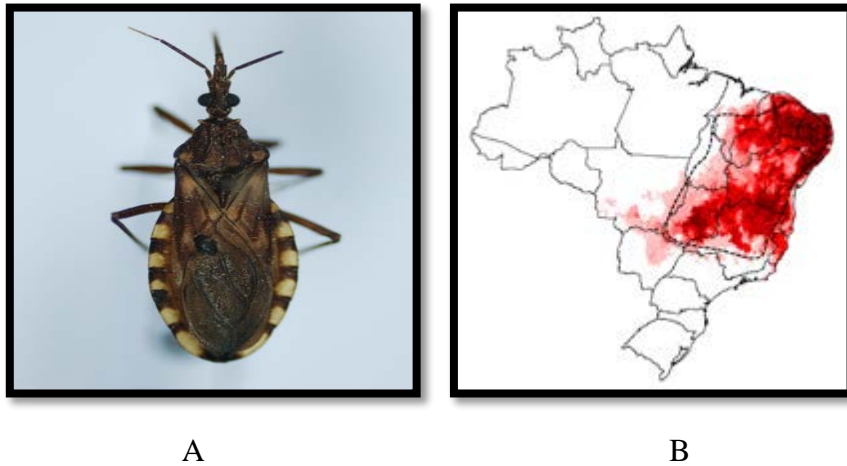


Figura 6. Ejemplar adulto de *T. pseudomaculata* (A) (<http://triatotokey.cpqrr.fiocruz.br>) y distribución geográfica de *T. pseudomaculata* en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Triatoma sordida

Triatoma sordida Stål, 1859, es la segunda especie del género *Triatoma* con la mayor distribución geográfica en Brasil (localizada en 13 Estados), encontrándose presente además en Argentina, Bolivia, Paraguay y Uruguay.

Este vector forma parte del subcomplejo *T. sordida*, del cual también pertenece *T. patagonica* (Del Ponte, 1929), *T. guasayana* (Wygodzinsky & Abalos, 1949) y *T. garciabesi* (Carcavallo, Cichero, Martínez, Prosen & Ronderos, 1967) (Usinger *et al.*, 1966; Noireau *et al.*, 1999; Schofield & Galvão, 2009; Panzera *et al.*, 2015). Es endémico del Cerrado de Brasil, el principal bioma del centro del país, y considerado el punto de dispersión de este triatomino hacia el suroeste y demás países Sudamericanos en los cuales se encuentra. Recientemente, algunos estudios sobre nichos ecológicos sugieren que este triatomino puede presentar una distribución más allá de lo que se ha visto hasta el momento (Forattini, 1980; Carcavallo *et al.*, 1999a; Dos Santos *et al.*, 2007; Gurgel-Gonçalves, 2012; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Merece especial atención debido a su tendencia a invadir los entornos domésticos, su amplia valencia ecológica (considerada una especie ubiquista) y su gran capacidad competitiva y de adaptación. Son capaces de soportar grandes cambios ambientales que hacen con que sus competidores desaparezcan mientras ellos resisten y pueden ampliar sus ecotopos. (Forattini *et al.*, 1974; Noireau *et al.*, 1998; Pessoa *et al.*, 2016).

Considerado un vector peridomiciliar, actualmente el más encontrado en este entorno en Brasil, su especial importancia epidemiológica está relacionada al hecho de que esta especie está incrementando su capacidad de invadir los domicilios, principalmente en aquellas áreas donde *T. infestans* ha sido controlada o eliminada (Noireau *et al.*, 1996;

I. INTRODUCCIÓN

Oscherov *et al.*, 2004; Rojas de Arias *et al.*, 2012). Además, se ha visto que está asociado a la reinfestación de viviendas tratadas con insecticidas (Diotaiuti *et al.*, 1998; Pessoa *et al.*, 2015).

Pueden ser encontrados en los huecos de árboles, palmeras, gallineros, palomares y corrales. En Brasil se encuentra presente en los siguientes Estados: Bahia, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo y Tocantins (Figura 7) (Carcavallo *et al.*, 1998b; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

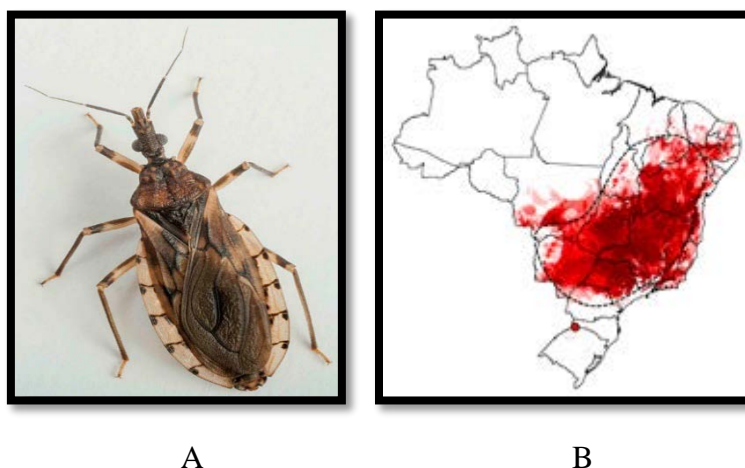


Figura 7. Ejemplar adulto de *T. sordida* (A) (<http://triatomekey.cpqrr.fiocruz.br>) y distribución geográfica de *T. sordida* en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Triatoma brasiliensis

Triatoma brasiliensis Neiva, 1911, es, hasta el momento, la tercera especie del género *Triatoma* con la mayor distribución en Brasil (presente en 11 Estados). Actualmente, está considerado el principal vector de *T. cruzi* en la zona de la Caatinga, la cual se sitúa en el noreste del país (Dias *et al.*, 2000; Costa *et al.*, 2002; Monteiro *et al.*, 2004; Harry *et al.*, 2009; Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2012; Bezerra *et al.*, 2014).

Los altos niveles de variaciones cromáticas y morfológicas de *T. brasiliensis* llevaron a la división de esta especie en 3 subespecies: *T. b. brasiliensis*, *T. b. macromelanosoma* Neiva and Lent, 1941 y *T. b. melanica* Galvão, 1956. En 1979, Lent & Wygodzinsky, 1979, unificaron las dos primeras subespecies citadas como *T. brasiliensis* (como será utilizada en este trabajo).

Posteriormente, diversos estudios morfológicos (Costa *et al.*, 1997a), ecológicos (Costa *et al.*, 1998; 2002), enzimáticos (Costa *et al.*, 1997b), de reproducción (Costa *et al.*, 2003b) y genéticos (Monteiro *et al.*, 2004) sobre estos triatomos sugirieron: (i) que estas 3 subespecies mencionadas eran distintas, (ii) la redescrición de *T. b. melanica* como *T. melanica* Costa, Argolo & Felix, 2006 (Costa *et al.*, 2006) y (iii) la caracterización de 1 nueva especie: *T. juazeirensis* Costa & Felix, 2007 (Costa & Felix, 2007).

A partir de los estudios mencionados, estas especies fueron agrupadas dentro del complejo *T. brasiliensis*, además de la posterior inclusión dentro de éste de la especie *T. sherlocki* Papa *et al.*, 2002 (Mendonça *et al.*, 2009). Estas especies son unidades de evolución independiente (Costa & Felix, 2007) que presentan una divergencia genética y

una distribución geográfica compatible con la existencia del complejo (Monteiro *et al.*, 2004).

En 2006, la Organización Panamericana de la Salud certificó a Brasil como libre de transmisión de la enfermedad de Chagas a través de *T. infestans* (especie responsable del 80 % de los casos de enfermedad de Chagas en la década de los ochenta). Este hecho hizo con que algunas especies nativas y/o consideradas secundarias en el país pasaran a tener mayor importancia epidemiológica, como ha sido el caso de *T. brasiliensis* (Dias & Schofield, 1999; Dias, 2015).

Originalmente, este triatomino estaba restringido a los hábitats silvestres, donde está frecuentemente localizado entre rocas y asociado a roedores, mayoritariamente la especie *Kerodon rupestris*. Además, se ha podido observar altos niveles de parasitación por *T. cruzi* (Costa *et al.*, 1998; Mendonça *et al.*, 2009).

Desde de su descripción se ha ido incrementado notablemente su capacidad de invadir y establecer colonias en los entornos domésticos, como se ha podido observar en algunos Estados del país (Ceará, Maranhão, Paraíba, Piauí y Rio Grande do Norte), en los cuales se han encontrado domicilios colonizados por este insecto (Costa *et al.*, 2003; Borges *et al.*, 2005; Almeida *et al.*, 2008; Bezerra *et al.*, 2014).

Este vector merece especial atención debido a que, de todos los triatominos brasileños, es el que presenta la mayor capacidad de reinfestación de domicilios después del rociamiento con insecticidas. Se ha constatado que alrededor de seis meses después del tratamiento químico las viviendas vuelven a estar reinfestadas (Almeida *et al.*, 2008; Costa & Lorenzo, 2009).

Es importante destacar que la subespecie *T. b. macromelasoma* presenta un carácter menos sinantrópico que *T. b. brasiliensis* y es frecuentemente encontrada en el peridomicilio. Se sabe, inclusive, que existen hibridaciones entre las especies *T. b. brasiliensis* y *T. b. macromelosoma* ya que se han encontrado ejemplares con colores intermedios entre las 2 especies considerándose formas intermedias (Monteiro *et al.*, 2004; Costa *et al.*, 2013; Costa *et al.*, 2016).

En Brasil, *T. brasiliensis* se encuentra actualmente en los Estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Goiás, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Sergipe, Tocantins y Rio Grande do Norte (Figura 8).

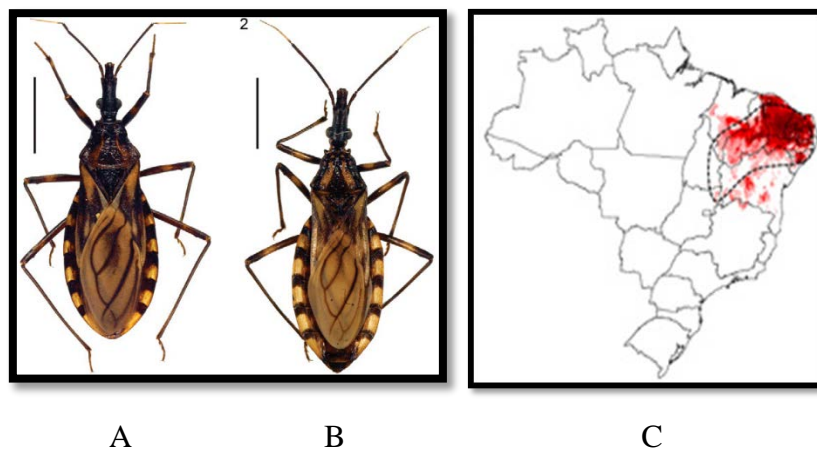


Figura 8. Ejemplares adultos de *T. b. macromelasoma* (A) y *T. b. brasiliensis* (B) (adaptado de Costa *et al.*, 2013) y distribución geográfica de *T. brasiliensis* en Brasil (C) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

I. INTRODUCCIÓN

Debido a la estrecha relación epidemiológica entre todas las especies del complejo *T. brasiliensis*, es fundamental incluirlas en el presente estudio.

Triatoma juazeirensis

Triatoma juazeirensis se distingue de los otros miembros del complejo de especies *T. brasiliensis* principalmente por el color general del pronoto, que es oscuro, y por los fémures completamente oscuros. Esta especie se encuentra distribuida únicamente en el Estado de Bahia y está presente en ecotopos similares a *T. brasiliensis*. En el entorno silvestre está entre rocas, y se localiza, mayoritariamente, en el peridomicilio, donde tiene un importante papel en el proceso de domiciliación (Figura 9) (Costa & Felix, 2007).

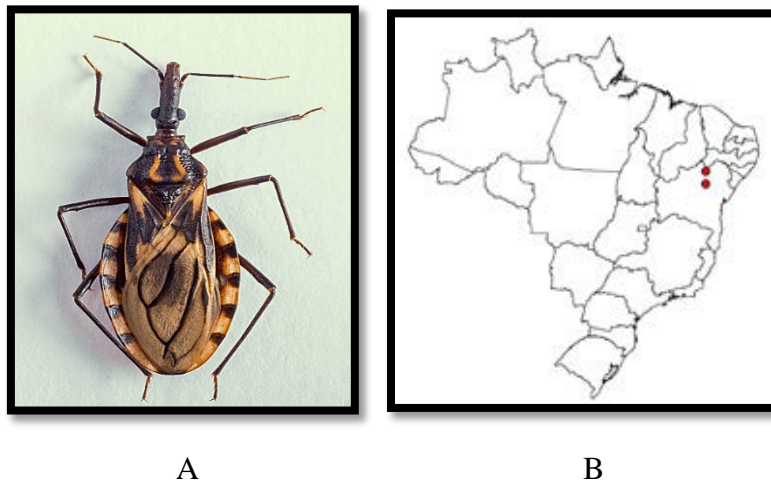


Figura 9. Ejemplar adulto de *T. juazeirensis* (A) (<http://triatokeny.cpqrr.fiocruz.br>) y distribución geográfica de *T. juazeirensis* en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Triatoma melanica

Triatoma melanica está localizada en el Estado brasileño de Minas Gerais, aunque, en algunas ocasiones, han sido encontradas en zonas del Estado de Bahia (en la frontera con Minas Gerais) (Figura 10). Es la única especie dentro del complejo exclusivamente silvestre, presentando un hábitat muy restringido y limitándose a determinadas zonas selváticas rocosas, lo que hace que esté muy sometida a la deriva genética y sea muy susceptible a los cambios climáticos (Costa *et al.*, 2003b; Monteiro *et al.*, 2004; Costa *et al.*, 2014; Souza *et al.*, 2015).

T. melanica es la forma más diferenciada dentro del complejo con una composición genética incompatible y con híbridos inviables o infértiles con otros miembros del complejo (Monteiro *et al.*, 2004; Costa *et al.*, 2006) excepto con *T. sherlocki* (Correia *et al.*, 2013).

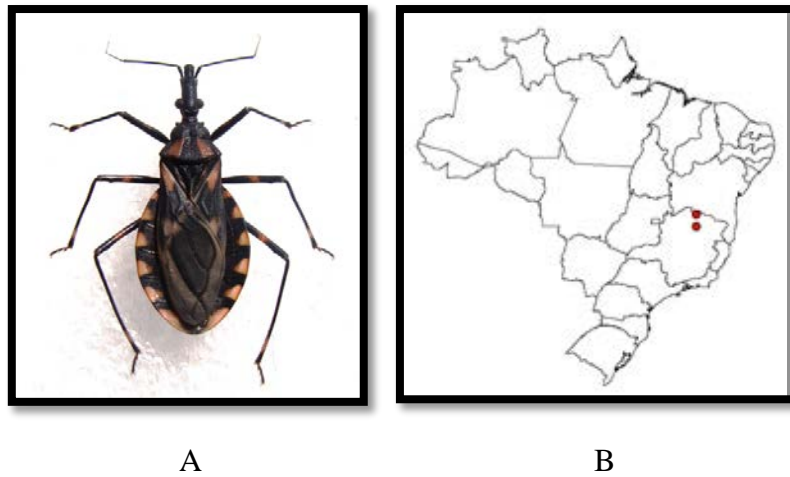


Figura 10. Ejemplar adulto de *T. melanica* (A) (<http://triatomey.cpqrr.fiocruz.br>) y distribución geográfica de *T. melanica* en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Triatoma sherlocki

Triatoma sherlocki está presente hasta el momento únicamente en el Estado brasileño de Bahia y fue la última especie incluida en el complejo *T. brasiliensis*. De todas las especies de este complejo, es la que presenta una morfología más atípica, presentando colores más rojos, alas más cortas (lo que le imposibilita el vuelo) y piernas más largas (Figura 11) (Papa *et al.*, 2002; Mendonça *et al.*, 2009).

De acuerdo con todas las diferencias observadas, no se esperaba que perteneciera al complejo *T. brasiliensis*. Sin embargo, los análisis filogenéticos, resultado de los estudios con marcadores moleculares y heterocromatina, confirmaron su posición dentro de éste (Alevi *et al.*, 2013; Correia *et al.*, 2013; Mendonça *et al.*, 2014).

Hasta algunos años esta especie era considerada un vector exclusivamente silvestre, localizado entre rocas, pero recientemente se ha observado que está en proceso de adaptación a los entornos domiciliarios, siendo encontrado en algunas viviendas de algunas poblaciones del Estado de Bahia (Almeida *et al.*, 2009; Correia *et al.*, 2013).

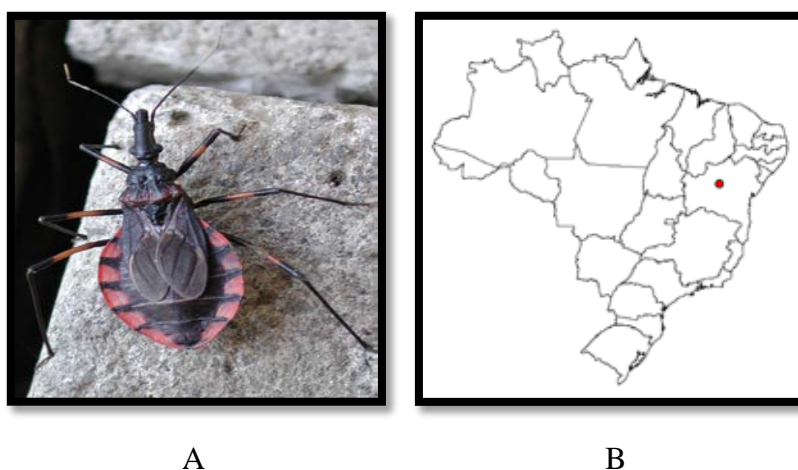


Figura 11. Ejemplar adulto de *T. sherlocki* (A) y distribución geográfica de *T. sherlocki* en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

I. INTRODUCCIÓN

Divergencia genética en el complejo T. brasiliensis

Entre las especies de este complejo hay una gran diversidad genética, lo que implica cuestiones epidemiológicas importantes.

Para poder evaluar el grado de divergencia entre ellas, encontrar un ancestro común y analizar las posibles consecuencias de la generación de híbridos en la naturaleza, se han llevado a cabo diferentes estudios de reproductibilidad en el laboratorio y búsqueda de vectores con características intermedias en la naturaleza.

En el Estado de Pernambuco, Brasil, se ha podido observar triatominos con caracteres intermedios entre *T. b. brasiliensis*, *T. b. macromelanosoma* y *T. juazeirensis* (Correia *et al.*, 2013; Costa *et al.*, 2016), pero, hasta el momento, en la naturaleza no se han visto estas formas intermedias ni entre *T. sherlocki* (Almeida *et al.*, 2012) ni entre *T. melanica* y las demás especies del complejo (Costa *et al.*, 2006).

En el laboratorio, se ha logrado la obtención de híbridos, aunque estériles, entre *T. b. brasiliensis* y *T. melanica* (Monteiro *et al.*, 2004). Entre *T. sherlocki* y el resto de especies del complejo se han conseguido híbridos interespecíficos con características morfológicas intermedias y fértiles (Almeida *et al.*, 2012; Correia *et al.*, 2013). Estos resultados pueden sugerir un ancestro común para todas las especies del complejo *T. brasiliensis* (Monteiro *et al.*, 2004; Costa *et al.*, 2009; Costa *et al.*, 2016).

Todas estas cuestiones serán analizadas y discutidas posteriormente con la finalidad de aclarar los mecanismos de especiación y problemática en la clasificación taxonómica de este complejo de especies.

Otras especies estudiadas del género Triatoma de interés en Brasil

Según Schofield & Galvão, 2009, dentro del complejo Infestans (que pertenece al Grupo Infestans), se encuentra el subcomplejo Brasiliensis, constituido por 9 especies encontradas en América del Sur: *T. brasiliensis*, *T. juazeirensis*, *T. lenti*, *T. melanica*, *T. melanocephala*, *T. petrocchia*, *T. sherlocki*, *T. tibiamaculata* y *T. vitticeps* (aunque según estos autores la inclusión de las dos últimas especies dentro de este subcomplejo sería dudosa). Posteriormente, mediante estudios citogenéticos, Alevi *et al.*, 2012a; 2014 propusieron la exclusión de *T. melanocephala*, *T. tibiamaculata* y *T. vitticeps* del subcomplejo Brasiliensis. Los resultados demostraban más similitudes con especies de triatominos de Norteamérica, lo que también ha sido sugerido recientemente por Gardim *et al.*, 2014, como resultado de los estudios del ADN de genes mitocondriales.

Además, Mendonça *et al.*, 2009, a partir de los análisis de genes mitocondriales y Alevi *et al.*, 2013a; 2013b, mediante estudios citogenéticos, confirmaron la inclusión de *T. sherlocki* en el subcomplejo Brasiliensis. Como también lo hizo Alevi *et al.*, 2012b; 2013a, confirmando la inclusión de *T. lenti* en este subcomplejo.

Actualmente, a partir de los diferentes estudios multidisciplinarios llevados a cabo, se ha propuesto una revisión y nueva clasificación para este grupo de especies, la cual incluiría también las especies *T. lenti*, *T. petrocchia* y *T. bahiensis* (Gardim *et al.*, 2014; Guerra *et al.*, 2016; Mendonça *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, in press).

Debido a la importante y compleja relación taxonómica y epidemiológica de las especies de este subcomplejo, se considera oportuno y fundamental el estudio de los demás triatominos de este taxón en el presente trabajo.

Triatoma lenti

Triatoma lenti Sherlock & Serafim, 1967, se encuentra solamente en Brasil y es endémico de los Estados de Bahia y Goiás (Figura 12) (Carcavallo *et al.*, 1999a; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014). Ya ha sido encontrado infectado por *T. cruzi* (Sherlock & Guitton, 1974) y está considerado como un potencial vector de la enfermedad de Chagas (Salvatella *et al.*, 1998).

Este triatomino puede estar presente en una amplia variedad de ecotopos, localizándose entre rocas en el medio silvestre, en corrales de cabras en el ambiente peridomociliar y dentro de domicilios (Salvatella *et al.*, 1998; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).



Figura 12. Ejemplar adulto de *T. lenti* (A) (<http://triatokokey.cpqrr.fiocruz.br>) y distribución geográfica de *T. lenti* en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Triatoma petrocchiae

Triatoma petrocchiae Pinto & Barreto, 1925, es una especie bastante similar morfológicamente a *T. brasiliensis*, siendo consideradas especies simpátricas, aunque no sean capaces de hibridar (Espínola, 1971).

Está localizada actualmente en el bioma brasileño de la Caatinga en los Estados de Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco y Rio Grande do Norte, y está considerada una especie “rara” de ser encontrada y, por ello, hasta el momento, poco estudiada (Figura 13) (Galvão *et al.*, 2003; Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2012; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

En el medio silvestre, está presente entre rocas (Lent & Wygodzinsky, 1979), llegando a compartir el mismo ambiente e, incluso, la misma roca que *T. brasiliensis* (Almeida *et al.*, 2016).

Recientemente, y por primera vez, se ha encontrado ninfas de estadio 5 de este triatomino dentro de domicilios (Lilioso, 2015). Aunque Silva *et al.*, 2012 ya habían encontrado algunos pocos ejemplares adultos de *T. petrocchiae* en domicilios, como eran sólo especímenes adultos, concluyeron que podrían ser invasiones esporádicas.

Este reciente hallazgo representa el primer indicio de colonización domiciliar por esta especie, lo que refuerza el alerta sobre la necesidad del constante monitoreo vectorial (Dias *et al.*, 2000).

I. INTRODUCCIÓN

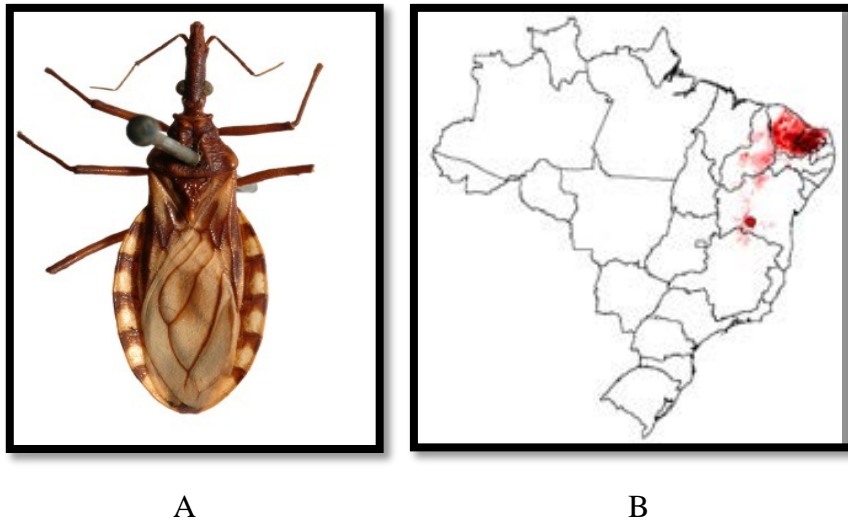


Figura 13. Ejemplar adulto de *T. petrocchiaie* (A) (<http://triatotokey.cpqrr.fiocruz.br>) y distribución geográfica de *T. petrocchiaie* en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Triatoma melanocephala

Triatoma melanocephala Neiva & Pinto, 1923, es una especie endémica de Brasil, presente en los Estados de Bahia, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte y Sergipe (Figura 14) (Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2012; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014). Este triatomino ha sido encontrado infectado por *T. cruzi* dentro de domicilios en el Estado de Pernambuco (Silva *et al.*, 2012). Altas tasas de infección por este parásito también han sido detectadas por Oliveira *et al.*, 2015 en el estudio sobre la biología de este triatomino.

A principio, esta especie y *T. vitticeps* eran consideradas sinónimos, según Lent & Wygodzinsky, 1979. Las únicas características morfológicas que diferencian estas dos especies son la ausencia de “espacio testáceo” en la cabeza y la presencia de dos manchas marrones en el tórax, en el caso de *T. melanocephala* (Sherlock & Guitton, 1980).

Severi-Aguiar *et al.*, 2006 y, posteriormente, Alevi *et al.*, 2013a; 2014, a partir de estudios genéticos y de cromosomas de *T. vitticeps* y *T. melanocephala*, observó que a pesar de que determinados patrones tuvieran una relación directa entre estas dos especies, habían características que diferenciaban una especie de la otra, como por ejemplo, la presencia de heterocromatina constitutiva en el cromosoma sexual X de *T. vitticeps*, mientras *T. melanocephala* no lo presentaba.

A pesar de los pocos registros de ocurrencia y estudios sobre este vector, presenta una grande importancia epidemiológica, ya que se ha observado que puede servir como un puente entre ciclos silvestres y domésticos (Silva *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2015).

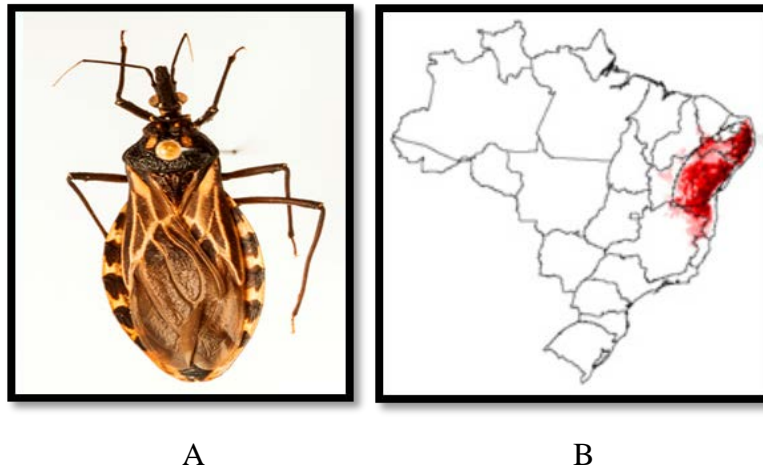


Figura 14. Ejemplar adulto de *T. melanocephala* (A) (<http://triatokokey.cpqrr.fiocruz.br>) y distribución geográfica de *T. melanocephala* en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Triatoma tibiamaculata

Triatoma tibiamaculata Pinto, 1926, es una especie más restricta a la Floresta Atlántica de Brasil y está presente en los Estados de Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Pernambuco, Paraná, Rio de Janeiro, Santa Catarina, São Paulo y Sergipe (Figura 15) (Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2012; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Este triatomino ha sido localizado en madrigueras de marsupiales y roedores y en palmeras (Carcavallo *et al.*, 1998b). Se ha observado que es frecuentemente atraído por la luz artificial pero raramente coloniza los domicilios, siendo considerada, hasta el momento, una especie silvestre con invasiones esporádicas al entorno peri y domiciliar (Rodrigues *et al.*, 2007; Diotaiuti, 2009).

En el año 2008, ha sido, junto a *T. vitticeps*, los vectores responsables por los diversos casos de transmisión de la enfermedad por vía oral a través de la contaminación de zumos de caña de azúcar en el Estado brasileño de Santa Catarina (Steindel *et al.*, 2008).

Se ha encontrado ejemplares de este vector infectados por *T. cruzi* en algunas localidades del Estado de São Paulo (Ciaravolo *et al.*, 1997; Rodrigues *et al.*, 2003), y en el Estado de Bahia, donde han sido frecuentemente encontrados infectados por *T. cruzi* en áreas urbanas, principalmente en los meses más cálidos (Dias-Lima & Sherlock, 2000; Santana *et al.*, 2011; Ribeiro *et al.*, 2015).

Como presenta un gran potencial como vector de la enfermedad de Chagas y son capaces de invadir domicilios, son necesarios más estudios sobre este vector y su posible capacidad de domiciliación y transmisión de la enfermedad.

I. INTRODUCCIÓN

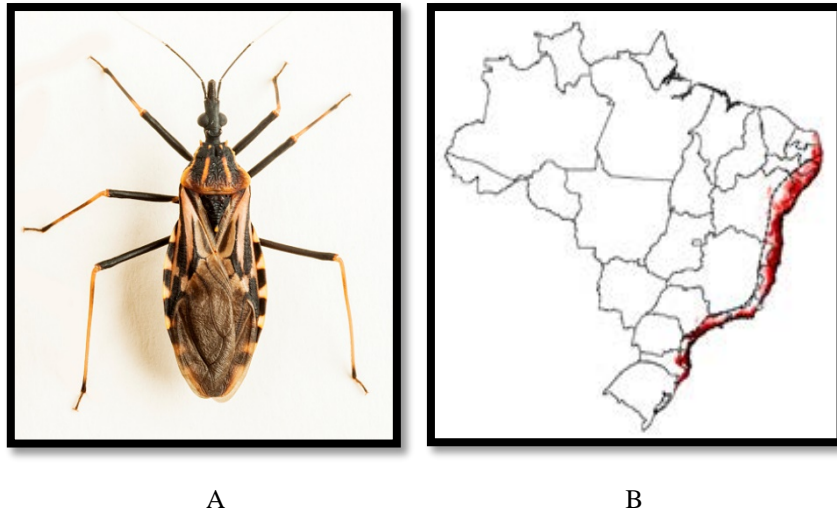


Figura 15. Ejemplar adulto de *T. tibiamaculata* (A) (<http://triatokokey.cpqrr.fiocruz.br>) y distribución geográfica de *T. tibiamaculata* en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Triatoma vitticeps

Triatoma vitticeps Stål, 1859, está presente en los Estados brasileños de Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais y Rio de Janeiro, encontrándose más restringidos a los biomas de Floresta Atlántica y Cerrado (Figura 16) Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2012; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Se localiza en madrigueras de marsupiales y roedores y, más frecuentemente, en el peridomicilio (en gallineros y corrales), donde han sido encontrados presentando altas tasas de infección por *T. cruzi* (Carcavallo *et al.* 1998b; Santos *et al.*, 2004; 2005). Según, Leite *et al.*, 2010, la creciente presencia de este triatomino en el entorno doméstico es debido, en gran parte, a la deforestación de la Floresta Atlántica.

Se ha observado con gran frecuencia, la invasión de domicilios de adultos de esta especie atraídos por la luz artificial, además, ya se han visto pequeñas colonias dentro de las casas (Santos *et al.*, 2005; 2006; de Souza *et al.*, 2010).

Es fundamental la constante vigilancia de este triatomino, ya que presenta un gran potencial como vector de la enfermedad y es mayoritariamente peridomiciliario. Sirviendo así de puente entre en el entorno silvestre y doméstico, lo que incrementa todavía más el riesgo de transmisión de *T. cruzi* a los humanos.

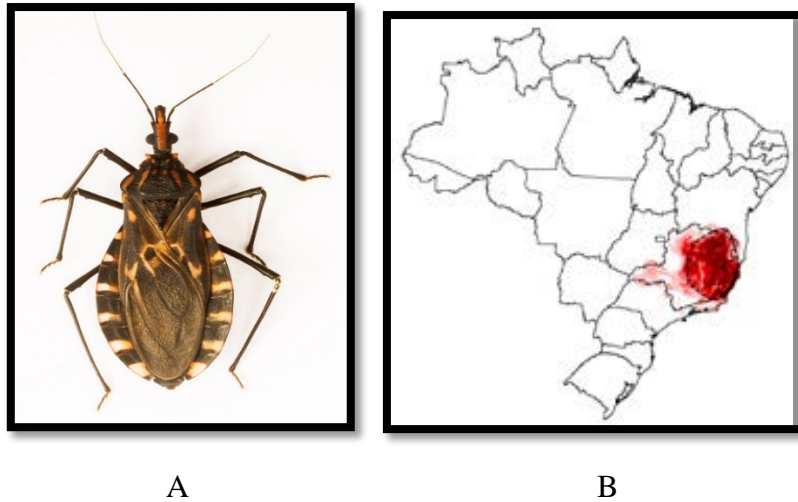


Figura 16. Ejemplar adulto de *T. vitticeps* (A) (<http://triatokokey.cpqrr.fiocruz.br>) y distribución geográfica de *T. vitticeps* en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

1.2.2.2. Género *Panstrongylus* (Berg, 1879)

El género *Panstrongylus* está compuesto actualmente por 13 especies ampliamente distribuidas a lo largo del Sur y Centro de América (de México a Argentina) (Curto de Casas *et al.*, 1999).

Las especies *P. geniculatus* y *P. rufotuberculatus*, encontradas en 18 y 10 países, respectivamente, presentan la distribución geográfica más amplia en América, extendiéndose de México a Argentina, incluyendo las Islas Caribeñas. *P. herreri*, encontrado en 7 países sudamericanos, es la tercera especie más extendida geográficamente. *P. megistus*, importante especie a nivel epidemiológico, está restringida al este de Sudamérica. Las demás especies presentan una distribución más limitada o distribuciones geográficas todavía indeterminadas (Patterson *et al.*, 2009).

Los vectores de este género pueden ser encontrados en madrigueras terrestres, en las cavidades de las raíces de los árboles y/o en los huecos de los árboles, aunque hay especies que pueden ser encontradas en las copas de palmeras como es el caso de *P. megistus* (Gaunt & Miles, 2000)

De las 13 especies que representan este género, 11 de ellas ya han sido encontradas infectadas naturalmente por *T. cruzi*. Las altas tasas de infección parecen indicar la proximidad de estas especies a los reservorios así como la alta susceptibilidad a *T. cruzi*, como puede ser el caso de *P. megistus* en Brasil, *P. herreri* en Perú y *P. geniculatus* en varios países.

Por otro lado también es de suma importancia epidemiológica la proximidad a la fuente de alimento de las distintas especies y el contacto vector-humano, lo que puede revelar la presencia de posibles ciclos sinantrópicos de transmisión (que se adapta a los ambientes relacionados con humanos), como es el caso de *P. megistus*, una de las principales especies domiciliadas en Brasil, y *P. herreri* en el norte de Perú; *P. geniculatus*, *P. lutzi* y *P. rufotuberculatus* son capaces de colonizar el entorno doméstico y peridoméstico en algunas áreas, mientras *P. diasi*, *P. guentheri*, *P. howardi*, *P. humeralis* y *P. tupynambai* son especies silvestres con registros ocasionales de invasión a las viviendas humanas (Carcavallo *et al.*, 1998a; Patterson *et al.*, 2009).

I. INTRODUCCIÓN

En Brasil, la especie de este género que posee la distribución geográfica más amplia es *P. megistus*, localizada en 22 Estados del país, seguida de *P. geniculatus*, presente en 20 Estados, *P. lutzi* y *P. diasi*, ambas halladas en 9 Estados de la Federación (Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Debido a la amplia distribución geográfica así como el importante proceso de domiciliación que presenta los vectores de este género, es de vital importancia conocer las características biológicas y genéticas de las principales especies en Brasil a la hora de enfocar las campañas de control.

Panstrongylus megistus

Panstrongylus megistus, que está presente en Argentina, Bolivia, Brasil, Paraguay y Uruguay, fue la primera especie de triatomino identificado como vector de la enfermedad de Chagas (Chagas, 1909). Estaba considerado el principal vector doméstico en Brasil hasta la década de 1930, cuando empezó a ser reemplazado progresivamente por *T. infestans* (Dias & Dias, 1968; Silveira, 2011).

Tras el éxito del programa de control de la enfermedad de Chagas en el Cono Sur lanzado en 1991, cuyo objetivo principal era la eliminación de *T. infestans* en determinadas áreas, *P. megistus* inició un nuevo proceso de invasión y domiciliación en varios Estados de Brasil (Dias & Schofield, 1999).

Este triatomino presenta una extensa distribución geográfica, con una gran capacidad de adaptación y un gran potencial de colonizar ecotopos artificiales. Aunque por lo general está asociado a bosques húmedos, actualmente está presente en todos los tipos de bosques brasileños (secos y húmedos, excepto la Amazonia), en el Cerrado (sabana brasileña) y en la Caatinga (remanentes forestales) (Forattini, 1980; Barbosa *et al.*, 2001, 2003; Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2012).

Según Barbosa *et al.*, 2006, los registros de la paleo-vegetación en Brasil muestran un proceso claro de extensión y posterior retracción del bosque húmedo alrededor de los últimos 18.000 años, lo que puede explicar la expansión de esta especie a través de diferentes tipos de biomas.

Fue durante el período postcolonial que *P. megistus* empezó a invadir el entorno doméstico como resultado de la destrucción de su hábitat natural y desarrollo de la agricultura (Forattini *et al.*, 1977; Litvoc *et al.*, 1990; Barbosa *et al.*, 2006).

Actualmente se encuentra en las copas de las palmeras, en refugios de roedores, edentados, marsupiales y murciélagos, en los nidos de aves, gallineros, huecos de árboles, domicilios y diversas estructuras peridomiciliares y está considerado el principal vector autóctono de la enfermedad de Chagas en las regiones del este, sudeste y centro de Brasil, encontrándose en los Estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Minas Gerais, Pará (registro histórico, la especie ya no fue capturada en este Estado), Paraíba, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo, Sergipe y Tocantins (Figura 17) (Patterson *et al.*, 2009; Cavassin *et al.*, 2014; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

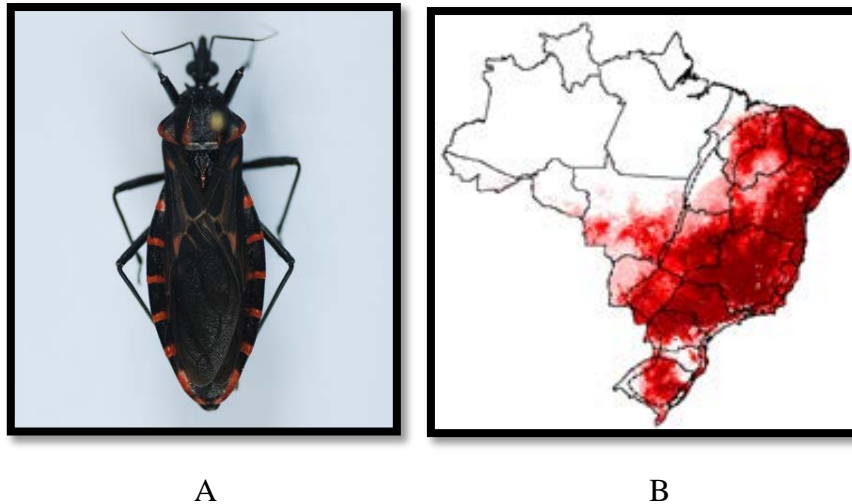


Figura 17. Ejemplar adulto de *P. megistus* (A) (<http://triatomekey.cpqrr.fiocruz.br>) y distribución geográfica de *P. megistus* en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Panstrongylus geniculatus

Panstrongylus geniculatus Latreille, 1811, es la especie de triatomino del género *Panstrongylus* con la distribución geográfica más amplia en el Continente Americano, encontrándose presente en 18 países: Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Guatemala, Guyana, Guyana Francesa, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, Surinam, Trinidad, Uruguay y Venezuela (Patterson *et al.*, 2009).

Esta especie presenta una gran variabilidad morfológica y está adaptada a diferentes tipos de ecotopos (secos y húmedos). Se encuentra en una grande diversidad de hábitats silvestres que incluye madrigueras, sitios asociados a armadillos, zarigüeyas, roedores, murciélagos y pájaros, en los huecos o bajo la corteza de árboles, entre las hojas de diferentes especies del género *Bromelia* y en palmeras (Carcavallo *et al.*, 1998b; Rabinovich & Feliciangeli, 2015).

Aunque es considerada una especie silvestre, ha sido capturada con frecuencia en entornos peridomésticos asociados a cerdos (Valente *et al.*, 1998) e, incluso, ya se ha observado su presencia dentro de los domicilios. Aunque este proceso de domiciliación parece ser debido a la atracción de los adultos de esta especie a la luz eléctrica de las viviendas (Valente, 1999), en Almafi, Colombia, Wolff & Castillo, 2000, han relatado casos de invasión de *P. geniculatus* al entorno doméstico no exclusivamente atraídos por la luz.

En Caracas, Venezuela, se han colectado en repetidas ocasiones insectos de esta especie dentro de los domicilios (Carrasco *et al.*, 2005; Carrasco *et al.*, 2014), localidad donde también se ha registrado casos de transmisión oral de la enfermedad de Chagas a través de alimentos contaminados con las heces de *P. geniculatus* (de Noya *et al.*, 2015). También se ha visto que este triatomino ha sido encontrado invadiendo domicilios en la región de Cochabamba, Bolivia (Rojas-Cortez *et al.*, 2016). Por todo eso, es una especie que merece especial atención debido a su posible potencial como vector de la enfermedad en el entorno urbano.

En Brasil está presente en diferentes tipos de biomas: la Amazonia, el Cerrado, la Caatinga y en todos los tipos de bosques (de muy secos a muy húmedos y lluviosos), encontrándose en las siguientes Unidades Federativas: Acre, Amapá, Amazonas, Bahía, Ceará, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do

I. INTRODUCCIÓN

Sul, Minas Gerais, Pará, Paraná, Piauí, Rio de Janeiro, Rondônia, Roraima, São Paulo y Tocantins (Figura 18) (Patterson *et al.*, 2009; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

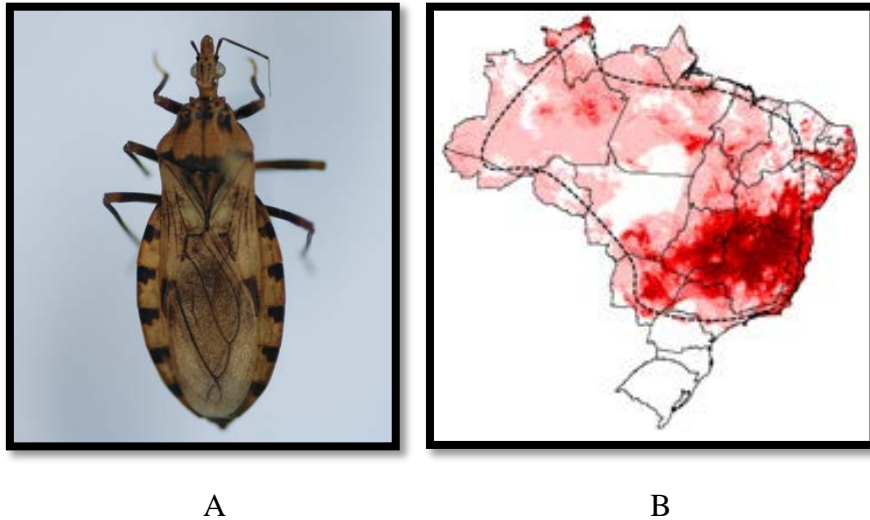


Figura 18. Ejemplar adulto de *P. geniculatus* (A) (<http://triatomekey.cpqrr.fiocruz.br>) y distribución geográfica de *P. geniculatus* en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Panstrongylus lutzi

Panstrongylus lutzi Neiva & Pinto, 1923, es, junto con *P. diasi*, la tercera especie del género *Panstrongylus* con la distribución geográfica más amplia en Brasil. Es una especie encontrada únicamente en Brasil y está considerado como uno de los vectores secundarios más importantes en el país.

Merece especial destaque debido a su capacidad de invadir los domicilios volando y sus altas tasas de infección natural por *T. cruzi*. Un estudio sobre fuentes alimentares ha demostrado que esta especie está asociada a, al menos, ocho especies de huéspedes diferentes, principalmente a armadillos. Han sido encontrados bajo la corteza del árbol conocido en Brasil como “Pau Branco” (*Auxemma onocalyx*), en rocas habitadas por el roedor *Kerodon rupestris*, conocido vulgarmente en Brasil como “mocó” y sobre todo en los nidos de armadillos (Dias-Lima *et al.*, 2003; Caranha *et al.*, 2006).

Este triatomino es una especie natural de la Caatinga de Brasil y parece estar restringida a los bosques húmedos autóctonos de Brasil (Lent & Wygodzinsky, 1979; Carcavallo *et al.*, 1999b). Aunque sea una especie predominantemente silvestre, su presencia en el peri e intradomicilio ha sido registrada con una frecuencia progresiva (Vinhaes & Dias, 2000; Freitas *et al.*, 2004; Barbosa-Silva *et al.*, 2016; Dos santos *et al.*, 2016). En el Estado brasileño de Ceará se han observado colonias dentro de las viviendas con una tasa de infección por *T. cruzi* que llegaba al 4,6% (Garcia *et al.*, 2005).

Se encuentra en los Estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Minas Gerais, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte y Sergipe (Figura 19) (Patterson *et al.*, 2009; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

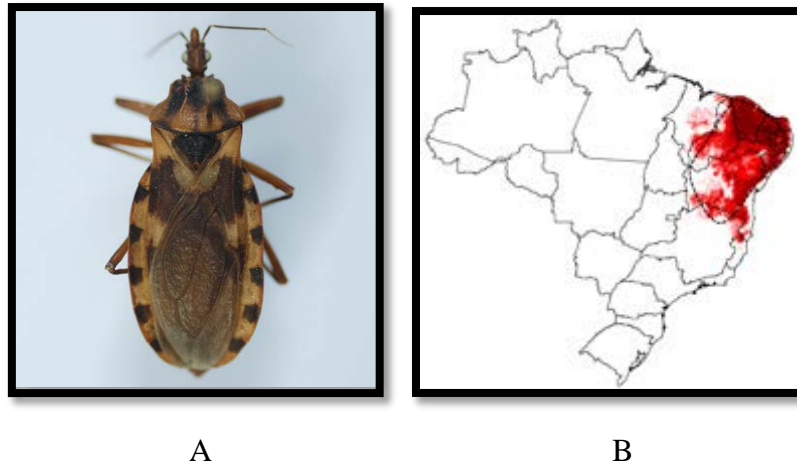


Figura 19. Ejemplar adulto de *P. lutzii* (A) (<http://triatokokey.cpqrr.fiocruz.br>) y distribución geográfica de *P. lutzii* en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

En este estudio se incluirá, además, la especie *P. herreri* (sinonimia con *P. herreri*, Wygodzinsky, 1948), debido a la importancia como vector sinantrópico y su papel en la epidemiología de la enfermedad.

Panstrongylus herreri

Panstrongylus herreri Walker, 1873, y *P. lignarius*, han sido sinonimizados por Galvão *et al.*, 2003 en base a estudios de marcadores moleculares (similitud en secuencias de ITS-2 rADN) (Marcilla *et al.*, 2001) y citogenéticos (Crossa *et al.*, 2002).

Es una especie muy importante debido a su gran potencial sinantrópico (Patterson *et al.*, 2009). Se encuentra en diferentes hábitats, como palmeras, copas de árboles, nidos de tucanes (aves de la familia Ramphastidae), entre las hojas de diferentes especies del género *Bromelia*, asociados a marsupiales y roedores, en gallineros y, en diversas ocasiones, localizado en los domicilios (Carcavallo *et al.*, 1998b; Gaunt & Miles, 2000).

Este vector ha sido asociado en diversas ocasiones con la transmisión de *T. cruzi* a humanos, participando, de esta manera, como conexión entre los ciclos silvestres y domésticos, como se ha podido observar en la Región Amazónica, donde se ha hallado este triatomino volando desde palmeras (*Attalaea phalerata*) a los domicilios (Teixeira *et al.*, 2001).

Se encuentra en Brasil, Ecuador, Guyana, Guyana Francesa, Perú, Surinam y Venezuela. En Brasil está presente en los Estados de Amazonas, Maranhão, Pará y Tocantins (Figura 20) (Patterson *et al.*, 2009; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

I. INTRODUCCIÓN

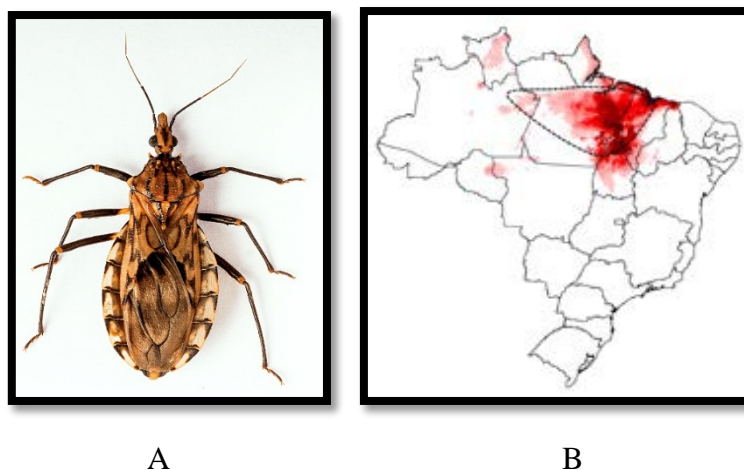


Figura 20. Ejemplar adulto de *P. herreri* (A) (<http://triatotokey.cpqrr.fiocruz.br>) y distribución geográfica de *P. herreri* en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

1.2.2.3. Género *Rhodnius* (Stål, 1859)

El género *Rhodnius*, que pertenece a la tribu Rhodniini, posee, actualmente, 19 especies ampliamente distribuidas en América del Sur y Central (Abad-Franch *et al.*, 2009; 2013; Alevi *et al.*, 2015a; Ravazi *et al.*, 2016).

Aunque todas las especies de este género sean potenciales vectores de *T. cruzi*, con excepción de *R. amazonicus* que todavía no ha sido encontrado infectado naturalmente por tripanosomátidos (Bérenger & Pluot-Sigwalt, 2002; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014), cada una tiene su particular importancia epidemiológica.

La gran mayoría de estos triatominos son silvestres, encontrándose, en general, en las copas de palmeras, en nidos de aves y en madrigueras de mamíferos marsupiales. Algunos casos de invasión peri y domiciliar por parte de determinadas especies ya han sido registrados, así como de colonización de domicilios (Gurgel-Gonçalves & Cuba, 2007; Abad-Franch *et al.*, 2009; Fé *et al.*, 2009a; Rodrigues *et al.*, 2014; Cordovez & Guhl, 2015).

Los vectores del género *Rhodnius* son morfológicamente muy similares (especies crípticas), lo que, mediante diversos estudios, ha llevado a la división de las especies de este género en diferentes grupos, los cuales han sido nombrados al principio como “pallescens”, “prolixus” y “pictipes” (Abad-Franch *et al.*, 2009; Alevi *et al.*, 2015a), aunque la relación entre estos grupos no haya sido bien establecida, presentando resultados conflictivos en la literatura (Lyman *et al.*, 1999; Monteiro *et al.*, 2000; Hypsa *et al.*, 2002).

Se ha observado que muchos de los diferentes estudios filogenéticos tienden a dividir los triatominos de este género en dos grandes grupos, según los dos linajes principales: “grupo robustus” (*R. dalessandroi*, *R. domesticus*, *R. milesi*, *R. nasutus*, *R. neglectus*, *R. neivai*, *R. prolixus*, *R. robustus* y las tres especies del género *Psammolestes*) y “grupo pictipes” (*R. amazonicus*, *R. brethesi*, *R. colombiensis*, *R. ecuadoriensis*, *R. pallescens*, *R. paraensis*, *R. pictipes* y *R. stali*) (Monteiro *et al.*, 2000; 2003; Abad-Franch & Monteiro, 2007; Pavan & Monteiro, 2007; Schofield, & Galvão, 2009; Pavan *et al.*, 2013; Mesquita *et al.*, 2015), división que será considerada en el presente estudio.

El gran parecido morfológico de estas especies y las distintas clasificaciones del género *Rhodnius*, destaca la necesidad de diferentes herramientas para la investigación

taxonómica de estas especies, lo que es fundamental para las campañas de control en los países endémicos de esta enfermedad (Monteiro *et al.*, 2000; Paula *et al.*, 2007; Schofield & Galvão, 2009; Ravazi *et al.*, 2016).

En Brasil, están presentes en diferentes biomas, siendo su principal localización el Amazonas seguido del Cerrado (Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2012). Las tres principales especies, en términos de distribución geográfica en el país, son *R. neglectus*, que está presente en 13 Estados, seguido de *R. robustus*, localizado en 10 Estados y *R. pictipes*, hallado en 9 Estados brasileños (Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Rhodnius neglectus

Rhodnius neglectus Lent, 1954, es una especie endémica de Brasil, localizada principalmente en el bioma del Cerrado brasileño, y está presente en los Estados de Bahia, Distrito Federal, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraíba, Pernambuco, Paraná, Piauí, São Paulo y Tocantins (Figura 21) (Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2012; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Es un vector predominantemente silvestre, cuyas poblaciones se encuentran frecuentemente en palmeras de los géneros *Attalea*, *Acrocomia* y *Mauritia*. Además, pueden ser encontrados en nidos de pájaros de la familia Furnariidae y en madrigueras de mamíferos marsupiales (zarigüeyas), de los cuales se alimenta, teniendo un importante papel en la transmisión enzootica de *T. cruzi* (Diotaiuti & Dias 1984; Carcavallo *et al.*, 1998b; Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2004; Gurgel-Gonçalves & Cuba, 2007; Abad-Franch *et al.*, 2009; Rodrigues *et al.*, 2014).

En los últimos años, se ha observado en reiteradas ocasiones, invasiones de domicilios en los Estados de Bahia, Goiás, Minas Gerais, Paraná, Pernambuco, Piauí, São Paulo y Tocantins. Además, ya se ha visto colonización domiciliar por parte de esta especie de triatomino en los Estados brasileños de Goiás, Minas Gerais y São Paulo (Silva *et al.*, 1999; Soares *et al.*, 1999; Oliveira & Silva, 2007; Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2008a; 2008b; 2009; Silva *et al.*, 2012; Rodrigues *et al.*, 2014; Alevi *et al.*, 2015b).

Es necesario mencionar, asimismo, que a pesar de que el bioma del Cerrado sea su hábitat predominante, ya se ha verificado la presencia de este triatomino en los biomas brasileños de Caatinga y Pantanal. Este hecho puede ser debido al transporte a través de pájaros, certificando, así, su capacidad de dispersión (Gurgel-Gonçalves & Cuba, 2009).

Debido a la actual situación epidemiológica de colonización domiciliar y de que su hábitat silvestre sea mayoritariamente palmeras, las cuales también están presentes en el entorno del peridomicilio, es necesario la constante vigilancia de este vector, ya que la relación entre los ciclos silvestres y domiciliar puede ser incesante.

I. INTRODUCCIÓN

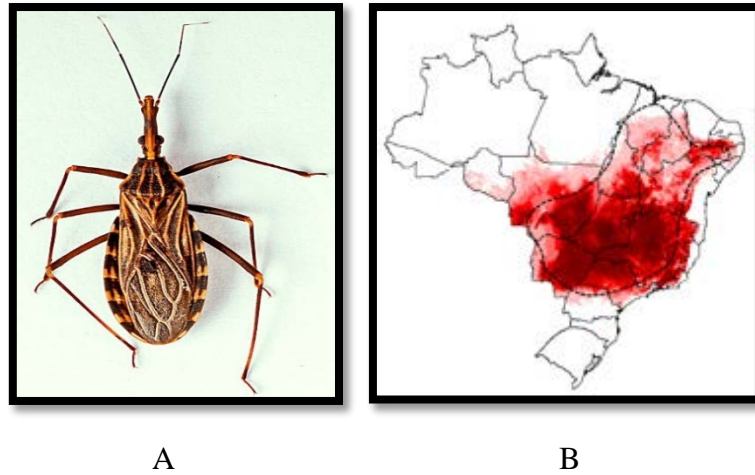


Figura 21. Ejemplar adulto de *R. neglectus* (A) (<http://triatology.cpqrr.fiocruz.br>) y distribución geográfica de *R. neglectus* en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Rhodnius robustus

Rhodnius robustus Larrousse, 1927, está distribuido principalmente en la región del Amazonas (Abad-Franch & Monteiro, 2007). Ésta es la subregión más grande del área biogeográfica Neotropical y abarca 13 provincias biogeográficas y más de 40 ecoregiones (Morrone, 2006).

Se encuentra en los Estados brasileños de Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Piauí, Rondônia, Roraima y Tocantins (Figura 22). Y, a parte de Brasil, también está presente en diferentes países de Sudamérica (que hacen parte de la Región Amazónica): Bolivia, Colombia, Ecuador, Guyana Francesa, Perú y Venezuela (Abad-Franch & Monteiro, 2007; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014; Péneau *et al.*, 2016).

Es un vector considerado silvestre, cuyo hábitat natural son diferentes especies de palmeras de los géneros *Acrocomia*, *Attalea*, *Maximiliana*, *Orbignya* y *Oenocarpus*, además, también ha sido encontrado en madrigueras de mamíferos marsupiales, como las zarigüeyas (Miles *et al.*, 1983; Carcavallo *et al.*, 1998b; Fé *et al.*, 2009a; Dias *et al.*, 2014).

Presenta altas tasas de infección por *T. cruzi* (Aguilar *et al.*, 2007; Fé *et al.*, 2009a; Abad-Franch *et al.*, 2009; Rubio *et al.*, 2013) y ya se ha localizado adultos de esta especie invadiendo domicilios, lo que quizá sea debido a la atracción de las luces artificiales (Valente *et al.*, 2009; Castro *et al.*, 2010). En Venezuela ya se ha observado casos de invasión de domicilios donde este triatomino se alimenta de sangre humana (Feliciangeli *et al.*, 2002).

R. robustus es muy similar morfológicamente a la especie *R. prolixus*, siendo consideradas especies crípticas. Estudios moleculares han confirmado el status específico de ambas especies y sugerido que *R. robustus* abarca un complejo de especies crípticas, el “grupo *robustus*”, al cual pertenecen las siguientes especies ya mencionadas anteriormente, *R. dalessandroi*, *R. domesticus*, *R. milesi*, *R. nasutus*, *R. neglectus*, *R. neivai*, *R. prolixus*, *R. robustus* y las tres especies del género *Psammolestes* (Monteiro *et al.*, 2000; 2003; Abad-Franch & Monteiro, 2007; Pavan & Monteiro, 2007; Schofield & Galvão, 2009; Pavan *et al.*, 2013). Hay que resaltar, además, que como *R. prolixus* no está presente en Brasil, pero sí en países fronterizos (Medone *et al.*, 2015; Angulo-Silva *et al.*, 2016), la diferenciación entre las especies de este complejo es primordial para el control vectorial de la enfermedad.

Como es una especie ampliamente distribuida en la Región Amazónica, donde en los últimos años ha ascendido de manera alarmante el número de casos de la enfermedad, y es capaz de invadir domicilios, su vigilancia es fundamental para el control de la enfermedad de Chagas en esta región.

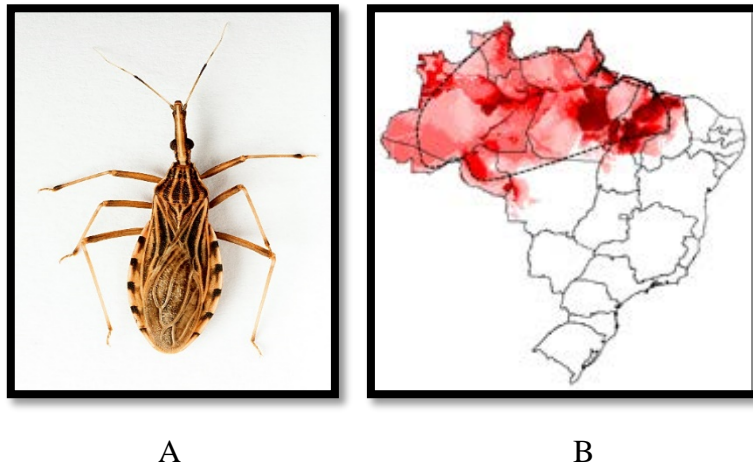


Figura 22. Ejemplar adulto de *R. robustus* (A) (<http://triatomekey.cpqrr.fiocruz.br>) y distribución geográfica de *R. robustus* en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

Rhodnius pictipes

Rhodnius pictipes Stål, 1872, así como *R. robustus*, es una especie que está generalmente distribuida por la Región Amazónica (Abad-Franch & Monteiro, 2007). Se encuentra en diferentes países de América: Belice, Brasil, Colombia, Ecuador, Guyana, Guyana Francesa, Perú, Surinam, Trinidad y Venezuela. En Brasil está presente en los Estados de Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Piauí, Rondônia*, Roraima y Tocantins (Figura 23) (Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2012; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014; Péneau *et al.*, 2016). *Según Pavan, 2009, las especies encontradas en Rondônia pueden ser una nueva especie afín de *R. pictipes*.

Está considerado un triatomino silvestre, encontrándose en palmeras de diferentes géneros, como *Acrocomia*, *Maximiliana* y *Oenocarpus*, y entre las hojas de diferentes especies del género *Bromelia* (Miles *et al.*, 1983; Carcavallo *et al.*, 1998b; Fé *et al.*, 2009a). Sin embargo, ya se ha observado especímenes adultos invadiendo domicilios o capturados próximos a la luz artificial (Castro *et al.*, 2010).

R. pictipes presenta importantes tasas de infección por *T. cruzi* e, incluso, ha presentado infección mixta por *T. cruzi* y *T. rangeli*. (Fé *et al.*, 2009a).

En el municipio de São Paulo de Olivença, en la región del Alto Solimões, donde fue registrado el primer caso de la enfermedad de Chagas en el Estado de Amazonas, este triatomino fue la especie predominante en el intradomicilio (Fé *et al.*, 2009b).

Esta especie, así como *R. robustus*, también pertenece a un complejo de especies crípticas, conforme ya visto anteriormente, el llamado “grupo *pictipes*”, que incluye las especies *R. amazonicus*, *R. brethesi*, *R. colombiensis*, *R. ecuadoriensis*, *R. pallescens*, *R. paraensis*, *R. pictipes* y *R. stali* (Monteiro *et al.*, 2000; Abad-Franch & Monteiro, 2007; Schofield, & Galvão, 2009).

I. INTRODUCCIÓN

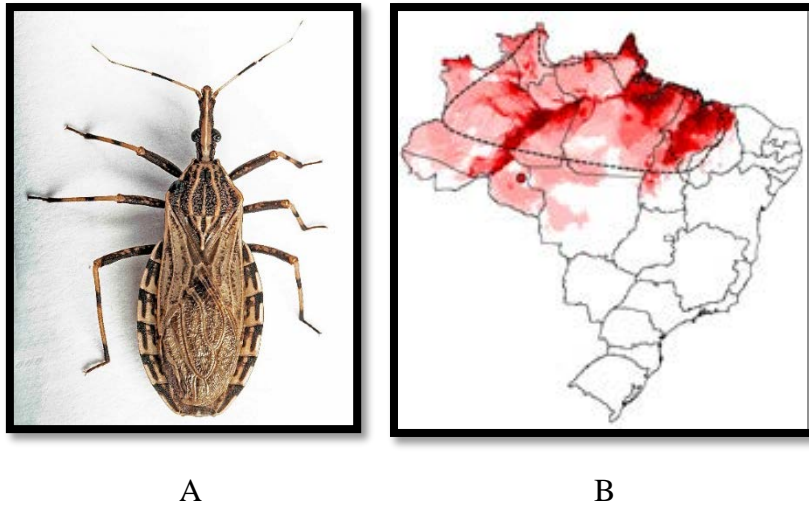


Figura 23. Ejemplar adulto de *R. pictipes* (A) (<http://triatokokey.cpqrr.fiocruz.br>) y distribución geográfica de *R. pictipes* en Brasil (B) (adaptado de Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014).

1.3. CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE TRIATOMINOS MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES

Como se ha mencionado anteriormente, la ausencia de fármacos eficaces y de una vacuna disponible para la enfermedad de Chagas hacen con que los vectores triatominos sean el objetivo principal de las medidas de control de esta parasitosis. Por esta razón, se han hecho grandes esfuerzos multidisciplinarios para una mejor comprensión y catalogación de los vectores de esta enfermedad.

La sistemática vectorial siempre ha jugado un papel fundamental en las enfermedades de transmisión por vectores. Identificar las características biológicas, morfológicas y genéticas, así como la biogeografía de los triatominos, es de gran importancia para la correcta inserción de las diferentes especies dentro de los diferentes taxones y para las adecuadas medidas que deben ser tomadas en las campañas de control vectorial.

Hace algunos años, se vio que técnicas moleculares, fundamentalmente las basadas en el ADN (citogenética, microsatélites, RAPD y secuenciación), aplicadas al estudio de triatominos, permitían confirmar relaciones evolutivas previamente establecidas por criterios morfológicos y biogeográficos, además de resolver determinados problemas de especiación críptica y plasticidad fenotípica (García & Powell, 1998; Bargues *et al.*, 2000; Monteiro *et al.*, 2001).

La subfamilia Triatominae es considerada un grupo polifilético (ha evolucionado a partir de diferentes ancestros) desde hace años (Galvão *et al.*, 2003; Schofield, & Galvão, 2009). Diferentes estudios moleculares, como los estudios de isoenzimas y perfiles de RAPD (García *et al.*, 1998) y los estudios de marcadores del ADN ribosomal nuclear y mitocondrial (García & Powell, 1998; Lyman *et al.*, 1999; Bargues *et al.*, 2000; Marcilla *et al.*, 2001; Mas-Coma & Bargues, 2009; Hwang & Weirauch, 2012; Bargues *et al.*, 2016), han confirmado el origen polifilético de esta subfamilia, como también la inclusión de las dos principales tribus pertenecientes a ésta, Triatomini y Rhodniini.

La tribu Triatomini, a la cual pertenecen los géneros *Triatoma* y *Panstrongylus*, presenta la mayor diversidad dentro de la subfamilia Triatominae. A lo largo de los años, muchas propuestas taxonómicas han sido presentadas para los diferentes grupos de esta tribu.

Con el desarrollo de las diversas técnicas moleculares (principalmente basadas en análisis de secuencias de ADN de diferentes marcadores moleculares), se ha podido realizar varias comprobaciones y diversos hallazgos relacionados con esta tribu, como por ejemplo:

- (i) El origen polifilético del género *Panstrongylus* (Marcilla *et al.*, 2002).
- (ii) La validez del género *Mepraia*, mediante datos citogenéticos y análisis de secuencias de ADN (Calleros *et al.*, 2010);
- (iii) La identificación de los cambios genéticos en *T. infestans* generados debido al proceso de domiciliación (Panzera *et al.*, 2004; Bargues *et al.*, 2006).
- (iv) Descubrimiento de una nueva especie en la Península de Yucatán (México), anteriormente confundida con *T. dimidiata* (Bargues *et al.*, 2000; 2008).
- (v) La presencia de formas intermedias de diferentes especies en la naturaleza, como es el caso de *T. b. brasiliensis*, *T. b. macromelasoma* y *T. juazeirensis* (Correia *et al.*, 2013; Costa *et al.*, 2016).
- (vi) La posibilidad de aclarar la posición taxonómica de diferentes especies dentro de subcomplejos, como por ejemplo la exclusión de *T. melanocephala*, *T.*

I. INTRODUCCIÓN

tibiamaculata y *T. vitticeps* del subcomplejo Brasiliensis (Gardim *et al.*, 2014).

La tribu Rhodniini, con apenas dos géneros, *Rhodnius* y *Psammolestes*, es un grupo monofilético, aunque los diferentes estudios basados en técnicas moleculares han identificado que el principal género de esta tribu, *Rhodnius*, presenta un origen polifilético (Monteiro *et al.*, 2000; Paula *et al.*, 2007; Schofield & Galvão, 2009).

Los marcadores moleculares son, al día de hoy, una de las herramientas más útiles para la clasificación de este grupo de insectos. La secuenciación del ADN ribosomal nuclear (ADNr) y del ADN mitocondrial (ADNmt), cuyas características serán detalladas a continuación, ha demostrado ser un valioso método de información taxonómica y de caracterización vectorial (Mas-Coma & Bargues, 2009).

1.3.1. Marcadores moleculares del ADN ribosomal nuclear

El ADN ribosomal (ARNr) nuclear eucariota está constituido por unidades de transcripción u operones localizados en los cromosomas nucleares y que se encuentran en forma de repeticiones en tándem. En los artrópodos cada repetición contiene los genes codificantes de los ARN ribosomales (18S, 5.8S y 28S), además de tres tipos de fragmentos espaciadores: los espaciadores internos transcritos (ITS-1 e ITS-2, del inglés *Internal Transcribed Spacer*) que se intercalan entre los genes, los espaciadores externos transcritos (ETS, del inglés *External Transcribed Spacer*) que flanquean a los genes y los espaciadores no transcritos (NTS, del inglés *Non-Transcribed Spacer*) que separan una repetición de la siguiente (Figura 24).

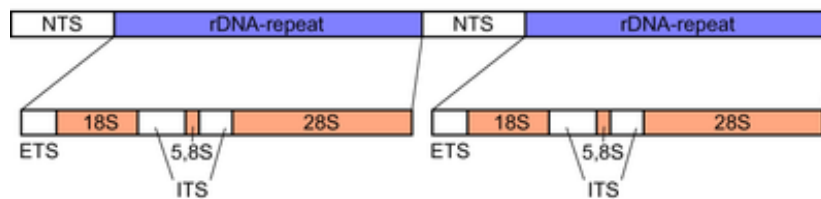


Figura 24. Esquema del ADN ribosomal nuclear eucariota (Hillis & Dixon, 1991).

El conjunto de genes, los ITSs y ETSs es transcrito por la ARN polimerasa I de forma constante. Posteriormente, hay un proceso de maduración donde se separarán los espaciadores del ARN producto de los genes (Gerbi, 1985). Todavía no se sabe al cierto la función de estos espaciadores, se sabe que suelen tener una divergencia evolutiva rápida, por lo tanto es probable que no tengan una función concreta, aunque en levaduras se ha visto que tienen un papel importante en la maduración de los ARNr (van der Sande *et al.*, 1992).

Cada gen del ADNr tiene una velocidad de sustitución diferente y presenta regiones conservadas y variables incluidas en las secuencias de los genes 18S y 28S y, de la misma manera, cada uno de los espaciadores también evolucionan a diferentes velocidades. Los genes ribosomales en general presentan una variabilidad muy baja y están muy conservados, siendo útiles para relaciones filogenéticas más antiguas. Los espaciadores evolucionan mucho más rápidamente y son más útiles para establecer relaciones evolutivas más recientes (Jorgensen & Cluster, 1988).

Mientras los NTS y ETS se utilizan muy esporádicamente, debido a su gran variabilidad y dificultades de secuenciación, los ITSs han sido ampliamente utilizados para establecer relaciones a nivel de especies, subespecies o poblaciones.

Otra característica a destacar del ADN ribosomal nuclear es su evolución concertada. En esta forma de evolución, con el tiempo adecuado, el ADN ribosomal nuclear de una población determinada elimina sus diferencias y homogeniza todas sus copias, lo que resultará en individuos uniformes dentro de la población (Hillis & Dixon, 1991; Liao, 1999).

A partir de la gran diversidad de estudios en el decorrer de los años, se ha visto que los ITSs son excelentes marcadores para diferenciar especies. Son considerados, principalmente el ITS-2, como las mejores herramientas para los estudios taxonómicos a nivel de especie y subespecie, siendo el ITS-2 el marcador más importante para diferenciar especies crípticas (Bargues *et al.*, 2000; 2002; Marcilla *et al.*, 2001; 2002).

En los estudios de la subfamilia Triatominae, el ITS-2 ha sido el marcador más utilizado. Presenta una longitud variable, entre 470-600 pares de bases en la tribu Triatomini y alrededor de 700 pares de bases en la tribu Rhodniini y una desviación clara en su composición nucleotídica (con una media de 76 % de A y T). A pesar de ser un buen marcador a nivel de especies, subespecies, híbridos y poblaciones, no resulta muy apropiado para comparar entre tribus debido a las diferentes longitudes (Bargues *et al.*, 2000; 2002; 2006; Marcilla *et al.*, 2001; 2002).

También se ha estudiado en triatominos el ITS-1 y la región intergénica completa, que comprende los ITSs y el gen 5.8S, que está entre ambos (Bargues *et al.*, 2006; 2007; Pacheco *et al.*, 2007; Calleros *et al.*, 2010; Cavassin *et al.*, 2013; Costa *et al.*, 2016).

Los genes ribosomales 18S y 28S han sido menos estudiados ya que son más conservados. El 5.8S no ha sido utilizado en estudios filogenéticos de triatominos ya que es altamente conservado entre todas las especies de la subfamilia Triatominae (Monteiro *et al.*, 2000; Mas-Coma & Bargues, 2009).

1.3.2. Marcadores moleculares del ADN mitocondrial

Las mitocondrias de los animales son controladas por un sistema genómico dual, en lo cual hay una cooperación entre los genes mitocondriales endógenos y los genes nucleares codificados (Rand *et al.*, 2004). En los eucariotas, el genoma mitocondrial es una molécula circular cerrada de ADN, que presenta variaciones de tamaño entre diferentes organismos y contiene 36 o 37 genes que codifican proteínas que desempeñarán su función dentro de la propia mitocondria, como las proteínas de la cadena de transporte de electrones, enzimas de la fosforilación oxidativa y las subunidades ribosomales mitocondriales (Ballard & Rand, 2005).

El ADN mitocondrial evoluciona mucho más rápido que el ADN nuclear y la mayoría de los cambios son sustituciones nucleotídicas simples o, ocasionalmente, inserciones o deleciones de uno o pocos nucleótidos. Debido a esto, muchos de los genes mitocondriales han sido utilizados para establecer relaciones filogenéticas a niveles taxonómicos bajos como géneros, especies y poblaciones. Los genes mitocondriales se heredan de forma clonal, sin recombinaciones (herencia materna) y, en general, con una elevada tasa de sustitución en la tercera posición del codón, siendo muy utilizados para estudios de genética poblacional, (Navajas *et al.*, 1996; Dotson & Beard, 2001; Simon *et al.*, 2006). No obstante, presentan secuencias aminoacídicas bastante conservadas que son

I. INTRODUCCIÓN

herramientas útiles para estudios a nivel taxonómicos superiores como familias o incluso ordenes (Fрати *et al.*, 1997).

Solamente unos pocos genes mitocondriales han podido ser utilizados con éxito en los estudios filogenéticos, ya que presentan una gran variabilidad, siendo muy difícil el diseño de cebadores específicos. Los más utilizados son el 12S ARNr, 16S ARNr, Citocromo B (CytB), subunidad 1 del gen Citocromo Oxidasa (CO1) y subunidad 1 del gen NADH Deshidrogenasa (ND1) (Hwang & Kim, 1999). Las características de los marcadores citados serán comentadas en la Tabla 4.

La selección de cada uno de estos genes depende del grupo de organismo que será estudiado. Debido al alto nivel de saturación (acumula múltiples sustituciones en sitios variables, especialmente en la tercera posición del codón) que presentan estos genes, aunque ideales para estudios de especies próximas, se sugiere que no deben ser utilizados para estimar relaciones entre grupos de especies distantes (Blair *et al.*, 1997; Morgan & Blair, 1998; Saccone *et al.*, 2000).

Para estudios filogenéticos de triatominos, estos marcadores vienen siendo aplicados desde finales de los años 90. Los más utilizados han sido las secuencias parciales de los genes 12S, 16S, CytB y CO1, como podemos observar en algunos estudios: García & Powell, 1998; Lyman *et al.*, 1999; Monteiro *et al.*, 2000; 2003; 2004; García *et al.*, 2001; 2003; Sainz *et al.*, 2004; Da silva *et al.*, 2007; Pavan & Monteiro, 2007; Almeida *et al.*, 2008; 2016; Mas-Coma & Bargues, 2009; Gardim *et al.*, 2014; Justi *et al.*, 2014; Mendonça *et al.*, 2016).

Marcador Molecular	Características	Debilidades
12S: Gen 12S ARNr. Longitud total de 781 pb. Región frecuentemente analizada: fragmentos de 339-371 pb.	<ul style="list-style-type: none"> - Presenta la tasa de evolución más baja entre todos los marcadores del ADN mitocondrial. - Útil para estudios a nivel de especies de un mismo género. - Puede revelar diferencias a nivel de población. 	No recomendable para estudios comparativos entre especies de diferentes géneros y tribus o niveles más altos.
16S: Gen 16S ARNr. Longitud total de 1270 pb. Región frecuentemente analizada: fragmentos de 501-510 pb.	<ul style="list-style-type: none"> - Evoluciona en paralelo al 12S, pero es más variable. - Tende a revelar más diferencias entre especies de diferentes tribus. 	No recomendable para estudios a nivel de género o niveles más altos.
ND1: Subunidad 1 del gen NADH Deshidrogenasa. Longitud total de 912-939 pb. Región frecuentemente analizada: el gen completo.	<ul style="list-style-type: none"> - Evoluciona más rápido que los anteriores pero más despacio que CO1 y CytB. - Útil para estudios de especies estrechamente relacionadas 	Presenta saturación cuando se comparan especies distantes del mismo género.
CO1: Subunidad 1 del gen Citocromo Oxidasa. Longitud total de 1534 pb. Región frecuentemente analizada: fragmentos de 1431-1447 pb y fragmentos de 636-661 pb.	<ul style="list-style-type: none"> - Evoluciona ligeramente más rápido que ND1 pero más lento que CytB. - Útil para estudios a nivel de especies estrechamente relacionadas. 	Presenta saturación cuando se comparan especies distantes y a niveles taxonómicos más altos.
CytB: Citocromo B. Longitud total de hasta 1136 pb. Región frecuentemente analizada: 313-682 pb.	<ul style="list-style-type: none"> - Presenta la evolución más rápida entre los genes del ADNmt. - Útil para estudios comparativos a nivel de subespecies (intrapoblacional, interpoblacional, entre morfos y subespecies). 	Presenta saturación cuando se comparan especies distantes y a niveles taxonómicos más altos.

Tabla 4. Características de los marcadores del ADN mitocondrial más utilizados en los estudios filogenéticos de triatominos (adaptado de Bargues *et al.*, 2010).

La secuencia del genoma mitocondrial completo ha sido obtenido para la especie *T. dimidiata*, con una longitud de 17.019 pares de bases (Dotson & Beard, 2001) (Figura 25), y para la especie *R. prolixus*, con una longitud de 15.456 pares de base (<http://www.pnas.org/content/112/48/14936.short>) (Mesquita *et al.*, 2015).

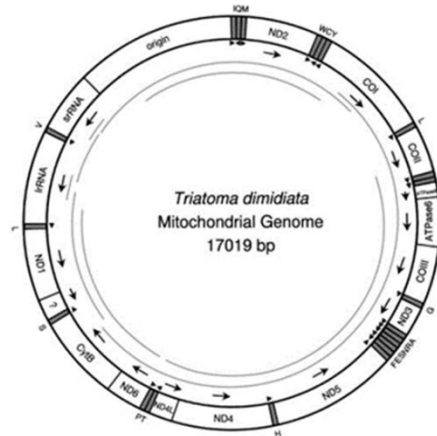


Figura 25. Esquema del ADN mitocondrial completo de *T. dimidiata* (Dotson & Beard, 2001).

1.3.3. Ventajas y desventajas de marcadores ribosomales y mitocondriales

La principal característica que los diferencian es que los marcadores del ADN ribosomal nuclear evolucionan más lentamente que los marcadores del ADN mitocondrial, haciendo que los primeros sean más útiles para estudios filogenéticos a niveles más altos (familia, subfamilia, género y especie), mientras que los segundos sean más adecuados para establecer relaciones a niveles más bajos (especie, subespecie y población).

A seguir se citarán algunas de las características diferenciales entre los dos tipos de marcadores a tener en cuenta (Mas-Coma & BARGUES, 2009):

- (i) El ADN mitocondrial es más fácil de amplificar por PCR que el ADN ribosomal, ya que presenta un elevado número de copias (entre 10^2 a 10^4 por célula).
- (ii) El ADN ribosomal contiene regiones muy conservadas, lo que es ideal para el diseño de cebadores, mientras el ADN mitocondrial presenta una alta variabilidad.
- (iii) El ADN ribosomal, fundamentalmente los ITSs, presentan un elevado número de inserciones y deleciones, dificultando el alineamiento de las secuencias. Los marcadores mitocondriales, al no presentar inserciones y deleciones, son más fáciles de alinear.
- (iv) El ADN ribosomal sigue una herencia mendeliana, facilitando el estudio de organismos bisexuados. El ADN mitocondrial se hereda clonalmente (herencia materna), sin recombinación, presentando, así, menos problemas en el análisis filogenético.
- (v) Los genes mitocondriales no son adecuados para resolver filogenias antiguas, ya que tienden a alcanzar altos niveles de homoplasia (cambio evolutivo paralelo que hace que dos organismos presenten un mismo carácter adquirido independientemente), eliminando señales filogenéticas.

I. INTRODUCCIÓN

- (vi) El ADN ribosomal, como está sometido a una evolución concertada, simplifica los estudios entre poblaciones de una especie concreta, ya que con un solo individuo se puede caracterizar una población local. Pero es una limitación para estudios intrapoblacionales, donde es más útil el ADN mitocondrial.

1.3.4. Tendencias actuales: estudios multigénicos y nuevos marcadores moleculares

En los últimos años, se ha observado que diversos estudios genéticos de triatomíneos combinan más de un marcador molecular, inclusive marcadores ribosomales nucleares y mitocondriales simultáneamente (Martínez *et al.*, 2006; Weirauch & Munro, 2009; Calleros *et al.*, 2010; Gardim *et al.*, 2014; Justi *et al.*, 2014). Tanto los marcadores moleculares como los ITSs del ADN ribosomal nuclear son útiles para taxonomía a niveles más bajos, como estudios de poblaciones, de subespecies, especies crípticas y especies muy próximas.

Con el estudio multigénico se ha podido resolver diversos problemas inherentes a cada marcador, principalmente cuando se lleva a cabo un estudio más profundo relacionado a un grupo de poblaciones, subespecies y especies cercanas. Como se ha descrito anteriormente, los marcadores mitocondriales son más apropiados para estudios intrapoblacionales, mientras que los marcadores ribosomales nucleares (los ITSs) son más adecuados para estudios interpopulacionales e interespecíficos.

Además, la combinación de marcadores permite detectar fenómenos de introgresión e híbridos, ya que presentan diferentes tipos de herencia (Mas-Coma & Bargues, 2009).

Otra tendencia actual es el uso de nuevos marcadores moleculares con el objetivo de seguir resolviendo las debilidades que presentan los marcadores estudiados hasta el momento. Uno de los últimos estudios que se está llevando a cabo es la secuenciación de la subunidad 4 y la subunidad 5 del gen NADH Deshidrogenasa (ND4 y ND5) (Fernández *et al.*, 2013; Gómez-Palacio *et al.*, 2015; Dorn, *et al.*, 2016; Monsalve *et al.*, 2016).

1.3.5. Detección de pseudogenes

Como se ha comentado anteriormente, el ADN ribosomal nuclear presenta una evolución concertada. De esta manera, con el tiempo suficiente, se homogeniza muchas copias de ADNr nuclear tanto entre cromosomas homólogos como entre no homólogos dentro de un genoma (Liao, 1999; Mas-Coma & Bargues, 2009).

Aunque el ADN ribosomal nuclear evoluciona de manera concertada, algunos genomas contienen una gran diversidad de ADNr parálogos (secuencias homólogas dentro de un genoma que se han originado mediante un mecanismo de duplicación), que aparecen cuando la especiación es más rápida que la evolución concertada y contienen no solamente loci funcionales como también pseudogenes putativos y recombinantes.

Los pseudogenes son secuencias homólogas procedentes de genes evolutivamente activos que han perdido su capacidad funcional (aunque, actualmente, su funcionalidad es una cuestión muy debatida). En este contexto, un locus ribosomal se convierte en pseudogen cuando pasa a ser inactivo o cuando una copia del ADNr es dispersada a otra región del genoma (Buckler IV *et al.*, 1997; Zheng & Gerstein, 2007; Sasidharan & Gerstein, 2008).

Los pseudogenes han sido bastante estudiados en plantas, siendo detectados en secuencias parálogas del gen 5.8S y de los ITSs. Presentan determinadas características

que los diferencian de los genes funcionales: (i) variaciones en su longitud; (ii) tasas de sustitución aceleradas; (iii) sustituciones en sitios de metilación (CG y CNG), lo que disminuye su contenido en GC y la estabilidad de las estructuras secundarias. Esta inestabilidad hace que los pseudogenes puedan ser amplificados bajo condiciones de PCR estándar (Harpke & Peterson, 2006; Zheng *et al.*, 2008).

En los triatominos, todos los pseudogenes descritos habían sido descubiertos en el genoma mitocondrial y comprobados ser no funcionales debido a la presencia de codones de parada (Mas-Coma & Bargues, 2009). Sin embargo, recientemente, se ha detectado nuevas secuencias parálogas del gen 5.8S y del ITS-2 en muchas especies de triatominos de Norteamérica, Centroamérica y del norte de Sudamérica, las cuales han demostrado ser pseudogenes con características que sugieren una potencial funcionalidad (Bargues *et al.*, 2014).

La coexistencia de dos secuencias diferentes (5.8S+ITS-2) en una misma especie de triatomino (una que se corresponde a la secuencia funcional del ADNr y otra que se corresponde a la secuencia pseudogénica), ha sido confirmada mediante diferentes medios, como clonación y siguiente secuenciación de clones, dobles señales en los cromatogramas de análisis de secuencias, amplificación con cebadores específicos para cada una de las secuencias (funcional y pseudogénica) y cuantificación relativa mediante PCR real-time (Bargues *et al.*, 2014).

La secuencia del pseudogen descubierta en la región 5.8S+ITS-2, constituye un marcador molecular nuevo de gran importancia para diversos estudios de vectores triatominos, tales como clasificación de especies, análisis filogenéticos y taxonómicos, así como para la epidemiología y control de la enfermedad de Chagas (Zuriaga *et al.*, 2015).

I. INTRODUCCIÓN

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo general

El presente trabajo tiene como objetivo general la caracterización a nivel molecular de los principales vectores de la enfermedad de Chagas en Brasil, mediante la secuenciación y análisis de los marcadores moleculares del ADNr nuclear (ITS-1, 5.8S e ITS-2), del ADN mitocondrial (16S, ND1, CO1 y CytB), así como la posible detección de pseudogenes. La principal finalidad de este estudio será realizar un haplotipaje molecular multigénico de los principales vectores de la enfermedad de Chagas en Brasil (de los géneros *Triatoma*, *Panstrongylus* y *Rhodnius*) para contribuir a la vigilancia epidemiológica y al monitoramiento de la expansión geográfica de los triatominos, así como su proceso de domiciliación y transmisión de la enfermedad.

1.4.2. Objetivos específicos

- Estudios combinados genotípicos y epidemiológicos de los principales vectores de diferentes ecotopos (domésticos, peridomésticos y silvestres) procedentes de diferentes Estados de Brasil.
- Análisis y definición de haplotipos; elaboración de banco de datos genético.
- Estudio detallado de la relación biológica, genética y evolutiva del proceso de domiciliación de diferentes vectores de importancia epidemiológica en Brasil.
- Aplicación de nuevos marcadores moleculares útiles para la epidemiología, sistemática y control de la enfermedad de Chagas, como la posible detección de pseudogenes.
- Análisis filogenéticos y evolutivos: distribución geográfica y filogeografía basados en secuencias de ADN.
- Aportar datos sobre la expansión geográfica y los procesos de domiciliación de los diferentes vectores analizados, información decisiva a la hora de diseñar y enfocar las campañas de control vectorial.
- Estimar el papel vectorial de las especies de triatominos analizados en función de su localización geográfica y sus relaciones filogenéticas, con el fin de contribuir al control vectorial de las mismas.

CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MATERIALES

2.1.1. Muestras biológicas

Para este estudio se han procesado y secuenciado un total de 90 insectos de las especies *Triatoma pseudomaculata* (3), *Triatoma sordida* (2), *Triatoma brasiliensis* (12), *Triatoma juazeirensis* (7), *Triatoma sherlocki* (7), *Triatoma melanica* (2), *Triatoma lenti* (4), *Triatoma petrocchiai* (10), *Triatoma melanocephala* (5), *Triatoma tibiamaculata* (4), *Triatoma vitticeps* (6), *Panstrongylus megistus* (6), *Panstrongylus geniculatus* (2), *Panstrongylus lutzi* (3), *Panstrongylus herreri* (4), *Rhodnius neglectus* (5), *Rhodnius pictipes* (4) y *Rhodnius robustus* (4) (Tabla 5). Para el alineamiento y análisis comparado de las secuencias obtenidas, se utilizaron un total de 230 haplotipos ribosomales y mitocondriales publicados hasta la fecha y disponibles en la base de datos del GenBank.

Los insectos proceden de 9 Estados brasileños: Bahia (39), Paraíba (7), Ceará (4), Rio Grande do Norte (9), Minas Gerais (9), São Paulo (6), Espírito Santo (4), Pará (6), y Tocantins (2). Además de muestras procedentes de Lima/Perú (2) y de Venezuela (2) (Figura 26).

Los triatominos fueron recoletados, fijados en etanol y enviados al Laboratorio de Parasitología Molecular del Departamento de Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valencia por investigadores del Instituto Oswaldo Cruz, investigadores de diferentes universidades brasileñas e investigadores pertenecientes a la red ECLAT (European Community Latin American Network for Research on the Biology and Control of Triatominae).

Triatomos procedentes de Brasil

Especie	Estado	Localidad	Ecotopo	n	
<i>Triatoma pseudomaculata</i> (n=3)	Bahia (BA)	Seabra	Silvestre	2	
		Paraíba (PB)	Cajazeiras	Intradomicilio	1
<i>Triatoma sordida</i> (n=2)	Bahia (BA)	Seabra	Silvestre	2	
<i>Triatoma brasiliensis</i> (n=12)	Bahia (BA)	Curaçá	Silvestre	3	
		Ceará (CE)	Icó	Silvestre	2
			Umari	Silvestre	2
	Paraíba (PB)	Cajazeiras	Peridomicilio	2	
		Santa Terezinha/Patos	Silvestre	1	
		Rio Grande do Norte (RN)	Caicó	Silvestre	2
<i>Triatoma juazeirensis</i> (n=7)	Bahia (BA)	Juazeiro	Silvestre	5	
		Ibipeba	Silvestre	2	
<i>Triatoma sherlocki</i> (n=7)	Bahia (BA)		Silvestre	3	
		Gentio do Ouro	Silvestre	2	
		Santo Inácio/Gentio do Ouro	Silvestre	2	
<i>Triatoma melanica</i> (n=2)	Bahia (BA)	Paus-Preto	Silvestre	2	
<i>Triatoma lenti</i> (n=4)	Bahia (BA)		Silvestre	2	
		Macaúbas	Silvestre	2	
<i>Triatoma petrocchiai</i> (n=10)	Paraíba (PB)	Cajazeiras	Peridomicilio	2	
		Santa Terezinha	Silvestre	1	

II. MATERIALES Y MÉTODOS

	Rio Grande do Norte (RN)	Caicó	Silvestre	5
		Currais Novos	Silvestre	2
<i>Triatoma melanocephala</i> (n=5)	Bahia (BA)	Poções	Silvestre	3
		Jequié	Silvestre	2
<i>Triatoma tibiamaculata</i> (n=4)	São Paulo (SP)	Mogi Guaçu	Silvestre	4
<i>Triatoma vitticeps</i> (n=6)	Espírito Santo (ES)	Guarapari	Silvestre	3
	Minas Gerais (MG)	Pedra Azul	Silvestre	3
<i>Panstrongylus megistus</i> (n=6)	Bahia (BA)	Seabra	Silvestre	4
	São Paulo (SP)	Juquiá	Silvestre	2
<i>Panstrongylus geniculatus</i> (n=2)	Bahia (BA)	Seabra	Silvestre	2
<i>Panstrongylus lutzi</i> (n=3)	Bahia (BA)	Curaçá	Silvestre	3
<i>Panstrongylus herreri</i> (n=4)	Pará (PA)	Belém	Silvestre	4
<i>Rhodnius neglectus</i> (n=5)	Minas Gerais (MG)	Frutal	Silvestre	3
		Uberaba	Silvestre	2
<i>Rhodnius pictipes</i> (n=4)	Pará (PA)	Belém	Silvestre	2
	Tocantins (TO)	Tocantinópolis	Silvestre	2
OTROS PAÍSES				
<i>Rhodnius robustus</i> (n=2)	Lima/Perú		Silvestre	2
<i>Rhodnius robustus</i> (n=2)	Venezuela		Silvestre	2

Tabla 5. Especies estudiadas, procedencia geográfica de las muestras biológicas y número de muestras analizadas de cada localidad. Las siglas correspondientes a cada Estado brasileño, entre paréntesis.

II. MATERIALES Y MÉTODOS



Figura 26. Procedencia geográfica de las muestras analizadas. Cada punto representa una localización geográfica donde se capturaron triatomíneos utilizados en este estudio.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. Selección de marcadores moleculares

Al día de hoy, para identificar y clasificar triatomíneos, a parte de la identificación y clasificación morfológica, se usan marcadores moleculares, concretamente del ADN ribosomal nuclear y del ADN mitocondrial, como ya se ha comentado anteriormente. La elección de uno u otro marcador molecular se justifica en función de la información que genera cada uno y de sus características diferenciales. En función del objetivo del estudio, serán más adecuados los marcadores ribosomales, los marcadores mitocondriales o la combinación de ambos.

En el presente trabajo se ha seleccionado la región intergénica completa (ITS-1 + 5.8S + ITS-2) del ADN ribosomal nuclear y, del ADN mitocondrial, los genes 16S, ND1, CO1 y CytB. La combinación de ambos tipos de marcadores proporcionará la información complementaria que permitirá el desarrollo de los objetivos del trabajo.

2.2.1.1. Marcadores ribosomales nucleares

En triatomíneos, los marcadores del ADN ribosomal nuclear estudiados han sido los genes 18S, 5.8S y la región D2 de gen 28S, además de los espaciadores internos ITS-1 e ITS-2 (Bargues *et al.*, 2000; 2002; 2006; 2008; Marcilla *et al.*, 2001; 2002; Martínez *et al.*, 2006; Pacheco *et al.*, 2007; Calleros *et al.*, 2010; Cavassin *et al.*, 2013; Costa *et al.*, 2016).

Los marcadores del ADN ribosomal nuclear presentan una serie de características que los hacen ideales para los estudios de relaciones filogenéticas a nivel de género, especie y subespecie.

2.2.1.2. Marcadores mitocondriales

Los marcadores del ADN mitocondrial presentan una evolución más rápida que los marcadores del ADN nuclear, por eso se utilizan en los análisis de relaciones filogenéticas a nivel de subespecies, poblaciones e híbridos.

En el presente estudio se han analizado los genes 16S ARNr, ND1, CO1 y CytB de las diversas especies seleccionadas con el objetivo de obtener la máxima información genética posible de triatomíneos de diferentes localidades de Brasil, así como de establecer sus relaciones filogenéticas. Los criterios de aplicación de estos marcadores se han basado en sus características y debilidades, comentadas anteriormente en la Tabla 4.

Estos marcadores presentan características específicas que los hacen ideales para estudios entre especies próximas, lo que es fundamental para las posibles revisiones de las relaciones taxonómicas.

2.2.2. Extracción del ADN

La extracción de ADN se llevó a cabo mediante el kit comercial InstaGene Matrix de Bio-Rad, siguiendo el protocolo de extracción de ADN proporcionado por el fabricante.

El proceso de extracción mediante este kit comercial se basa en el empleo de una matriz que retiene los productos generados de la lisis celular, lo que permite la obtención

II. MATERIALES Y MÉTODOS

de un extracto de ADN de un modo más rápido y sencillo que la extracción clásica fenol-cloroformo.

El material de partida para la extracción fue una pata de cada insecto, pudiendo utilizarse la pata completa si su tamaño es pequeño, o solamente la musculatura, que puede ser extraída del interior del exoesqueleto de quitina. En este último caso se obtiene un extracto de mayor pureza al evitar la presencia de quitina.

Todo el material empleado en la extracción fue previamente esterilizado. El protocolo de extracción utilizado es el siguiente:

1. Se añaden 200 µl de la matriz en un tubo eppendorf. Es importante agitar, previamente a su uso, la matriz en un agitador magnético para resuspenderla correctamente y tomarla en la concentración adecuada.
2. Incorporar la pata entera o la musculatura al tubo con la matriz de extracción y triturarla con unas tijeras de punta fina y aguda.
3. Incubar a 56°C, con agitación de 800 rpm durante 30 minutos.
4. Agitar en un vórtex durante 10 segundos.
5. Incubar en agua en ebullición durante 8 minutos.
6. Agitar en un vórtex durante 10 segundos.
7. Centrifugar durante 3 minutos a 13.000 rpm.
8. Tomar el sobrenadante, con precaución de no arrastrar el precipitado que contiene la matriz y los restos celulares, y pasarlo a un eppendorf previamente rotulado y autoclavado.
9. Conservar congelado a -20°C.

2.2.3. Amplificación por PCR de los marcadores moleculares

Las secuencias de los marcadores moleculares de cada espécimen fueron amplificadas mediante la reacción en cadena de la polimerasa (*Polimerase Chain Reaction*, PCR).

Los oligonucleótidos cebadores utilizados para la reacción se unen a zonas conservadas que flanquean a las secuencias analizadas. Algunos cebadores fueron diseñados a partir del genoma mitocondrial completo de *T. dimidiata* (Dotson & Beard, 2001) y otros utilizados a partir de lo que había descrito en la bibliografía (Monteiro *et al.*, 2000; Mas-Coma & Bargues, 2009; Justi *et al.*, 2014), en el caso de los genes mitocondriales. Para el ITS-1 +5.8S + ITS-2 del ADN ribosomal nuclear se utilizaron los cebadores descritos anteriormente en la bibliografía (Bargues & Mas-Coma, 1997; Marcilla *et al.*, 2001; Bargues *et al.*, 2006).

La mezcla de reacción utilizada tiene un volumen total de 25µl y una composición constante.

En la Tabla 6 se detalla la composición de la mezcla de reacción de PCR.

COMPONENTES	CONCENTRACIÓN	VOLUMEN
<u>Mezcla de reacción:</u>		
Tampón	*	2,5 µl
MgCl₂	50 mM	2,0 µl
dNTPs	2 µM (de cada uno)	5,0 µl
Cebadores	10 µM (de cada uno)**	1,0 µl (de cada uno)
Polimerasa***	5 U µl ⁻¹	0,3 µl
ADN	Superior a 10 ng µL ⁻¹	6,0 µl
Agua		7, 2 µl

Tabla 6. Composición de la mezcla de PCR. * Tampón: Tris-HCL 50 mM, pH=8.0; NaCl 100 mM; EDTA 0,1 mM; DTT 1 mM; Glicerol 50 %; Tritón X-100 1 %. ** En el caso del gen 18S los cebadores tenían una concentración de 5 µM. *** Biotools ADN polymerase 1000 Units 5 U µl⁻¹ de Biotools, B & M Labs, S.A.

La reacción se realizó en un termociclador Mastercycler Eppgradient (Eppendorf, Hamburg, Germany). Los programas utilizados fueron los siguientes:

- **ITS-1:** 1) 4 minutos a 94 °C; 2) 40 segundos a 94 °C; 3) 45 segundos a 55 °C; 4) 40 segundos a 72 °C; 35 ciclos repetitivos de los pasos 2 a 4; 5) 4 minutos a 72 °C; 6) descenso y mantenimiento a 4 °C.
- **ITS-2 opción A:** 1) 4 minutos a 94 °C; 2) 40 segundos a 94 °C; 3) 45 segundos a 50 °C; 4) 40 segundos a 72 °C; 30 ciclos repetitivos de los pasos 2 a 4; 5) 4 minutos a 72 °C; 6) descenso y mantenimiento a 4 °C.
- **ITS-2 opción B*:** 1) 3 minutos a 94 °C; 2) 1 minuto a 94 °C; 3) 1 minuto a 52,2 °C; 4) 1 minuto a 72 °C; 30 ciclos repetitivos de los pasos 2 a 4; 5) 7 minutos a 72 °C; 6) descenso y mantenimiento a 4 °C.
- **16S:** 1) 5 minutos a 95 °C; 2) 1 minuto a 95 °C; 3) 1 minuto a 50 °C; 4) 1 minuto a 72 °C; 35 ciclos repetitivos de los pasos 2 a 4; 5) 10 minutos a 72 °C; 6) descenso y mantenimiento a 4 °C.
- **ND1 gen entero (924 pb):** 1) 3 minutos a 94 °C; 2) 30 segundos a 94 °C; 3) 1 minuto a 48 °C; 4) 2 minutos a 72 °C; 35 ciclos repetitivos de los pasos 2 a 4; 5) 5 minutos a 72 °C; 6) descenso y mantenimiento a 4 °C.
- **ND1 gen por partes**:** 1) 30 segundos a 94 °C; 2) 30 segundos a 94 °C; 3) 45 segundos a 50 °C; 4) 1 minuto y 30 segundos a 72 °C; 40 ciclos repetitivos de los pasos 2 a 4; 5) 5 minutos a 72 °C; 6) descenso y mantenimiento a 4 °C.
- **ND1 Rhodnius***:** 1) 4 minutos a 94 °C; 2) 30 segundos a 94 °C; 3) 50 segundos a 55 °C; 4) 2 minutos a 72 °C; 35 ciclos repetitivos de los pasos 2 a 4; 5) 4 minutos a 72 °C; 6) descenso y mantenimiento a 4 °C.
- **CO1:** 1) 2 minutos a 94 °C; 2) 1 minuto a 94 °C; 3) 1 minuto a 50 °C; 4) 3 minutos a 72 °C; 30 ciclos repetitivos de los pasos 2 a 4; 5) 2 minutos a 72 °C; 6) descenso y mantenimiento a 4 °C.
- **CytB 1ª parte del gen (de 1 a 830 pb):** 1) 3 minutos a 94 °C; 2) 1 minuto a 94 °C; 3) 45 segundos a 55°C; 4) 1 minuto y 30 segundos a 72 °C; 35 ciclos

II. MATERIALES Y MÉTODOS

repetitivos de los pasos 2 a 4; 5) 7 minutos a 72 °C; 6) descenso y mantenimiento a 4 °C.

- **CytB 2^a parte del gen (de 831 a 1134 pb):** 1) 3 minutos a 94 °C; 2) 1 minuto a 94 °C; 3) 1 minuto a 50°C; 4) 1 minuto y 30 segundos a 72 °C; 35 ciclos repetitivos de los pasos 2 a 4; 5) 10 minutos a 72 °C; 6) descenso y mantenimiento a 4 °C.

*Algunas especies amplifican a 50 °C y otras a 52,2 °C. **Parte 1: de 1 a 583 pb y parte 2: de 584 a 924 pb. ***Con este programa también se amplifica un fragmento que incluye el gen CytB y el ND1.

2.2.4. Electroforesis en gel de agarosa

La finalidad de realizar una electroforesis es, por una parte, verificar el éxito de la PCR, comparando la movilidad del fragmento amplificado con un control positivo y un patrón de fragmentos de peso molecular conocido, y por otra, estimar la cantidad aproximada de amplificado obtenido en la reacción de PCR en función de la intensidad de la banda.

Para realizar la electroforesis se prepara un gel de agarosa al 1% en tampón TAE, al que le añade 1 µl de una solución de bromuro de etidio de concentración 10 mg/ml. Se cargan en cada pocillo de gel 4 µl de muestra previamente mezclada con 2 µl de un tampón de carga a base de glicerina, azul de bromofenol y EDTA. La electroforesis se realizó a 60 V constantes durante 60 minutos.

El resultado de la electroforesis se observa a través de un iluminador ultravioleta, ya que el bromuro de etidio es un agente intercalante que se une a los fragmentos de ADN y al exponerlo a la luz ultravioleta emite fluorescencia y permite ver las bandas del amplificado.

2.2.5. Purificación de los productos de PCR

El objetivo de este paso es obtener una solución concentrada de alta pureza del fragmento amplificado, eliminando los restos de cebadores, nucleótidos, sales, etc.

Esta purificación se llevó a cabo utilizando el kit comercial Ultra Clean™ PCR Clean-up ADN Purification System (MoBio, Solana Beach, CA, USA), siguiendo el protocolo facilitado por el fabricante. El fundamento de este método es retener el ADN en una membrana de sílice y arrastrar el resto de sustancias presentes en la PCR.

Para realizar la purificación, en primer lugar se adiciona al producto de PCR una solución de sales de pH adecuado (6 - 7,5) para retener solamente los fragmentos de ADN mayores a 60 pares de bases, con lo que se eliminan los cebadores, además de los dNTPs, la enzima y los constituyentes del tampón de reacción. A continuación, se hace pasar por la membrana una solución de lavado que contiene etanol para eliminar las trazas de sustancias no deseadas o contaminantes que puedan quedar. Por último, el ADN es liberado de la membrana añadiendo tampón Tris 10 mM y se conserva congelado a -20°C.

2.2.6. Cuantificación y determinación de la pureza del ADN

La concentración de ADN y su pureza son medidas espectrofotométricamente en una dilución de la muestra al 5% en agua autoclavada.

A partir de la absorbancia a 260 nm de longitud de onda se calcula la concentración de ADN en µg/ml y a 280 nm se determina la pureza de la muestra. La relación A_{260}/A_{280}

se encuentra en torno a 1,8 cuando el ADN es puro. Valores por debajo de 1,6 indican contaminación por proteínas y no es aconsejable la secuenciación en este caso, pues no se obtienen buenos resultados.

2.2.7. Clonación de fragmentos de ADN en bacterias *E. coli* DH5 α

En los casos en que la secuenciación directa de los fragmentos de ADN amplificados dio malos resultados, obteniéndose secuencias con doble señal e imposibles de interpretar, se recurrió a la clonación de estos fragmentos. Estos tipos de interferencias en la secuenciación aparecen cuando durante la PCR se amplifican, además de la secuencia correcta, otras secuencias donde los cebadores se unen de forma inespecífica. Para solucionar este problema, se llevó a cabo la clonación en bacterias, que permite obtener la secuencia a partir de una única copia del fragmento de ADN amplificado, eliminando así las interferencias causadas por las amplificaciones inespecíficas.

El protocolo seguido para la clonación consta de las siguientes etapas:

1. **Ligación:** el fragmento de ADN amplificado y purificado se introduce en un vector de clonación, en este caso el plásmido comercial pGEM-T (pGEM-T Easy Vector System I, Promega). Siguiendo el protocolo del fabricante, se prepara la siguiente mezcla de ligación: 1 μ l de plásmido (50 ng/ μ l), 5 μ l de buffer de ligación (2X), 1-2 μ l ADN (inserto), 1 μ l ADN ligasa (3 unidades/ μ l), agua hasta un volumen total de 10 μ l. La reacción de ligación se completa en 2 horas a temperatura ambiente.
2. **Transformación:** el proceso de transformación consiste en introducir el vector (plásmido con el inserto) en células competentes (capaces de captar ADN) de *Escherichia coli* de la cepa DH5 α . El método utilizado para la transformación en este caso fue el shock térmico. Para ello, se añaden 50 μ l de células competentes a la mezcla de ligación anterior, se mantiene durante 30 minutos en hielo, posteriormente se pasan a 42 °C durante 30 segundos, luego, otra vez a hielo durante 2 minutos y finalmente a 37 °C durante 5 minutos. Estos cambios bruscos de temperatura produce el cierre de los poros en la membrana celular de las bacterias, quedando el vector en el interior de las células. A continuación se añade a las células 1 ml de medio de cultivo LB líquido y se incuban durante 1 hora a 37 °C con agitación ligera para promover su crecimiento antes de pasarlas a un medio sólido. Una vez transformadas las bacterias se siembran en placas agar LB S-Gal con ampicilina. En este medio solamente son capaces de crecer aquellas bacterias que han captado el plásmido, que contiene un gen de resistencia a la ampicilina. Además, el medio de cultivo LB S-Gal es un medio selectivo, ya que contiene galactosa que solamente puede ser metabolizada por aquellas bacterias que contienen el plásmido sin inserto de ADN, puesto que el inserto se introduce dentro de un gen que codifica una enzima necesaria para la metabolización de la galactosa; como resultado, las colonias que no contienen inserto son de color azul (a causa de un metabolito de la galactosa), mientras que las que sí contienen inserto son de color blanco. Las placas se mantienen durante 24 horas a 37 °C.
3. **Separación de clones:** a partir de colonias aisladas crecidas en las placas de agar se hacen cultivos en medio LB líquido para obtener mayor cantidad del inserto de ADN. Tras el crecimiento de la colonias durante 24 horas a 37 °C, se procede a la extracción del ADN plasmídico de las bacterias mediante un proceso de lisis de las células y posterior amplificación del fragmento aislado a través de PCR.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.8. Secuenciación del ADN

Las secuencias de bases nitrogenadas correspondientes a los fragmentos de ADN amplificados se obtuvieron por un método de secuenciación automática.

Esta metodología consiste en realizar una PCR con un único cebador, añadiendo a la mezcla de reacción didesoxinucleótidos (ddNTPs) marcados con distintos fluoróforos para cada base nitrogenada; al ser incorporados por la polimerasa, estos ddNTPs detienen la síntesis de la cadena en crecimiento, puesto que impiden la adición del siguiente nucleótido. El resultado de la PCR será una colección de fragmentos de diferente longitud terminados en un ddNTP fluorescente. Al someter esta mezcla a una electroforesis capaz de discriminar diferencias de tamaño de un solo nucleótido, es posible detectar mediante un lector de fluorescencia la secuencia de señales fluorescentes, que se corresponderá con la secuencia de bases nitrogenadas.

Los reactivos utilizados pertenecen al kit comercial Big Dye® Terminator v. 3.1; la mezcla de reacción se muestra en la Tabla 7.

COMPONENTE	CONCENTRACIÓN	VOLUMEN
<u>Mezcla de reacción:</u>		
Big Dye	*	1 µl
Tampón	*	1,5 µl
Agua		1,5 µl
Cebador	5 µM	1 µl
ADN	**	**
Agua		El necesario para completar 10 µl

Tabla 7. Composición de la PCR de marcaje. * Mezcla de reactivos y tampón pertenecientes al kit comercial: Big Dye ® Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA). ** Dependiendo del tamaño del fragmento a secuenciar se requiere una cantidad de ADN determinada, en este caso 1000 ng; el volumen añadido dependerá de la concentración de la muestra, con un máximo de 5 µl.

El proceso de secuenciación del ADN ha sido llevado a cabo mediante el equipo Applied Biosystems 3730 ADN Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

2.2.9. Análisis de las secuencias

De cada muestra se han obtenido dos lecturas, la del cebador forward (lectura en dirección 5´ a 3´) y la del cebador reverse (lectura en dirección 3´ a 5´). Mediante el análisis y alineamiento de las lecturas de los dos cebadores, se obtiene una secuencia consenso.

Las secuencias fueron alineadas y analizadas utilizando el programa Clustal W 2 (Larkin *et al.*, 2007) y MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) versión 6.0 (Tamura *et al.*, 2013). Las homologías se realizaron utilizando el programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) de la página web del Centro Nacional de Información Biotecnológica (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

Estas aplicaciones permiten la comparación de las secuencias obtenidas entre ellas y con secuencias extraídas de bases de dato de ADN, así como el cálculo de los parámetros de longitud, composición en bases nucleotídicas, variabilidad y la traducción a secuencias aminoacídicas en el caso de genes codificantes de proteínas.

Los análisis de las distancias genéticas han sido llevados a cabo por el algoritmo estadístico Neighbour-Joining (Saitou & Nei, 1987), que han permitido obtener los cálculos de matrices según distintos estimadores de distancias genéticas, seleccionados en función del grado de divergencia entre las secuencias a analizar (parámetro Kimura-2, Tamura-Nei, máxima verosimilitud, etc).

2.2.10. PCR en tiempo real

La técnica de PCR en tiempo real se utilizó para realizar una cuantificación relativa de la cantidad de dos secuencias parálogas (ITS-2 funcional e ITS-2 pseudogen) en el genoma de algunos especímenes de las especie estudiadas en el presente estudio, utilizando como control muestras de *Triatoma dimidiata* de distintos países de América presentes en el laboratorio.

Esta técnica consiste en la realización de una reacción de PCR en la que se mide la cantidad de ADN amplificado en cada ciclo, que está relacionada con la cantidad inicial del ADN molde en la muestra. Una de las formas de medir la cantidad de ADN consiste en añadir al medio de reacción el fluorocromo SYBRGreen, que excitado mediante luz azul ($\lambda_{\max} = 488 \text{ nm}$) emite luz verde ($\lambda_{\max} = 522 \text{ nm}$). Este fluorocromo se une inespecíficamente al ADN y permite detectar la generación exponencial del mismo.

Para la realización del experimento se siguieron las instrucciones del fabricante del equipo (StepOne Plus, Applied Biosystems):

- 1) **Diseño de cebadores.** Para iniciar esta técnica, hay que diseñar una pareja de cebadores específicos para cada una de las secuencias a cuantificar, así como de una pareja de cebadores que amplifiquen un gen de expresión constitutiva que actúa como control endógeno, en este caso, el gen 18S ribosomal. Este control endógeno es necesario debido a que, aunque partamos de la misma cantidad de ADN para cada muestra, las características de pureza y calidad varían, lo que puede afectar a la amplificación. La cuantificación de un gen constitutivo nos permite corregir esta diferencia, al relativizar la cuantificación de cada fragmento a la del control endógeno.
- 2) **Determinación de las concentraciones óptimas de ADN y cebadores en la reacción.** Para ello, se prepara una batería de reacciones con cantidades de ADN de 10, 50 y 100 ng; y concentraciones individuales de cada cebador de 50, 300 y 900 nM. El resultado que se tiene en cuenta en este ensayo es el C_T (ciclo umbral, del inglés *Threshold cycle*). El *Threshold* representa el umbral en el que se produce un cambio significativo en la fluorescencia, y el corte entre el *Threshold* y la curva de amplificación determina el C_T o ciclo umbral que se emplea para la cuantificación. El cálculo del C_T siempre se realiza en la fase exponencial de la curva, donde este valor es inversamente proporcional a la cantidad de ADN inicial. Se eligen como óptimas las cantidades de ADN y concentraciones de cebadores que dan un C_T en torno a 20.

La cantidad de ADN más adecuada fue en todos los casos 100 ng, ya que presentó los menores valores de C_T . En cuanto a las concentraciones de cebadores, en los tres casos (gen 18S, ITS-2 funcional e ITS-2 pseudogen) la combinación

II. MATERIALES Y MÉTODOS

de los cebadores directo y reverso a concentración 300 nM resultó ser la más adecuada.

- 3) **Determinación de la eficiencia de las amplificaciones.** Para poder comparar de forma válida los resultados obtenidos para cada secuencia, las eficiencias de las amplificaciones de ambas, así como del control endógeno, deben ser similares. El porcentaje de eficiencia de cada reacción se calcula a partir de la pendiente de la recta obtenida al representar los C_T obtenidos al amplificar diferentes concentraciones de ADN de la misma muestra.

Los valores de r de las rectas (coeficientes de correlación de las rectas de regresión) y los porcentajes de eficiencia calculados a partir de ellas son los siguientes:

- Gen 18S: r : 0,995; Eff %: 59,8
- ITS-2 funcional: r : 0,992; Eff % 67,5
- ITS-2 pseudogen: r : 0,959; Eff % 76,8

Estos porcentajes de eficiencia se consideraron adecuados para poder llevar a cabo el experimento.

- 4) **Análisis de las muestras.** Se realiza siempre por triplicado, para obtener valores medios y minimizar el error experimental. La mezcla de reacción utilizada se indica en la Tabla 8.
- 5) **Obtención de resultados mediante el programa informático StepOne Software v 2.0 (Applied Biosystems).** Esta aplicación permite llevar a cabo una cuantificación relativa, en la que se relativiza la cantidad medida en cada muestra a la cantidad medida en una muestra de referencia. En este caso se realizó este proceso para las dos secuencias a cuantificar, usando para ambas la misma muestra de referencia. Se utilizó el método del $\Delta\Delta C_T$, en el que se comparan directamente los C_T del gen testado y del gen de referencia (ΔC_T) en cada muestra, y posteriormente se comparan los ΔC_T de las muestras experimentales con respecto a la muestra control.
- 6) **Análisis de los datos.** Los datos se introdujeron en una hoja de cálculo (Microsoft Excel), donde se obtuvieron los datos de cantidad relativa de ITS-2 funcional, cantidad relativa de ITS-2 pseudogen y relación entre ambas para cada muestra. Se eliminaron determinados valores significativamente alejados del resto de valores del mismo grupo, de acuerdo con el test estadístico de Grubbs. La existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos analizados se evaluó mediante un test estadístico de ANOVA de un factor y el test post-hoc de Bonferroni, mediante la aplicación informática GraphPad Prism 5. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas para valores $p < 0.05$.

COMPONENTE	CONCENTRACIÓN	VOLUMEN
<u>Mezcla de reacción:</u>		
Cebadores	7,5 μ M* cada uno	1 μ l
SYBR Green PCR master mix	**	12,5 μ l
Agua		6,5 μ l
ADN	20 ng/ μ l***	5 μ l

Tabla 8. Composición de la mezcla de reacción de la PCR en tiempo real. * Concentración necesaria para que su concentración final en la mezcla total de reacción sea 300 nM. ** El kit comercial SYBR Green PCR Master Mix presenta una concentración 2X y contiene: SYBR Green I Dye, AmpliTaq Gold® ADN polimerasa, dNTPs con dUTP, un colorante que actúa como referencia pasiva y componentes tampón optimizados. *** Los extractos de ADN se cuantificaron y se diluyeron hasta la concentración de 20 ng/ μ l.

2.2.11. Análisis filogenéticos

Para los análisis filogenéticos se han utilizado los siguientes programas: MAFFT (Kato *et al.*, 2002) para el alineamiento de los paquetes de secuencias de la región intergénica completa y del gen 16S; Translator X (Abascal *et al.*, 2010) para el alineamiento de los paquetes de secuencias de los genes codificantes de proteínas (ND1, CO1 y CytB); ALTER (Glez-Peña *et al.*, 2010) como software para convertir los paquetes de secuencias alineados al formato adecuado para posteriores análisis; Partition Finder (Lanfear *et al.*, 2012) para la elección de la partición de datos más adecuada para el posterior análisis filogenéticos y para la selección del modelo evolutivo más apropiado a cada partición de la matriz analizada mediante la aplicación de los criterios de selección de modelos AIC (Akaike's Information Criterion), AICc (Akaike's Information Criterion corrected) y BIC (Bayesian Information Criterion); y RAxML v.7.0.4 (Stamatakis, 2006) para la obtención del árbol filogenético con el método de Máxima Verosimilitud (Maximum Likelihood - ML).

Para la obtención de los soportes estadísticos de cada uno de los árboles filogenéticos se ha realizado un muestreo repetitivo con 1000 réplicas mediante el análisis bootstrap (Felsenstein, 1985).

CAPÍTULO III. RESULTADOS

3.1. ANÁLISIS DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

3.1.1. Resultados obtenidos en el estudio del ADN ribosomal nuclear (ADNr)

En este apartado se detalla el análisis de las secuencias de los marcadores moleculares del ADN ribosomal nuclear, región intergénica completa (ITS-1 + 5.8S + ITS-2), de las especies estudiadas del género *Triatoma* (Tabla 5).

Las comparaciones entre las secuencias obtenidas y las secuencias ya publicadas en la base de datos GenBank, se ha llevado a cabo mediante el programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) y se han utilizado hasta las 3 primeras secuencias publicadas que han presentado mayor homología para cada especie analizada.

Todos los haplotipos obtenidos en el estudio del ADN ribosomal nuclear han sido nombrados según nomenclatura previamente establecida por Mas-Coma & Bargues (2009).

Debido a la similitud entre las tres primeras letras del epíteto específico de las especies *T. melanica* y *T. melanocephala*, la nomenclatura de los haplotipos utilizada para distinguirlas será: T.mel- + haplotipo correspondiente y T.mno- + haplotipo correspondiente, respectivamente.

3.1.1.1. Análisis de la región intergénica completa del ADNr (ITS-1 + 5.8S + ITS-2)

A continuación se detalla el análisis de 19 nuevas secuencias de la región intergénica completa obtenidas de las especies y poblaciones siguientes: 3 especímenes de *T. pseudomaculata* del Estado de Bahia (2) y Paraíba (1); 2 especímenes de *T. sordida* de Bahia; 12 especímenes de *T. brasiliensis* de Bahia (3), Ceará (4), Paraíba (3) y Rio Grande do Norte (2); 7 especímenes de *T. juazeirensis* de Bahia; 7 especímenes de *T. sherlocki* de Bahia; 2 especímenes de *T. melanica* de Bahia; 4 especímenes de *T. lenti* de Bahia; 10 especímenes de *T. petrocchiae* de Rio Grande do Norte (7) y Paraíba (3); 5 especímenes de *T. melanocephala* de Bahia; 4 especímenes de *T. tibiamaculata* de São paulo; y 6 especímenes de *T. vitticeps* de Espírito Santo (4) y Minas Gerais (2).

Los análisis de la región intergénica completa de todos los especímenes estudiados de este género han permitido obtener haplotipos con una longitud media de 1452 pares de bases (pb) (valores entre 1315 y 1562 pb) y una composición de A y T con valores entre 65,0 % y 68,8 %, con una media de 66,5 %.

Triatoma pseudomaculata

Del total de 3 especímenes de *T. pseudomaculata* procedentes de 2 Estados brasileños analizados en el presente trabajo, se han obtenido 2 secuencias diferentes. El análisis de estas secuencias ha proporcionado 2 haplotipos de la región intergénica completa de esta especie:

- Haplotipo T.pse-CH1A: de la localidad de Seabra/Bahia, con una longitud de 1399 pb y una composición en AT de 67,4 %.
- Haplotipo T.pse-CH1B: de la localidad de Cajazeiras/Paraíba (intradomicilio), con una longitud de 1399 pb y una composición en AT de 67,3 %.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIAATOMA*

Se han comparado estos 2 haplotipos de *T. pseudomaculata* obtenidos en la presente Tesis y se han observado 2 mutaciones transicionales en el ITS-1 (véase Tabla 9).

Haplotipos	Posiciones variables
	ITS-1
	22
	09
	75
T.pse-CH1A_Seabra	AT
T.pse-CH1B_Cajazeiras	GC

Tabla 9. Posiciones variables halladas entre los haplotipos de la región intergénica completa de *T. pseudomaculata* obtenidos en la presente Tesis.

Hay que mencionar que la secuencia de la región intergénica completa de esta especie ha sido obtenida por primera vez en el presente estudio.

Triatoma sordida

Del total de 2 muestras de *T. sordida* procedentes de Seabra/Bahia se han obtenido 2 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo de la región intergénica completa de esta especie: Haplotipo T.sor-CH1A, con una longitud de 1378 pb y una composición en AT de 67,2 %.

Se ha comparado este haplotipo de *T. sordida* obtenido con el haplotipo de la región intergénica completa de esta especie publicado en GenBank (AJ576063, procedente del Estado brasileño de Mato Grosso) y se ha podido observar un total de 10 mutaciones (todas transversiones) en el ITS-1 (véase Tabla 10).

Haplotipos	Posiciones variables
	ITS-1
	2222222225
	0112222492
	8261234084
T.sor-CH1A_Seabra*	AAATGTATCG
AJ576063_Triatoma_sordida ITS1_5.8S_rRNA_gene_and ITS2	CCCGTACGAC

Tabla 10. Posiciones variables halladas entre el haplotipo de la región intergénica completa de *T. sordida* obtenido y el haplotipo de la región intergénica completa de esta especie publicado en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Triatoma brasiliensis

De las 12 muestras analizadas de *T. brasiliensis* procedentes de 4 Estados brasileños, se han obtenido 12 secuencias, las cuales han sido analizadas y han proporcionado 4 haplotipos de la región intergénica completa de esta especie.

Se han comparado estos 4 haplotipos de *T. brasiliensis* obtenidos con los 3 haplotipos de la región intergénica completa de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología y se ha podido observar que:

- De los especímenes procedentes de Curaçá/Bahia (3) y de Icó/Ceará (2), el haplotipo obtenido ha sido igual al haplotipo T.bra-CH1H publicado en GenBank

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

- (KJ125145, procedente de Pernambuco), con una longitud de 1471 pb y una composición en AT de 65,2 %.
- De 1 espécimen procedente de Umari/Ceará, 2 especímenes procedentes de Cajazeiras/Paraíba y 2 especímenes procedentes de Caicó/Rio Grande do Norte, el haplotipo obtenido ha sido idéntico al haplotipo T.bra-CH1A publicado en GenBank (KJ125136, procedente del Estado de Pernambuco), con una longitud de 1471 pb y una composición en AT de 65,1 %. Para fines comparativos se ha nombrado este espécimen de Umari como “T.bra-CH1A_Umari 1”.
 - De 1 espécimen procedente de Umari/Ceará, el haplotipo obtenido ha presentado un ITS-1 idéntico al haplotipo T.bra-HA publicado en GenBank (KJ125136, procedente del Estado de Pernambuco), y un haplotipo de ITS-2 nuevo, el cual ha sido nombrado T.bra-H4. La región intergénica completa de este nuevo haplotipo T.bra-CH4A ha presentado una longitud de 1469 pb y una composición en AT de 65,0 %. Para fines comparativos se ha nombrado este haplotipo como “T.bra-CH4A_Umari 2”.
 - De 1 espécimen procedente de Santa Terezinha/Paraíba, el haplotipo obtenido ha sido idéntico al haplotipo T.bra-CH3A publicado en GenBank (KJ125138, procedente del Estado de Ceará), con una longitud de 1473 pb y una composición en AT de 65,2 %.

Las diferencias se detallan a continuación en la Tabla 11.

Haplotipos	Posiciones variables	
	ITS-1	ITS-2
		1111
	5	0033
	6	5555
	2	4556
T.bra-CH1H_Ouracá*	A	AA--
T.bra-CH1H_Icó*	.	..--
T.bra-CH1A_Umari_1*	G	..--
T.bra-CH1A_Cajazeiras*	G	..--
T.bra-CH1A_Caicó*	G	..--
T.bra-CH4A_Umari_2*	G	----
T.bra-CH3A_Santa_Terezinha*	G	..AT
KJ125136 <i>Triatoma aff brasiliensis</i> MIB-2014 haplotype 1A	G	..--
KJ125145 <i>Triatoma brasiliensis macromelasoma</i> haplotype 1H	.	..--
KJ125138 <i>Triatoma brasiliensis brasiliensis</i> haplotype 3A	G	..AT

Tabla 11. Posiciones variables halladas entre los haplotipos de la región intergénica completa de *T. brasiliensis* obtenidos y los haplotipos de la región intergénica completa de esta especie publicados en GenBank que presentan una mayor homología. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Triatoma juazeirensis

Del total de 7 muestras de *T. juazeirensis* analizadas en el presente trabajo, procedentes de Ibipeba y Juazeiro en el Estado de Bahia, se han obtenido 7 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo de la región intergénica completa de esta especie, con una longitud de 1467 pb y una composición en AT de 65,2 %.

Se ha comparado este haplotipo de *T. juazeirensis* obtenido con los 2 haplotipos de la región intergénica completa de esta especie publicados en GenBank (KJ125150 y KJ125151, procedentes de Juazeiro/Bahia) y se ha observado que el haplotipo obtenido en el presente trabajo es igual al haplotipo T.jua-CH8M publicado en GenBank

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRITOMA*

(KJ125150). Además, se ha visto 1 mutación (transversión) en el ITS-1 con relación al haplotipo T.jua-CH7N publicado en GenBank (véase Tabla 12).

Haplotipos	Posición variable	
	ITS-1	
	6	
	9	
	4	
T.jua-CH8M_Juazeiro*	A	
T.jua-CH8M_Ibipeba*	.	
KJ125150_Triatoma_juazeirensis_haplotype_8M	.	
KJ125151_Triatoma_juazeirensis_haplotype_7N	C	

Tabla 12. Posición variable hallada entre el haplotipo de la región intergénica completa de *T. juazeirensis* obtenido y los haplotipos de la región intergénica completa de esta especie publicados en GenBank.
*Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Triatoma sherlocki

De un total de 7 muestras de *T. sherlocki* analizadas en el presente trabajo, procedentes de Gentio do Ouro/Bahia, se han obtenido 7 secuencias. Estas secuencias han proporcionado 1 único haplotipo de la región intergénica completa de esta especie con una longitud de 1471 pb y una composición en AT de 65,2 %.

Se ha comparado este haplotipo de la región intergénica completa de *T. sherlocki* con los 2 haplotipos de la región intergénica completa de esta especie publicados en GenBank (KJ125149 y KJ125148, procedentes de Gentio do Ouro/Bahia), y se ha observado que el haplotipo obtenido en el presente trabajo es igual al haplotipo T.she-CH5K (GenBank KJ125149). Además, se han observado 2 posiciones variables: 1 mutación (transición) en el ITS-1 y 1 mutación (transversión) en el ITS-2 con relación al haplotipo T.she-CH6L publicado en GenBank (KJ125148) (véase Tabla 13).

Haplotipos	Posiciones variables	
	ITS-1	ITS-2
	2	1
	2	3
	2	6
	9	8
T.she-CH5K_Gentio do Ouro*	C	A
KJ125149_Triatoma_sherlocki_haplotype_5K	.	.
KJ125148_Triatoma_sherlocki_haplotype_6L	T	C

Tabla 13. Posiciones variables halladas entre el haplotipo de la región intergénica completa de *T. sherlocki* obtenido y los haplotipos de la región intergénica completa de esta especie publicados en GenBank.
*Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Triatoma melanica

Del total de 2 muestras de *T. melanica* procedentes de Paus-Preto en el Estado de Bahia se han obtenido 2 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han generado 1 único haplotipo de la región intergénica completa de esta especie: Haplotipo T.mel-CH5J, con una longitud de 1470 pb y una composición en AT de 65,2 %.

Al comparar este haplotipo de *T. melanica* obtenido con el haplotipo de la región intergénica completa de esta especie publicado en GenBank (KJ125147, procedente de

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Urandí/Bahia), se ha observado 1 mutación en el ITS-2 (véase Tabla 14). El ITS-1 ha sido igual al haplotipo publicado en GenBank (KJ125147).

Haplotipos	Posición variable
	ITS-2
	1
	3
	4
	7
T.mel-CH5J_Paus-Pretos*	-
KJ125147_Triatoma_melanica_haplotype_4J	T

Tabla 14. Posición variable hallada entre el haplotipo de la región intergénica completa de *T. melanica* obtenido y el haplotipo de la región intergénica completa de esta especie publicado en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Triatoma lenti

Del total de 4 especímenes de *T. lenti* procedentes del Estado de Bahia, se han obtenido 4 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 1 único haplotipo de la región intergénica completa de esta especie: Haplotipo T.len-CH1A, con una longitud de 1471 pb y una composición de AT de 65,3 %.

La región intergénica completa de esta especie ha sido obtenida por primera vez en la presente Tesis.

Triatoma petrocchiae

Se han analizado 10 muestras de *T. petrocchiae* procedentes de 2 Estados diferentes y se han obtenido 10 secuencias. Éstas han sido analizadas y han proporcionado 3 haplotipos de la región intergénica completa de esta especie.

- Haplotipo T.pet-CH1A: correspondiente a 2 muestras procedentes de Cajazeiras y 1 muestra de SantaTerezinha/Paraíba, con una longitud de 1315 pb y una composición en AT de 67,1 %.
- Haplotipo T.pet-CH2A: correspondiente a 5 muestras procedentes de Caicó/Rio Grande do Norte, con una longitud de 1315 pb y una composición en AT de 66,9 %.
- Haplotipo T.pet-CH3A: correspondiente a 2 muestras procedentes de Currais Novos/Rio Grande do Norte, con una longitud de 1315 pb y una composición en AT de 67,0 %.

Se han comparado estos 3 haplotipos de *T. petrocchiae* obtenidos y se ha podido observar que el ITS-1 ha sido igual para todos los haplotipos obtenidos, mientras que el ITS-2 ha presentado 4 diferencias entre los haplotipos obtenidos (véase Tabla 15).

Se obtiene por primera vez la secuencia de la región intergénica completa de esta especie de triatomo.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRITOMA*

Haplotipos	Posiciones variables
	ITS-2
	1
	9990
	3368
	0585
T.pet-CH1A_Cajazeiras	TAAG
T.pet-CH2A_Caió	CC..
T.pet-CH3A_Currais Novos	C.GA

Tabla 15. Posiciones variables halladas entre los haplotipos de la región intergénica completa de *T. petrocchiae* obtenidos en la presente Tesis.

Triatoma melanocephala

Del total de 5 especímenes de *T. melanocephala* analizados procedentes del Estado de Bahia, se obtienen 5 secuencias. El análisis de estas secuencias ha proporcionado 2 haplotipos de la región intergénica completa de esta especie:

- Haplotipo T.mno-CH1A: correspondiente a 3 muestras de Poçoões/Bahia, con una longitud de 1560 pb y una composición de AT de 67,2 %.
- Haplotipo T.mno-CH1B: correspondiente a 2 muestras de Jequié/Bahia, con una longitud de 1560 pb y una composición de AT de 67,3 %.

Se han comparado estos haplotipos de *T. melanocephala* entre ellos y se ha podido observar 1 mutación transicional en el ITS-1 (véase Tabla 16).

Haplotipos	Posición variable
	ITS-1
	6
	5
	8
T.mno-CH1A_Poçoões	G
T.mno-CH1B_Jequié	A

Tabla 16. Posición variable hallada entre los haplotipos de la región intergénica completa de *T. melanocephala* obtenidos en la presente Tesis.

Hay que mencionar que la región intergénica completa de esta especie de triatomino ha sido obtenida por primera vez en la presente Tesis.

Triatoma tibiamaculata

Se han analizado un total de 4 muestras de *T. tibiamaculata* procedentes del Estado de São Paulo y se han obtenido 4 secuencias, las cuales han sido iguales entre sí y han proporcionando 1 único haplotipo de la región intergénica completa de esta especie: Haplotipo T.tib-CH1A, con una longitud de 1471 pb y una composición de AT de 68,8 %.

Cabe destacar que la región intergénica completa de *T. tibiamaculata* ha sido obtenida por primera vez en el presente trabajo.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Triatoma vitticeps

Los 6 especímenes analizados de *T. vitticeps* procedentes de 2 Estados brasileños han generado 6 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos de la región intergénica completa de esta especie:

- Haplotipo T.vit-CH1A: correspondiente a 4 muestras procedentes de Guarapari/Espírito Santo. Presentando una longitud de 1560 pb y una composición de AT de 67,6 %.
- Haplotipo T.vit-CH2B: correspondiente a 2 muestras procedentes de Pedra Azul/Minas Gerais. Presentando una longitud de 1562 pb y una composición de AT de 67,6 %.

Se han comparado estos 2 haplotipos de *T. vitticeps* obtenidos y se han podido observar 5 mutaciones en el ITS-1 (3 transiciones y 2 transversiones) y 1 mutación transversal en el ITS-2 (véase Tabla 17).

Haplotipos	Posiciones variables	
	ITS-1	ITS-2
		1
	1112	4
	35771	5
	89585	6
T.vit-CH1A_Guarapari	ATGAG	C
T.vit-CH2B_Pedra Azul	GGTGA	A

Tabla 17. Posiciones variables halladas entre los haplotipos de la región intergénica completa de *T. vitticeps* obtenidos en la presente Tesis.

Hay que mencionar que la región intergénica completa de esta especie de triatomino ha sido obtenida por primera vez en el presente estudio.

A continuación se detallan (Tabla 18) los diferentes haplotipos de la región intergénica completa de las especies del género *Triatoma* obtenidos en el presente trabajo, con las respectivas longitudes en pares de base de cada espaciador interno transcrito (ITS-1 e ITS-2) y de la región intergénica completa, así como los porcentajes de AT y la procedencia geográfica.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRITOMA*

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo</i>	<i>ITS1 (pb)</i>	<i>ITS2 (pb)</i>	<i>Región intergénica completa (pb)</i>	<i>AT (%)</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>T. pseudomaculata</i>	T.pse-CH1A	758	486	1399	67,4	Seabra/Bahia
	T.pse-CH1B	758	486	1399	67,3	Cajazeiras/Paraíba
<i>T. sordida</i>	T.sor-CH1A	750	473	1378	67,2	Seabra/Bahia
<i>T. brasiliensis</i>	T.bra- CH1H	836	480	1471	65,2	Curaçá/Bahia; Icó/Ceará
	T.bra-CH1A	836	480	1471	65,1	Umari/Ceará; Cajazeiras/Paraíba; Caicó/Rio Grande do Norte
	T.bra-CH4A	836	478	1469	65,0	Umari/Ceará
	T.bra-CH3A	836	482	1473	65,2	Santa Terezinha/Paraíba
<i>T. juazeirensis</i>	T.jua-CH8M	835	477	1467	65,2	Ibipeba y Juazeiro/Bahia
<i>T. sherlocki</i>	T.she-CH5K	836	480	1471	65,2	Gentio do Ouro/Bahia
<i>T. melanica</i>	T.mel-CH5J	836	479	1470	65,2	Paus-Preto/Bahia
<i>T. lenti</i>	T.len-CH1A	836	480	1471	65,3	Macaúbas/Bahia
<i>T. petrocchiai</i>	T.pet-CH1A	682	478	1315	67,1	Cajazeiras y Santa Terezinha/Paraíba
	T.pet-CH2A	682	478	1315	66,9	Caicó/Rio Grande do Norte
	T.pet-CH3A	682	478	1315	67,0	Currais Novos/Rio Grande do Norte
<i>T. melanocephala</i>	T.mno-CH1A	901	504	1560	67,2	Poçoas/Bahia
	T.mno-CH1B	901	504	1560	67,3	Jequié/Bahia
<i>T. tibiamaculata</i>	T.tib-CH1A	799	517	1471	68,8	Mogi Guaçu/São Paulo
<i>T. vitticeps</i>	T.vit-CH1A	914	491	1560	67,6	Guarapari/Espírito Santo
	T.vit-CH2B	916	491	1562	67,6	Pedra Azul/Minas Gerais

Tabla 18. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de los haplotipos de la región intergénica completa de las especies del género *Triatoma* obtenidos en la presente Tesis.

Evaluación de la región intergénica completa en las especies estudiadas del género *Triatoma*

Se ha procedido a un análisis conjunto de todos los haplotipos descritos para todas las especies del género *Triatoma* estudiadas en la presente Tesis:

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

- Conforme se ha observado en la Tabla 18, se han descrito un total de 19 haplotipos diferentes para la región intergénica completa de todas las especies del género *Triatoma* estudiadas. Los haplotipos obtenidos para la especie *T. vitticeps* han presentado las mayores longitudes del ITS-1, con 914 y 916 pb, mientras que para el ITS-2, la longitud más larga ha sido observada para la especie *T. tibiamaculata*. Además, se ha verificado que la longitud de la región intergénica completa más larga ha sido la del haplotipo “T.vit-CH2B” de la especie *T. vitticeps*, con una longitud de 1562 pb.
- La longitud del alineamiento de todos los haplotipos obtenidos de la región intergénica completa ha sido de 1721 pb y ha proporcionado un total de 629 posiciones variables, de las cuales 242 han sido singletons y 387 han sido posiciones parsimónicamente informativas.
- Mediante el análisis comparativo de las distancias genéticas en base a la región intergénica completa de todos los haplotipos de las especies del género *Triatoma* obtenidos en el presente estudio, se ha podido observar que la mayor distancia genética ha sido observada para las especies *T. pseudomaculata* y *T. tibiamaculata*, con 322 diferencias nucleotídicas entre ellos. Entre todos los haplotipos de la región intergénica completa de las especies del género *Triatoma* obtenidos en el presente trabajo, se ha verificado una media de 114 bases nucleotídicas diferentes.

3.1.2. Resultados obtenidos en el estudio del ADN mitocondrial (ADNmt)

En este apartado se detalla el análisis de las secuencias de los marcadores moleculares del ADN mitocondrial: 16S ARNr, ND1, CO1 y CytB. Se especificarán las longitudes y composiciones nucleotídicas y aminoacídicas (para aquellos genes que las codifican) de cada haplotipo obtenido para cada especie analizada del género *Triatoma*.

Las comparaciones entre las secuencias obtenidas y las secuencias ya publicadas en la base de datos GenBank, se ha llevado a cabo mediante el programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) y se han utilizado hasta las 3 primeras secuencias publicadas que han presentado mayor homología para cada especie analizada.

Todos los haplotipos obtenidos en el estudio del ADN mitocondrial han sido nombrados según nomenclatura previamente establecida por Mas-Coma & Bargues (2009).

3.1.2.1. Análisis del gen 16S ARNr

A continuación se detalla el análisis del gen 16S ARNr de 62 muestras de las especies y poblaciones siguientes: 3 especímenes de *T. pseudomaculata* del Estado de Bahía (2) y Paraíba (1); 2 especímenes de *T. sordida* de Bahía; 12 especímenes de *T. brasiliensis* de Bahía (3), Ceará (4), Paraíba (3) y Rio Grande do Norte (2); 7 especímenes de *T. juazeirensis* de Bahía; 7 especímenes de *T. sherlocki* de Bahía; 2 especímenes de *T. melanica* de Bahía; 4 especímenes de *T. lenti* de Bahía; 10 especímenes de *T. petrocchiaie* de Rio Grande do Norte (7) y Paraíba (3); 5 especímenes de *T. melanocephala* de Bahía; 4 especímenes de *T. tibiamaculata* de São paulo; y 6 especímenes de *T. vitticeps* de Espírito Santo (4) y Minas Gerais (2). Entre las muestras analizadas se hallaron un total de 23 haplotipos diferentes.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRITOMA*

Las secuencias obtenidas para este gen han presentado una longitud media de 542 pares de bases (pb) (entre 530 y 545 pb) y una composición de AT con un 68,0 % de media (con valores entre 67,0 % y 70,0 %).

Triatoma pseudomaculata

Del total de 3 especímenes de *T. pseudomaculata* analizados en el presente trabajo procedentes de 2 Estados brasileños, se han obtenido 2 secuencias diferentes. El análisis de estas secuencias ha permitido obtener 2 haplotipos del gen 16S de esta especie:

- Haplotipo T.pse-16Sa: correspondiente a 2 muestras procedentes de Seabra/Bahia, con una longitud de 530 pb y una composición en AT de 69,1 %.
- Haplotipo T.pse-16Sb: correspondiente a 1 muestra procedente de Cajazeiras/Paraíba (intradomicilio), con una longitud de 530 pb y una composición en AT de 68,9 %.

Estos haplotipos de *T. pseudomaculata* obtenidos han sido comparados con los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología (KC249050, con una longitud de 530 pb, y KC249051, con una longitud de 538 pb, ambos procedentes de Várzea Alegre/Ceará; y KC249057, con 530 pb y procedente de Curaçá/Bahia) y se ha podido observar que el haplotipo T.pse-16Sb obtenido en la presente Tesis, ha sido igual al haplotipo T.pse-16Sisolate211 publicado en GenBank (KC249050, procedente de Ceará). Además, se ha observado 1 mutación (transición) entre los 2 haplotipos del gen 16S obtenidos en la presente Tesis y 6 mutaciones (todas transiciones) cuando comparados con los haplotipos del gen 16S publicados en GenBank (véase Tabla 19).

Haplotipos	Posiciones variables
	1222
	353552
	754897
T.pse_16Sa_Seabra*	AAAGGT
T.pse-16Sb_Cajazeiras*	.G....
KC249050_Triatoma_pseudomaculata_isolate_211_16S	.G....
KC249051_Triatoma_pseudomaculata_isolate_212_16S	GG....
KC249057_Triatoma_pseudomaculata_isolate_34_16S	.GAAGC

Tabla 19. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de *T. pseudomaculata* obtenidos y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que presentan una mayor homología.
*Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Triatoma sordida

Del total de 2 muestras de *T. sordida* procedentes de Seabra/Bahia se han podido obtener 2 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo del gen 16S de esta especie: T.sor-16Sa, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 67,0 %.

Se ha comparado este haplotipo del gen 16S de *T. sordida* obtenido con los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank con los que han presentado una mayor homología (KC249075, con una longitud de 542 pb y procedente de Pantanal/Mato Grosso do Sul; KC249077, con 542 pb y sin información disponible de la procedencia; y KC249079, con 542 pb y procedente de Poconé/Mato Grosso) y se ha podido observar que el haplotipo del gen 16S obtenido en el presente trabajo ha sido igual

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

al haplotipo T.sor-16Sisolate85 (GenBank KC249075, procedente de Mato Grosso do Sul) (véase Tabla 20).

Haplotipos	Posiciones variables
	3555
	0334
	6680
T.sor-16Sa_Seabra*	AAAG
KC249075_Triatoma_sordida_isolate_85_16S
KC249077_Triatoma_sordida_isolate_87_16S	.CGA
KC249079_Triatoma_sordida_isolate_90_16S	GCGA

Tabla 20. Posiciones variables halladas entre el haplotipo obtenido en la presente Tesis para el gen 16S de *T. sordida* y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Triatoma brasiliensis

De las 12 muestras de *T. brasiliensis* procedentes de 4 Estados brasileños se han obtenido 12 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 4 haplotipos del gen 16S de esta especie.

- Haplotipo T.bra-16Sa: correspondiente a 3 muestras procedentes de Curaçá/Bahia y 2 muestras de la localidad de Umari/Ceará, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 68,5 %.
- Haplotipo T.bra-16Sb: correspondiente a 2 muestras procedentes de Icó/Ceará, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 68,5 %.
- Haplotipo T.bra-16Sc: correspondiente a 2 muestras procedentes de Cajazeiras/Paraíba y 1 muestra procedente de Santa Terezinha/Paraíba, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 68,3 %.
- Haplotipo T.bra-16Sd: correspondiente a 2 muestras procedentes de Caicó/Rio Grande do Norte, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 68,1 %.

Estos haplotipos de *T. brasiliensis* obtenidos han sido comparados con los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología (KC248986, con una longitud de 543 pb y procedente de Curaçá/Bahia; KC248985, con 542 pb, de Tauá/Ceará; y AF021185, con 507 pb y sin información disponible de la procedencia) y se han podido observar un total de 8 mutaciones transicionales entre todos los haplotipos comparados (véase Tabla 21).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRITOMA*

Haplotipos	Posiciones variables
	1224555
	74771444
	35890012
T.bra-16Sa_Curaçá*	CAAGCGGA
T.bra-16Sa_Unari*
T.bra-16Sb_Icó*	.GGAT...
T.bra-16Sc_Paraíba*	TGG.....
T.bra-16Sd_Caicó*	.GG.....
KC248986_Triatoma_brasiliensis_isolate_40_16S	.GG..GAG
KC248985_Triatoma_brasiliensis_isolate_174_16S	..G.....
AF021185_Triatoma_brasiliensis_isolate_2_16S	.GGAT---

Tabla 21. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de *T. brasiliensis* obtenidos y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Triatoma juazeirensis

De un total de 7 muestras de *T. juazeirensis* procedentes del Estado de Bahia se han obtenido 7 secuencias, las cuales han sido analizadas y han proporcionado 3 haplotipos del gen 16S de esta especie:

- **Haplotipo T.jua-16Sa:** correspondiente a 1 muestra procedente de Ibipeba/Bahia, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 68,3 %. Para fines comparativos se ha nombrado este haplotipo como “T.jua-16Sa_Ibipeba 1”.
- **Haplotipo T.jua-16Sb:** correspondiente a 1 muestra procedente de Ibipeba/Bahia, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 68,1 %. Para fines comparativos se ha nombrado este haplotipo como “T.jua-16Sa_Ibipeba 2”.
- **Haplotipo T.jua-16Sc:** correspondiente a 5 muestras procedentes de Juazeiro/Bahia, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 68,1 %.

Se han comparado estos 3 haplotipos de *T. juazeirensis* obtenidos con los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank (KC249026, con una longitud de 527 pb y procedente de Uibaí/Bahia; y KF769453, con 400 pb y procedente de Juazeiro/Bahia) y se han podido observar un total de 5 mutaciones transicionales. Entre los 3 haplotipos obtenidos en el presente estudio, se han verificado 4 mutaciones transicionales.

Cabe resaltar que el haplotipo T.jua-16Sc obtenido ha presentado un fragmento de 527 pb idéntico al haplotipo T.jua-16Sisolate209 publicado en GenBank (KC249026, procedente de Uibaí/Bahia) (véase Tabla 22).

Haplotipos	Posiciones variables
	2223
	53688
	29607
T.jua-16Sa_Ibipeba 1*	ATCTC
T.jua-16Sb_Ibipeba 2*	GCT..
T.jua-16Sc_Juazeiro*	G.TC.
KC249026_Triatoma_juazeirensis_isolate_209_16S	G.TC.
KF769453_Triatoma_juazeirensis_haplotype_CTA207-1_16S	G.TCT

Tabla 22. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de *T. juazeirensis* obtenidos y los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Triatoma sherlocki

Del total de 7 muestras de *T. sherlocki* procedentes del Estado de Bahia, se han obtenido 7 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos del gen 16S de esta especie:

- Haplotipo T.she-16Sa: correspondiente a 5 muestras procedentes de Gentio do Ouro/Bahia, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 68,5 %.
- Haplotipo T.she-16Sb: correspondiente a 2 muestras procedentes de la localidad de Santo Inácio/Bahia, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 68,3 %.

Estos haplotipos del gen 16S de *T.sherlocki* obtenidos han sido comparados con los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank (KC249068, con una longitud de 542 pb y sin información disponible de la procedencia; y EU489057, con 373 pb y procedente de Gentio do Ouro/Bahia) y se ha podido observar que el haplotipo T.she-16Sa de Gentio do Ouro, obtenido en la presente Tesis, ha sido igual al haplotipo T.she-16S isolate80 publicado en GenBank (KC249068). Entre los 2 haplotipos del gen 16S obtenidos en la presente Tesis, se ha encontrado 1 mutación (transición) (véase Tabla 23).

Haplotipos	Posición variable
	3
	4
	0
T.she-16Sa_Gentio do Ouro*	A
T.she-16Sb_Santo Inácio*	G
KC249068_Triatoma_sherlocki_isolate_80_16S	.
EU489057_Triatoma_sherlocki_16S	.

Tabla 23. Posición variable hallada entre los haplotipos del gen 16S de *T. sherlocki* obtenidos y los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Triatoma melanica

Del total de 2 muestras de *T. melanica* procedentes de Paus-Preto en el Estado de Bahia se han obtenido 2 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 1 único haplotipo del gen 16S de esta especie: T.mel-16Sa, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 68,1 %.

Este haplotipo del gen 16S de *T. melanica* obtenido ha sido comparado con los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank (KC249041, con una longitud de 530 pb y sin información disponible de la procedencia; y KF769454, con 400 pb y procedente de Urandi/ Bahia) y se ha podido observar 1 posición variable (mutación transicional), y que el haplotipo del gen 16S obtenido en el presente trabajo ha presentado un fragmento de 530 pb idéntico al haplotipo "*Triatoma_melanica_16S*" publicado en GenBank (KC249041) (véase Tabla 24).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRITOMA*

Haplotipos	Posiciones variables
	35555555555555
	83333333333444
	7123456789012
T.mel-16Sa_Paus-Pretoe*	CAAAAACCGGAGA
KC249041_Triatoma_melanica_16S	.-----
KF769454_Triatoma_melanica_haplotype_CTA206-1_16S	T-----

Tabla 24. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de *T. melanica* obtenido y los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Triatoma lenti

Del total de 4 especímenes de *T. lenti* procedentes del Estado de Bahia, se han obtenido 4 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo del gen 16S de esta especie: T.len-16Sa, con una longitud de 542 pb y una composición de AT de 68,1 %.

Se ha comparado este haplotipo de *T. lenti* obtenido con el haplotipo del gen 16S publicado en GenBank de la especie con la que presenta mayor homología (*T. melanica*: KC249041, con una longitud de 530 pb) y se han podido observar 2 mutaciones transicionales (véase Tabla 25).

Haplotipos	Posiciones variables
	2
	76
	39
T.len-16Sa_Macaibas*	TC
KC249041_Triatoma_melanica_16S	CT

Tabla 25. Posiciones variables halladas entre el haplotipo del gen 16S de *T. lenti* obtenido y el haplotipo del gen 16S de la especie más próxima publicado en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Triatoma petrocchiai

Se han analizado 10 muestras de *T. petrocchiai* procedentes de 2 Estados diferentes y se han obtenido 10 secuencias, las cuales han sido analizadas y han proporcionado 4 haplotipos del gen 16S de esta especie:

- Haplotipo T.pet-16Sa: correspondiente a 2 muestras procedentes de Cajazeiras/Paraíba, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 67,8 %.
- Haplotipo T.pet-16Sb: correspondiente a 1 muestra procedente de Santa Terezinha/Paraíba, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 68,2 %.
- Haplotipo T.pet-16Sc: correspondiente a 5 muestras procedentes de Caicó/Rio Grande do Norte, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 67,9 %.
- Haplotipo T.pet-16Sd: correspondiente a 2 muestras procedentes de Currais Novos, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 67,8 %.

Se han comparado estos haplotipos del gen 16S de *T. petrocchiai* obtenidos entre ellos y se han podido observar 5 mutaciones transicionales (Tabla 26).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Haplotipos	Posiciones variables
	3344 74533 34214
T.pet-16Sa_Cajazeiras	CGGGA
T.pet-16Sb_Santa_Terezinha	TAAAG
T.pet-16Sc_Caicó	.A...
T.pet-16Sd_Currais_Novos	.A..G

Tabla 26. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de *T. petrocchia* obtenidos en la presente Tesis.

Triatoma melanocephala

Del total de 5 muestras de *T. melanocephala* procedentes del Estado de Bahia, se han obtenido 5 secuencias, las cuales han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos del gen 16S de esta especie:

- Haplotipo T.mno-16Sa: correspondiente a 3 muestras procedentes de Poçoès/Bahia, con una longitud de 541 pb y una composición en AT de 69,7 %.
- Haplotipo T.mno-16Sb: correspondiente a 2 muestras procedentes de Jequié/Bahia, con una longitud de 541 pb y una composición en AT de 69,9 %.

Estos haplotipos de *T. melanocephala* obtenidos han sido comparados con los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank (KF769450, con una longitud de 328 pb y procedente de Jequié/Bahia; KF769451, con 327 pb y de Poçoès/Bahia; y KF769452, con 305 pb y procedente de Bom Jesus da Serra/Bahia), y se han podido observar 7 posiciones variables (6 mutaciones transversionales y 1 mutación transicional) entre todos los haplotipos comparados. Entre los haplotipos obtenidos en la presente Tesis, se han observado 3 mutaciones (transiciones). Cabe resaltar que el haplotipo T.mno-16Sa obtenido en la presente Tesis ha presentado un fragmento de 327 pb idéntico al haplotipo T.mno-16Scta220 publicado en GenBank (KF769451, procedente de Poçoès/Bahia) (véase Tabla 27).

Haplotipos	Posiciones variables
	11234 7744528 6723553
T.mno-16Sa_Poçoès*	CTTAGTC
T.mno-16Sb_Jequié*	...GA.T
KF769451_Triatoma_melanocephala_haplotype_CTA220-1_16S-
KF769452_Triatoma_melanocephala_haplotype_CTA221-1_16S	GCC...-
KF769450_Triatoma_melanocephala_haplotype_CTA219-1_16S	...GAC-

Tabla 27. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de *T. melanocephala* obtenidos y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Triatoma tibiamaculata

Del total de 4 muestras de *T. tibiamaculata* procedentes de Mogi Guaçu/São Paulo se han obtenido 4 secuencias. Estas secuencias han sido iguales entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo del gen 16S de esta especie: T.tib-16Sa, con una longitud de 545 pb y una composición en AT de 70,0 %.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Este haplotipo del gen 16S de *T. tibiamaculata* ha sido comparado con los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología (KC249080, con una longitud de 532 pb y procedente de Mogi Guaçu; KC249081, con 545 pb y sin información disponible de la procedencia; y AY185843, con 508 pb y sin información disponible de la procedencia) y se han podido observar un total de 3 mutaciones (2 transiciones y 1 transversión). Cabe resaltar que el haplotipo obtenido en la presente Tesis ha presentado un fragmento de 532 pb idéntico al haplotipo T.tib-16S isolate 177 publicado en GenBank (KC249080, también procedente de Mogi Guaçu) (véase Tabla 28).

Haplotipos	Posiciones variables
	25
	253
	282
T.tib-16Sa Mogi Guaçu*	AGC
KC249080_Triatoma_tibiamaculata_isolate_177_16S	...
KC249081_Triatoma_tibiamaculata_isolate_79_16S	GAA
AY185843_Triatoma_tibiamaculata_16S	..-

Tabla 28. Posiciones variables halladas entre el haplotipo del gen 16S de *T. tibiamaculata* obtenido y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Triatoma vitticeps

Del total de 6 especímenes de *T. vitticeps* procedentes de 2 Estados brasileños se han obtenido 6 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos del gen 16S de esta especie:

- Haplotipo T.vit-16Sa: correspondiente a 4 muestras procedentes de Guarapari/Espírito Santo, con una longitud de 541 pb y una composición en AT de 69,7 %.
- Haplotipo T.vit-16Sb: correspondiente a 2 muestras procedentes de Pedra Azul/Minas Gerais, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 69,7 %.

Estos haplotipos de *T. vitticeps* obtenidos han sido comparados con los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología (KC249086, con una longitud de 530 pb y sin información disponible de la procedencia; KC249085, con 532 pb y procedente de Itanhomi/Minas Gerais; y AF021218, con 507 pb y sin información disponible de la procedencia) y se han podido observar un total de 12 mutaciones (10 transiciones, 1 transversión y 1 delección) entre todos los haplotipos comparados. Entre los 2 haplotipos del gen 16S obtenidos en el presente trabajo se han observado 11 mutaciones (9 transiciones, 1 transversión y 1 delección) (véase Tabla 29).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Haplotipos	Posiciones variables
	122333333 44
	3548145667 36
	6481129232 12
T.vit-16Sa Guarapari*	AGGGGAT-GA AA
T.vit-16Sb Pedra_Azul*	.AAAAGCATG GG
KC249086_Triatoma vitticeps isolate_19_16S	GA.A.GC-T. ..
KC249085_Triatoma vitticeps isolate_168_16S	GA.A.GC-T. ..
AF021218_Triatoma vitticeps_16S_partial	GAAA.GCATG GG

Tabla 29. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de *T. vitticeps* obtenidos y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología.
*Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

A continuación se detallan (Tabla 30) los diferentes haplotipos del gen 16S obtenidos en la presente Tesis para las especies del género *Triatoma* analizadas con las respectivas longitudes en pares de base, así como los porcentajes de AT y la procedencia geográfica.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo</i>	<i>16S</i> (pb)	<i>AT</i> (%)	<i>Procedencia</i> <i>geográfica</i>
<i>T. pseudomaculata</i>	T.pse-16Sa	530	69,1	Seabra/Bahia
	T.pse-16Sb	530	68,9	Cajazeiras/Paraíba
<i>T. sordida</i>	T.sor-16Sa	542	67,0	Seabra/Bahia
<i>T. brasiliensis</i>	T.bra-16Sa	542	68,5	Curaçá/Bahia; Umari/Ceará
	T.bra-16Sb	542	68,5	Icó/Ceará
	T.bra-16Sc	542	68,3	Santa Terezinha y Cajazeiras/Paraíba
	T.bra-16Sd	542	68,1	Caicó/Rio Grande do Norte
<i>T. juazeirensis</i>	T.jua-16Sa	542	68,3	Ibipeba /Bahia
	T.jua-16Sb	542	68,1	Ibipeba/Bahia
	T.jua-16Sc	542	68,1	Juazeiro/Bahia
<i>T. sherlocki</i>	T.she-16Sa	542	68,5	Gentio do Ouro/Bahia
	T.she-16Sb	542	68,3	Santo Inácio/Bahia
<i>T. melanica</i>	T.mel-16Sa	542	68,1	Paus-Pretos /Bahia
<i>T. lenti</i>	T.len-16Sa	542	68,1	Macaúbas/Bahia
<i>T. petrocchiai</i>	T.pet-16Sa	542	67,8	Cajazeiras/Paraíba
	T.pet-16Sb	542	68,2	Santa Terezinha/Paraíba
	T.pet-16Sc	542	67,9	Caicó/Rio Grande do Norte
	T.pet-16Sd	542	67,8	Currais Novos/Rio Grande do Norte
<i>T. melanocephala</i>	T.mno-16Sa	541	69,7	Poções/Bahia
	T.mno-16Sb	541	69,9	Jequié/Bahia
<i>T. tibiamaculata</i>	T.tib-16Sa	545	70,0	Mogi Guaçu/São Paulo
<i>T. vitticeps</i>	T.vit-16Sa	541	69,7	Guarapari/Espírito Santo
	T.vit-16Sb	542	69,7	Pedra Azul/Minas Gerais

Tabla 30. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de todas los haplotipos del gen 16S ARNr de todas las especies del género *Triatoma* analizadas en la presente Tesis.

Evaluación del gen 16S en las especies estudiadas del género *Triatoma*

Se ha procedido a un análisis conjunto de todos los haplotipos del gen 16S descritos para todas las especies del género *Triatoma* estudiadas en la presente Tesis:

- Se han descrito un total de 23 haplotipos diferentes para el gen 16S de todas las especies del género *Triatoma* estudiadas, conforme se ha observado en la Tabla 30. El haplotipo obtenido para la especie *T. tibiamaculata*, ha presentado la mayor longitud del gen 16S, con 545 pb. La especie *T. pseudomaculata* ha presentado el haplotipo con la longitud más corta entre todos los haplotipos de este gen obtenidos en el presente estudio: 530 pb.
- La longitud del alineamiento de todos los haplotipos obtenidos del gen 16S ha sido de 547 pb y ha proporcionado un total de 103 posiciones variables, de las cuales 27 han sido singletons y 73 han sido posiciones parsimónicamente informativas.
- En el análisis de las diferencias par a par entre todos los haplotipos del gen 16S de las especies del género *Triatoma* obtenidos en el presente estudio, se ha observado que la mayor distancia genética se encuentra entre las especies *T. sordida* y *T. vitticeps*, con un valor de 47 diferencias nucleotídicas. Entre todos los haplotipos analizados se ha verificado una media de 27 bases nucleotídicas diferentes.

3.1.2.2. Análisis de la subunidad I del gen NADH Deshidrogenasa (ND1)

En este apartado se han analizado las secuencias del gen mitocondrial ND1 completo de 62 muestras de las diferentes especies del género *Triatoma* procedentes de 7 Estados brasileños (Tabla 5).

Los análisis del gen ND1 de todos los especímenes estudiados de este género han permitido obtener 21 haplotipos nucleotídicos y 18 haplotipos aminoacídicos diferentes. Todas las secuencias obtenidas, correspondientes al gen ND1 completo, han presentado una longitud de 924 pares de bases, que codificaron para 307 aminoácidos.

En cuanto a la composición nucleotídica de las secuencias, se ha observado un elevado contenido en pares AT, con un 70,3 % de media (valores entre 68,3 % y 73,8 %).

Triatoma pseudomaculata

Secuencias nucleotídicas

Del total de 2 especímenes de *T. pseudomaculata* procedentes de Seabra/Bahia se han podido obtener 2 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie: Haplotipo T.pse-ND1a, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 70,3 %.

Secuencias aminoacídicas

La secuencia aminoacídica de la proteína ND1 de esta especie ha presentado una longitud de 307 aminoácidos. A partir del análisis de esta secuencia, se ha obtenido 1 haplotipo aminoacídico: T.pse-ND1A, con una mayor abundancia de Fenilalanina (14,2 %) seguido de Leucina (13,9 %). El codón de inicio ha sido GTA y el codón de parada TAA.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Cabe resaltar que se ha obtenido por primera vez las secuencias nucleotídicas y aminoacídicas del gen ND1 completo de esta especie de triatomino.

Triatoma sordida

Secuencias nucleotídicas

Se han analizado un total de 2 muestras de *T. sordida* procedentes de Seabra/Bahia y se han obtenido 2 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie: T.sor-ND1a, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 68,3 %.

Se ha comparado este haplotipo nucleotídico de *T. sordida* con el haplotipo del gen ND1 completo de esta especie publicado en GenBank (AM980620, procedente de Bolivia) y se han podido observar 40 diferencias nucleotídicas (véase Tabla 31).

Haplotipos	Posiciones variables
	111111 1222333344 4444556666 6677778889 1679123356 9048557901 2479191122 3901234481 2650432832 8132158024 2142322824 6380656988
T.sor-ND1a Seabra*	TGGGTGTTC CTGGATTGA TACTGCAGGA CAAAAGCAAT
AM980620_Triatoma_sordida_nd1	CAAACACUUT TCAAGCCGAG CTTTCATGAG TGGGGATGCC

Tabla 31. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de *T. sordida* obtenido y el haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie publicado en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

A partir del análisis de la secuencia aminoacídica de la proteína ND1 de esta especie, se ha obtenido 1 haplotipo aminoacídico: T.sor-ND1A, con una longitud de 307 aminoácidos y una mayor abundancia de Fenilalanina (14,5 %) seguido de Leucina (14,1 %). El codón de inicio ha sido GTA y el codón de parada TAG.

Se ha comparado este haplotipo aminoacídico de *T. sordida* con el haplotipo aminoacídico de la proteína ND1 de esta especie publicado en GenBank (AM980620, procedente de Bolivia) y se han podido observar 9 diferencias aminoacídicas (véase Tabla 32).

Haplotipos	Posiciones variables
	1112222 294490333 541788167
T.sor-ND1A Seabra*	MMIRPEIHK
AM980620_Triatoma_sordida_nd1	IITSSKMR

Tabla 32. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen ND1 de *T. sordida* obtenido y el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen ND1 de esta especie publicado en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Triatoma brasiliensis

Secuencias nucleotídicas

Del total de 12 muestras de *T. brasiliensis* procedentes de 4 Estados brasileños se han obtenido 12 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 5 haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de esta especie:

- Haplotipo T.bra-ND1a: correspondiente a 3 muestras procedentes de Curaçá/Bahia y 2 muestras de la localidad de Umari/Ceará, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 70,2 %.
- Haplotipo T.bra-ND1b: correspondiente a 2 muestras procedentes de Icó/Ceará, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 69,9 %.
- Haplotipo T.bra-ND1c: correspondiente a 2 muestras procedentes de Caicó/Rio Grande do Norte y 1 muestra de Santa Terezinha/Paraíba, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 70,2 %.
- Haplotipo T.bra-ND1d: correspondiente a 1 muestra procedente de Cajazeiras/Paraíba, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 70,1 %. Para fines comparativos se ha nombrado este haplotipo como “T.bra-ND1d_Cajazeiras1”.
- Haplotipo T.bra-ND1e: correspondiente a 1 muestra procedente de Cajazeiras/Paraíba, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 70,1 %. Para fines comparativos se ha nombrado este haplotipo como “T.bra-ND1e_Cajazeiras2”.

Se han comparado estos 5 haplotipos nucleotídicos de *T. brasiliensis* obtenidos con el haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie publicado en GenBank (AM980619, procedente del Estado brasileño de Ceará) y se han observado un total de 26 posiciones variables (24 mutaciones transicionales y 2 mutaciones transversionales) (véase Tabla 33).

Haplotipos	Posiciones variables
	1233 3344567777 778889
	2466892506 8959960135 561781
	5969139266 4998709036 966952
T.bra-ND1a_Curaçá*	GRATATGGTG TTCTAAGTT AAGTGG
T.bra-ND1a_Umari*
T.bra-ND1b_Icó*	AGGCG.CACA .OCT.T.AC. GGACTA
T.bra-ND1c_Caicó*	A....C.A.. ...TOG....
T.bra-ND1c_Santa_Terezinha*	A....C.A.. ...TOG....
T.bra-ND1d_Cajazeiras1*	A....C.A.. ...TOGG....
T.bra-ND1e_Cajazeiras2*	A....C.A.. C..TOG....
AM980619_Triatoma_brasiliensis_nd1	A....C.A.. .C.TC....A

Tabla 33. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de *T. brasiliensis* obtenidos y el haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie publicado en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

A partir del análisis de las secuencias aminoacídicas de la proteína ND1 de esta especie, se han obtenido 4 haplotipos aminoacídicos, todos con una longitud de 307 aminoácidos, con GTA como codón de inicio y TAA como codón de parada. Se ha

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

observado una mayor abundancia de Fenilalanina (14,1 % para todos los haplotipos obtenidos) seguido de Leucina (13,9 % para todos los haplotipos obtenidos).

- Haplotipo T.bra-ND1A: correspondiente a 3 muestras procedentes de Curaçá/Bahia y 2 muestras de la localidad de Umari/Ceará.
- Haplotipo T.bra-ND1B: correspondiente a 2 muestras procedentes de Icó/Ceará.
- Haplotipo T.bra-ND1C: correspondiente a 2 muestras procedentes de Caicó/Rio Grande do Norte, 1 muestra de Cajazeiras/Paraíba (correspondiente al haplotipo nucleotídico “T.bra-ND1e_Cajazeiras2”) y 1 muestra de Santa Terezinha/Paraíba.
- Haplotipo T.bra-ND1D: correspondiente a 1 muestra procedente de Cajazeiras/Paraíba (correspondiente al haplotipo nucleotídico “T.bra-ND1d_Cajazeiras1”).

Se han comparado estos 4 haplotipos aminoacídicos de *T. brasiliensis* obtenidos con el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen ND1 completo de esta especie publicado en GenBank (AM980619, procedente de Cear a) y se han podido observar un total de 6 posiciones variables. Entre los 4 haplotipos obtenidos en la presente Tesis se han visto 5 diferencias aminoacídicas (véase Tabla 34).

Haplotipos	Posiciones variables
	2222
	13555
	977236
T.bra-ND1A_Curaç�a*	VIRFTI
T.bra-ND1A_Umari*
T.bra-ND1B_Ic�o*	IVK.MV
T.bra-ND1C_Caic�o*	I.....
T.bra-ND1C_Santa_Terezinha*	I.....
T.bra-ND1D_Cajazeiras1*	I.G...
T.bra-ND1C_Cajazeiras2*	I.....
AM980619_Triatoma_brasiliensis_nd1	I..L..

Tabla 34. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 de *T. brasiliensis* obtenidos y el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen ND1 de esta especie publicado en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Triatoma juazeirensis

Secuencias nucleotídicas

A partir de las 7 muestras de *T. juazeirensis* analizadas en el presente trabajo, todas procedentes del Estado de Bahia, se han obtenido 7 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de esta especie:

- Haplotipo T.jua-ND1a: correspondiente a 2 muestras procedentes de Ibipeba/Bahia, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 69,5 %.
- Haplotipo T.jua-ND1b: correspondiente a 5 muestras procedentes de Juazeiro/Bahia, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 68,9 %.

Se han comparado estos 2 haplotipos nucleotídicos de *T. juazeirensis* obtenidos entre ellos y se han podido observar un total de 7 posiciones variables (todas mutaciones transicionales) (véase Tabla 35).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Haplotipos	Posiciones variables
	2334458 9231457 4401453
T.jua_ND1a_Ibipeba	TTTAATG
T.jua-ND1b_Juazeiro	CCCGGCA

Tabla 35. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de *T. juazeirensis* obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las 2 secuencias aminoacídicas de la proteína ND1 de esta especie han presentado una longitud de 307 aminoácidos, con una mayor abundancia de Fenilalanina (14,1 %) seguido de Leucina (13,8 %). El codón de inicio ha sido GTA y el codón de parada TAA. Estas secuencias aminoacídicas han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos aminoacídicos:

- T.jua-ND1A, correspondiente a las muestras procedentes de Ibipeba/Bahia.
- T.jua-ND1B, correspondiente a las muestras procedentes de Juazeiro/Bahia.

Se han comparado estos haplotipos aminoacídicos de *T. juazeirensis* obtenidos y se ha podido observar 1 posición variable (véase Tabla 36).

Haplotipos	Posición variable
	11223 14446580 71588260
T.jua_ND1A_Ibipeba*	VQMIIIFRA
T.jua-ND1B_Juazeiro*	..M....

Tabla 36. Posición variable hallada entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 de *T. juazeirensis* obtenidos en la presente Tesis.

Cabe resaltar que se ha obtenido por primera vez las secuencias nucleotídicas y aminoacídicas del gen ND1 completo de esta especie de triatomo.

Triatoma sherlocki

Secuencias nucleotídicas

Del total de 7 muestras de *T. sherlocki* analizadas, todas procedentes del Estado de Bahia, se han obtenido 7 secuencias, las cuales han sido analizadas y han proporcionado 3 haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de esta especie:

- Haplotipo T.she-ND1a: correspondiente a 3 muestras procedentes del Estado de Bahia, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 71,0 %.
- Haplotipo T.she-ND1b: correspondiente a 2 muestras procedentes de Gentio do Ouro/Bahia, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 71,0 %.
- Haplotipo T.she-ND1c: correspondiente a 2 muestras procedentes del municipio de Santo Inácio localizado en Gentio do Ouro/Bahia, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 70,8 %.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRITOMA*

Se han comparado estos 3 haplotipos nucleotídicos de *T. sherlocki* obtenidos entre ellos y se han podido observar un total de 8 diferencias nucleotídicas (véase Tabla 37).

Haplotipos	Posiciones variables
	13357899
	27907711
	65647028
T.she-ND1a_Bahia	GGAATCGT
T.she-ND1b_Gentio_do_Ouro	AAGGCTTC
T.she-ND1c_Santo_Inácio	.AGGCTTC

Tabla 37. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de *T. sherlocki* obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína ND1 de esta especie ha presentado una longitud de 307 aminoácidos, con una mayor abundancia de Fenilalanina (14,1 %) seguido de Leucina (13,9 %). El codón de inicio ha sido GTA y el codón de parada TAA.

A partir del análisis de estas secuencias se han obtenido 2 haplotipos aminoacídicos:

- T.she-ND1A, correspondiente a las muestras procedentes de la localidad del Estado de Bahia.
- T.she-ND1B, correspondientes a las muestras procedentes de Gentio do Ouro.

Se han comparado estos 2 haplotipos aminoacídicos de *T. sherlocki* obtenidos y se ha podido observar 1 posición variable (véase Tabla 38).

Haplotipos	Posición variable
	1
	6
	8
T.she-ND1A_Bahia	I
T.she-ND1B_Gentio_do_Ouro	M
T.she-ND1B_Santo_Inácio	M

Tabla 38. Posición variable hallada entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 de *T. sherlocki* obtenidos en la presente Tesis.

Cabe resaltar que se ha obtenido por primera vez las secuencias nucleotídicas y aminoacídicas del gen ND1 completo de esta especie de triatomo.

Triatoma melanica

Secuencias nucleotídicas

Se han analizado un total de 2 muestras de *T. melanica* procedentes de Paus-Pretos/Bahia y se han obtenido 2 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie: T.mel-ND1a, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 69,4 %.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Secuencias aminoacídicas

A partir del análisis de la secuencia aminoacídica de la proteína ND1 de esta especie, se ha obtenido 1 haplotipo aminoacídico: T.mel-ND1A, con una longitud de 307 aminoácidos y una mayor abundancia de Fenilalanina (14,0 %) seguido de Leucina (13,7 %). El codón de inicio ha sido GTA y el codón de parada TAA.

Hay que mencionar que las secuencias nucleotídicas y aminoacídicas del gen ND1 completo de *T. melanica* han sido obtenidas por primera vez en el presente estudio.

Triatoma lenti

Secuencias nucleotídicas

Del total de 4 especímenes de *T. lenti* analizados procedentes del Estado de Bahia, se han obtenido 4 secuencias. El análisis de estas secuencias ha proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de esta especie:

- Haplotipo T.len-ND1a: correspondiente a 2 muestras procedentes del Estado de Bahia, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 69,5 %.
- Haplotipo T.len-ND1b: correspondiente a 2 muestras procedentes de Macaúbas/Bahia, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 69,3 %.

Se han comparado estos 2 haplotipos nucleotídicos de *T. lenti* obtenidos y se han podido observar un total de 6 mutaciones (1 transversional y 5 transicionales) (véase Tabla 39).

Haplotipos	Posiciones variables
	145778
	101164
	420787
T.len-ND1a_Bahia	CATAGT
T.len-ND1b_Macaúbas	TGGTTC

Tabla 39. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de *T. lenti* obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína ND1 de esta especie han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos aminoacídicos: T.len-ND1A y T.len-ND1B: con una longitud de 307 aminoácidos y una mayor abundancia de Fenilalanina (14,1 %) seguido de Leucina (13,8 %). El codón de inicio ha sido GTA y el codón de parada TAA.

Estos 2 haplotipos aminoacídicos de *T. lenti* han sido comparados y se ha podido observar 1 posición variable (véase Tabla 40).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRITOMA*

Haplotipos	Posición variable
	2
	5
	6
T.len-ND1A_Bahia	M
T.len-ND1B_Macaúbas	I

Tabla 40. Posición variable hallada entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 de *T. lenti* obtenidos en la presente Tesis.

Cabe resaltar que las secuencias nucleotídicas y aminoacídicas del gen ND1 completo de esta especie han sido obtenidas por primera vez.

Triatoma petrocchiae

Secuencias nucleotídicas

De un total de 10 muestras de *T. petrocchiae* procedentes de 2 Estados brasileños se han obtenido 7 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de esta especie:

- Haplotipo T.pet-ND1a: correspondiente a 5 muestras procedentes de Caicó/Rio Grande do Norte, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 69,7 %.
- Haplotipo T.pet-ND1b: correspondiente a 2 muestras procedentes de Currais Novos/Rio Grande do Norte, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 69,7 %.

Se han comparado estos haplotipos nucleotídicos de *T. petrocchiae* entre ellos y se han podido observar 14 posiciones variables (véase Tabla 41).

Haplotipos	Posiciones variables
	111233455 6788 8123615178 1313 7492758462 5864
T.pet-ND1a_Caicó	TTACTACAGA G00C
T.pet-ND1b_Currais_Novos	CGTGTGTGAG A1TT

Tabla 41. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de *T. petrocchiae* obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína ND1 de esta especie ha presentado una longitud de 307 aminoácidos, con una mayor abundancia de Fenilalanina (14,2 %) seguido de Leucina (13,9 %). El codón de inicio ha sido GTA y el codón de parada TAA.

Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico: T.pet-ND1A, correspondiente a las muestras de Caicó y Currais Novos.

Cabe resaltar que las secuencias nucleotídicas y aminoacídicas del gen ND1 completo de esta especie han sido obtenidas por primera vez.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRATOMA*

Triatoma melanocephala

Secuencias nucleotídicas

Del total de 5 muestras de *T. melanocephala* procedentes del Estado de Bahia, se han obtenido 5 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de esta especie:

- Haplotipo T.mno-ND1a: correspondiente a 3 muestras procedentes de Poções/Bahia, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 71,1 %.
- Haplotipo T.mno-ND1b: correspondiente a 2 muestras procedentes de Jequié/Bahia, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 71,9 %.

Se han comparado estos haplotipos de *T. melanocephala* entre ellos y se han podido observar 13 mutaciones transicionales (véase Tabla 42).

Haplotipos	Posiciones variables
	112234577 899
	4126604733 500
	8494794625 705
T.mno-ND1a_Poções	ACGGGAGAGG GGT
T.mno-ND1b_Jequié	GTAATAGATA AAC

Tabla 42. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de *T. melanocephala* obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína ND1 de esta especie han presentado una longitud de 307 aminoácidos y una mayor abundancia de Fenilalanina (14,1 %) seguido de Leucina (12,8 %). El codón de inicio ha sido GTA y el codón de parada TAG. Estas secuencias aminoacídicas han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos aminoacídicos: T.mno-ND1A, correspondiente a las 3 muestras de Poções/Bahia y T.mno-ND1B, correspondiente a las 2 muestras de Jequié/Bahia,

Se han comparado estos haplotipos aminoacídicos de *T. melanocephala* entre ellos y se han podido observar 3 posiciones variables (véase Tabla 43).

Haplotipos	Posiciones variables
	123
	480
	862
T.mno-ND1A_Poções	IRV
T.mno-ND1B_Jequié	MKA

Tabla 43. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 de *T. melanocephala* obtenidos en la presente Tesis.

Cabe resaltar que las secuencias nucleotídicas y aminoacídicas del gen ND1 completo de esta especie han sido obtenidas por primera vez.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Triatoma tibiamaculata

Secuencias nucleotídicas

Del total de 4 muestras de *T. tibiamaculata* procedentes de Mogi Guaçu en el Estado de São Paulo se han obtenido 4 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie: T.tib-ND1a, con una longitud de 925 pb y una composición en AT de 73,8 %.

Secuencias aminoacídicas

La secuencia aminoacídica de la proteína ND1 de esta especie ha presentado una longitud de 307 aminoácidos, con una mayor abundancia de Fenilalanina (14,8 %) seguido de Leucina (13,9 %). El codón de inicio ha sido GTA y el codón de parada TAA.

Hay que mencionar que las secuencias nucleotídicas y aminoacídicas del gen ND1 completo de esta especie han sido obtenidas por primera vez en el presente estudio.

Triatoma vitticeps

Secuencias nucleotídicas

Se han analizado 3 muestras de *T. vitticeps* procedentes de Guarapari/Espírito Santo y se han obtenido 3 secuencias. Estas secuencias han sido iguales entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie: Haplotipo T.vit-ND1a, correspondiente a 3 muestras procedentes de Guarapari/Espírito Santo, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 72,1 %.

Secuencias aminoacídicas

A partir del análisis de la secuencia aminoacídica de la proteína ND1 de esta especie, se ha obtenido 1 haplotipo aminoacídico: T.vit-ND1A, con una longitud de 307 aminoácidos y una mayor abundancia de Fenilalanina (14,4 %) seguido de Leucina (13,1 %). El codón de inicio ha sido GTA y el codón de parada TAG.

Hay que mencionar que las secuencias nucleotídicas y aminoacídicas del gen ND1 completo de *T. vitticeps* han sido obtenidas por primera vez en el presente estudio.

A continuación se detallan (Tabla 44) las respectivas longitudes en pares de base, los porcentajes de AT, los codones de inicio y parada y la procedencia geográfica de los diferentes haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de las especies del género *Triatoma* obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo nucleotídico</i>	<i>ND1 (pb)</i>	<i>AT (%)</i>	<i>Codones (inicio/fin)</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>T. pseudomaculata</i>	T.pse-ND1a	924	70,3	GTA/TAA	Seabra/Bahia
<i>T. sordida</i>	T.sor-ND1a	924	68,3	GTA/TAG	Seabra/Bahia
<i>T. brasiliensis</i>	T.bra-ND1a	924	70,2	GTA/TAA	Curaçá/Bahia; Umari/Ceará
	T.bra-ND1b	924	69,9	GTA/TAA	Icó/Ceará
	T.bra-ND1c	924	70,2	GTA/TAA	Santa Terezinha/Paraíba; Caicó/Rio Grande do Norte
	T.bra-ND1d	924	70,1	GTA/TAA	Cajazeiras/Paraíba
	T.bra-ND1e	924	70,1	GTA/TAA	Cajazeiras/Paraíba
<i>T. juazeirensis</i>	T.jua-ND1a	924	69,5	GTA/TAA	Ibipeba /Bahia
	T.jua-ND1b	924	68,9	GTA/TAA	Juazeiro/Bahia
<i>T. sherlocki</i>	T.she-ND1a	924	71,0	GTA/TAA	Bahia
	T.she-ND1b	924	71,0	GTA/TAA	Gentio do Ouro/Bahia
	T.she-ND1c	924	70,8	GTA/TAA	Santo Inácio (Gentio do Ouro)/Bahia
<i>T. melanica</i>	T.mel-ND1a	924	69,4	GTA/TAA	Paus-Pretos /Bahia
<i>T. lenti</i>	T.len-ND1a	924	69,5	GTA/TAA	Bahia
	T.len-ND1b	924	69,3	GTA/TAA	Macaúbas/Bahia
<i>T. petrocchiai</i>	T.pet-ND1a	924	69,7	GTA/TAA	Caicó/Rio Grande do Norte
	T.pet-ND1b	924	69,7	GTA/TAA	Currais Novos/Rio Grande do Norte
<i>T. melanocephala</i>	T.mno-ND1a	924	71,1	GTA/TAG	Poçoas/Bahia
	T.mno-ND1b	924	71,9	GTA/TAG	Jequié/Bahia
<i>T. tibiamaculata</i>	T.tib-ND1a	924	73,8	GTA/TAA	Mogi Guaçu/São Paulo
<i>T. vitticeps</i>	T.vit-ND1a	924	72,1	GTA/TAG	Guarapari/Espírito Santo

Tabla 44. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas, codones de inicio y parada y procedencia geográfica de los haplotipos del gen ND1 completo de todas las especies del género *Triatoma* obtenidos en la presente Tesis.

A continuación se detalla (Tabla 45) el número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos obtenidos para la proteína codificada por el gen ND1 de las especies del género *Triatoma* analizadas en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo aminoacídico</i>	<i>Nº aa</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>T. pseudomaculata</i>	T.pse-ND1A	307	Seabra/Bahia
<i>T. sordida</i>	T.sor-ND1A	307	Seabra/Bahia
<i>T. brasiliensis</i>	T.bra-ND1A	307	Curaçá/Bahia; Umari/Ceará
	T.bra-ND1B	307	Icó/Ceará
	T.bra-ND1C	307	Santa Terezinha/Paraíba; Caicó/Rio Grande do Norte; Cajazeiras/Paraíba
	T.bra-ND1D	307	Cajazeiras/Paraíba
<i>T. juazeirensis</i>	T.jua-ND1A	307	Ibipeba /Bahia
	T.jua-ND1B	307	Juazeiro/Bahia
<i>T. sherlocki</i>	T.she-ND1A	307	Bahia
	T.she-ND1B	307	Gentio do Ouro/Bahia
<i>T. melanica</i>	T.mel-ND1A	307	Paus-Pretos /Bahia
<i>T. lenti</i>	T.len-ND1A	307	Bahia
	T.len-ND1B	307	Macaúbas/Bahia
<i>T. petrocchia</i>	T.pet-ND1A	307	Caicó y Currais Novos/Rio Grande do Norte
<i>T. melanocephala</i>	T.mno-ND1A	307	Poçoões/Bahia
	T.mno-ND1B	307	Jequié/Bahia
<i>T. tibiamaculata</i>	T.tib-ND1A	307	Mogi Guaçu/São Paulo
<i>T. vitticeps</i>	T.vit-ND1A	307	Guarapari/Espírito Santo

Tabla 45. Número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos obtenidos para la proteína codificada por el gen ND1 de las especies del género *Triatoma* analizadas en la presente Tesis.

Evaluación del gen ND1 en las especies estudiadas del género *Triatoma*

Se ha procedido a un análisis conjunto de todos los haplotipos del gen ND1 completo descritos para todas las especies del género *Triatoma* estudiadas en la presente Tesis:

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRATOMA*

- Se han descrito un total de 21 haplotipos nucleotídicos diferentes para el gen ND1 completo de todas las especies del género *Triatoma* estudiadas, conforme se ha observado en la Tabla 44. Todos los haplotipos del gen ND1 completo obtenidos han presentado una longitud de 924 pb.
- La longitud del alineamiento de todos los haplotipos obtenidos del gen ND1 ha sido de 924 pb y ha proporcionado un total de 272 posiciones variables, de las cuales 72 han sido singletons y 200 han sido posiciones parsimónicamente informativas.
- En el análisis de las diferencias par a par entre todos los haplotipos del gen ND1 de las especies del género *Triatoma* obtenidos en el presente estudio, se ha observado que la mayor distancia genética se encuentra entre las especies *T. melanica* y *T. tibiamaculata*, con un valor de 144 diferencias nucleotídicas. Entre todos los haplotipos analizados se ha verificado una media de 82 bases nucleotídicas diferentes.

3.1.2.3. Análisis de la subunidad I del gen Citocromo Oxidasa (CO1)

En este apartado se han analizado las secuencias del gen mitocondrial CO1 de 62 muestras de las diferentes especies del género *Triatoma* procedentes de 7 Estados brasileños (Tabla 5).

Los análisis del gen CO1 de todos los especímenes estudiados de este género han permitido obtener 22 haplotipos nucleotídicos y 15 haplotipos aminoácidos diferentes.

La longitud de las secuencias nucleotídicas del gen CO1 obtenidas en el presente trabajo ha presentado una media de 693 pares de base (pb) (valores entre 648 y 706 pb) y una composición de AT con valores entre 58,2 % y 64,1 % (media de 60,0 %). Estas secuencias nucleotídicas han proporcionado proteínas codificadas por el gen CO1 con una media de 230 aminoácidos (valores entre 215 y 241 aminoácidos).

Triatoma pseudomaculata

Secuencias nucleotídicas

De un total de 3 muestras de *T. pseudomaculata* procedentes de 2 Estado brasileños, se han obtenido 3 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie:

- Haplotipo T.pse-CO1a: correspondiente a 2 muestras procedentes de Seabra/Bahia, con una longitud de 706 pb y una composición en AT de 59,0 %.
- Haplotipo T.pse-CO1b: correspondiente a 1 muestra procedente de Cajazeiras/Paraíba, con una longitud de 706 pb y una composición en AT de 59,5 %.

Se han comparado estos 2 haplotipos de *T. pseudomaculata* con el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de esta especie publicado en GenBank que ha presentado una mayor homología (KC608986, con una longitud de 202 pb y sin información disponible de la procedencia) y se han observado 10 mutaciones transicionales (véase Tabla 46).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRITOMA*

Haplotipos	Posiciones variables
	1123334666 7960892578 0735451751
T.pse-CO1a_Seabra* T.pse-CO1b_Cajazeiras* KC608986_Triatoma_pseudomaculata_CO1	CGCATCCTGC TATGCTTCAT ---GCTT---

Tabla 46. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de *T. pseudomaculata* obtenidos y el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de esta especie publicado en GenBank que ha presentado una mayor homología. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CO1 de esta especie ha presentado una longitud de 241 aminoácidos, con una mayor abundancia de Leucina (13,9 %) seguido de Serina (11,3 %).

Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína CO1 de esta especie: T.pse-CO1A, correspondiente a las muestras de Seabra/Bahia; y T.pse-CO1B, correspondiente a las muestras de Cajazeiras/Paraíba. Se han comparado estos haplotipos aminoacídicos de *T. pseudomaculata* con el haplotipo aminoacídico de la proteína CO1 de esta especie publicado en GenBank que ha presentado mayor homología (KC608986, sin datos de la procedencia) y se han podido observar 5 posiciones variables (véase Tabla 47).

Haplotipos	Posiciones variables
	11 56803 76822
T.pse-CO1A_Seabra* T.pse-CO1B_Cajazeiras* KC608986_Triatoma_pseudomaculata_CO1	SRSYT LQFCI ---CI

Tabla 47. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de *T. pseudomaculata* obtenidos y el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicado en GenBank que ha presentado mayor homología. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Triatoma sordida

Secuencias nucleotídicas

De un total de 2 muestras de *T. sordida* procedentes de Seabra/Bahia se han obtenido 2 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen CO1 de esta especie: T.sor-CO1a, con una longitud de 648 pb y una composición en AT de 59,1 %.

Se ha comparado este haplotipo nucleotídico de *T. sordida* con los 3 haplotipos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología (KC249383, con una longitud de 638 pb y procedente de La Paz/Bolivia; KC249384, con 583 pb, de Mato Grosso do Sul/Brasil; y KC249388, con 544 pb y procedente de Mato

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Grosso/Brasil) y se han podido observar un total de 41 posiciones variables (véase Tabla 48).

Haplotipos	Posiciones variables
	1111112 2233333333 4444444455 5555556666 6
	5783457894 7800335566 0244456812 3444690033 3
	4285431654 0269031269 5917900338 7036143603 6
T.sor-CO1A_Seabra*	ATGATTCAT AACCCCTTCT GCAAGATCC CTACATTTT T
KC249383_Triatoma_sordida_isolate83_COI	GCA.CCTTGC GG.TTCTCTC AT.GA.TCTT T.GGT..C..
KC249384_Triatoma_sordida_isolate85_COI	-CAGCCTTGC .G..TTCTCTC ATGGAG..TT .C.GTG.CCC A
KC249388_Triatoma_sordida_isolate90_COI	---.C.TTGC ..TTTCTCTC ATGGAG..TT .C.GTG.CCC A

Tabla 48. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de *T. sordida* obtenido y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

A partir del análisis de la secuencia aminoacídica de la proteína CO1 de esta especie, se ha obtenido 1 haplotipo aminoacídico: T.sor-CO1A, con una longitud de 215 aminoácidos y una mayor abundancia de Isoleucina (14,3 %) seguido de Leucina (13,9 %).

Se ha comparado este haplotipo aminoacídico de *T. sordida* con los haplotipos aminoacídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología (KC249383, KC249384 y KC249388, correspondientes a los 3 haplotipos nucleotídicos comparados anteriormente) y se han podido observar 6 posiciones variables (véase Tabla 49).

Haplotipos	Posiciones variables
	1111
	364558
	059041
T.sor-CO1A_Seabra*	VIIRII
KC249383_Triatoma_sordida_isolate83_COI	IMMCFM
KC249384_Triatoma_sordida_isolate85_COI	IMMQ..
KC249388_Triatoma_sordida_isolate90_COI	-MMQ..

Tabla 49. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CO1 de *T. sordida* obtenido y los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Triatoma brasiliensis

Secuencias nucleotídicas

Del total de 12 muestras de *T. brasiliensis* procedentes de 4 Estados brasileños se han obtenido 12 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 5 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie:

- Haplotipo T.bra-CO1a: correspondiente a 3 muestras procedentes de Curaçá/Bahia y 2 muestras de la localidad de Umari/Ceará, con una longitud de 693 pb y una composición en AT de 58,7 %.
- Haplotipo T.bra-CO1b: correspondiente a 2 muestras procedentes de Icó/Ceará, con una longitud de 693 pb y una composición en AT de 59,2 %.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

- Haplotipo T.bra-CO1c: correspondiente a 2 muestras procedentes de Cajazeiras/Paraíba, con una longitud de 693 pb y una composición en AT de 58,6 %.
- Haplotipo T.bra-CO1d: correspondiente a 1 muestra procedente de Santa Terezinha/Paraíba y 1 muestra procedente de Caicó/Rio Grande do Norte (para fines comparativos esta muestra ha sido nombrada como “T.bra-CO1d_Caicó 1”), con una longitud de 693 pb y una composición en AT de 58,7 %.
- Haplotipo T.bra-CO1e: correspondiente a 1 muestra procedente de Caicó/Rio Grande do Norte (para fines comparativos esta muestra ha sido nombrada como “T.bra-CO1e_Caicó 2”), con una longitud de 693 pb y una composición en AT de 58,6 %.

Se han comparado estos haplotipos nucleotídicos de *T. brasiliensis* con los 3 haplotipos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología (KJ580487, con una longitud de 681 pb; KJ580489, con 684 pb; y KJ580490, con 681 pb, todos procedentes del Estado de Ceará) y se han podido observar: 18 posiciones variables entre todos los haplotipos comparados y 16 mutaciones entre los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de *T. brasiliensis* obtenidos en la presente Tesis. Además, se ha observado que el haplotipo T.bra-CO1a obtenido en el presente trabajo ha presentado un fragmento de 681 pb idéntico al haplotipo T.bra-CO1E publicado en GenBank (KJ580490) (véase Tabla 50).

Haplotipos	Posiciones variables
	1233334444 45555566
	8701351239 91355713
	0765674955 89425659
T.bra-CO1a_Curaçá*	ACTGGGTTGG GCTGTTTG
T.bra-CO1a_Umari*
T.bra-CO1b_Icó*	GTCATACAA A...CC.A
T.bra-CO1c_Cajazeiras*	...T...C... ..C.....
T.bra-CO1d_Santa_Terezinha*	...T..... ..C.....
T.bra-CO1d_Caicó_1*	...T..... ..C.....
T.bra-CO1e_Caicó_2*	...T..... ..C...C.
KJ580490_Triatoma_brasiliensis_haplotype_E_CO1
KJ580487_Triatoma_brasiliensis_haplotype_B_CO1	...T..... ..T.A...A
KJ580489_Triatoma_brasiliensis_haplotype_D_CO1	...T..... ..T.A...A

Tabla 50. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos obtenidos del gen CO1 de *T. brasiliensis* obtenidos y los 3 haplotipos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CO1 de esta especie han presentado una longitud de 230 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina (14,8 %) seguido de Leucina (13,5 %).

A partir del análisis de estas secuencias aminoacídicas de *T. brasiliensis*, se han obtenido 2 haplotipos aminoacídicos:

- Haplotipo T.bra-CO1A: correspondiente a las muestras de Curaçá/Bahia, Umari/Ceará, Cajazeiras/Paraíba, Santa Terezinha/Paraíba y Caicó/Rio Grande do Norte.
- Haplotipo T.bra-CO1B: correspondiente a las muestras de Icó/Ceará.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Se han comparado estos haplotipos aminoacídicos de *T. brasiliensis* con los 3 haplotipos aminoacídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología (KJ580487, KJ580489 y KJ580490, correspondiente a los haplotipos nucleotídicos comparados anteriormente) y se han podido observar 2 posiciones variables entre los 2 haplotipos aminoacídicos obtenidos en el presente trabajo (véase Tabla 51).

Haplotipos	Posiciones variables
	1
	66
	05
T.bra-CO1A_Curaçá*	IM
T.bra-CO1A_Unari*	..
T.bra-CO1A_Cajazeiras*	..
T.bra-CO1A_Santa_Terezinha*	..
T.bra-CO1A_Caicó_1*	..
T.bra-CO1A_Caicó_2*	..
T.bra-CO1B_Icó*	MI
KJ580487_Triatoma_brasiliensis_haplotype_B_COI	..
KJ580489_Triatoma_brasiliensis_haplotype_D_COI	..
KJ580490_Triatoma_brasiliensis_haplotype_E_COI	..

Tabla 51. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de *T. brasiliensis* obtenidos y los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Triatoma juazeirensis

Secuencias nucleotídicas

Del total de 7 muestras de *T. juazeirensis* procedentes del Estado de Bahia, se han obtenido 7 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 3 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie:

- Haplotipo T.jua-CO1a: correspondiente a 1 muestra procedente de Ibipeba/Bahia, con una longitud de 693 pb y una composición en AT de 59,5 % (para fines comparativos esta muestra ha sido nombrada como “T.jua-CO1a_Ibipeba 1”).
- Haplotipo T.jua-CO1b: correspondiente a 1 muestra procedente de Ibipeba/Bahia, con una longitud de 693 pb y una composición en AT de 59,4 % (para fines comparativos esta muestra ha sido nombrada como “T.jua-CO1b_Ibipeba 2”).
- Haplotipo T.jua-CO1c: correspondiente a 5 muestras procedentes de Juazeiro/Bahia, con una longitud de 693 pb y una composición en AT de 59,4 %.

Se han comparado estos haplotipos nucleotídicos de *T. juazeirensis* con el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de esta especie publicado en GenBank (KF826892, con una longitud de 336 pb y procedente de Juazeiro/Bahia) y se han podido observar un total de 4 mutaciones (1 transversional y 3 transicionales) entre todos los haplotipos comparados. Además, se ha observado que los 3 haplotipos nucleotídicos obtenidos han presentado un fragmento de 336 pb idéntico al haplotipo publicado en GenBank (véase Tabla 52).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRITOMA*

Haplotipos	Posiciones variables
	2456
	9854
	2352
T.jua-CO1a_Ibipeba_1*	TAAG
T.jua-CO1b_Ibipeba_2*	CG.A
T.jua-CO1c_Juazeiro*	..C.
KF826892_Triatoma_juazeirensis_CO1	..---

Tabla 52. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de *T. juazeirensis* obtenidos y el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de esta especie publicado en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CO1 de esta especie ha presentado una longitud de 230 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina (15,2 %) seguido de Leucina (13,5 %).

Estas secuencias aminoacídicas de *T. juazeirensis* han sido analizadas y han proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína CO1 de esta especie: T.jua-CO1A. Este haplotipo, con una longitud de 230 aminoácidos, ha sido comparado con el haplotipo aminoacídico de *T. juazeirensis* publicado en GenBank (KF826892, procedente de Juazeiro/Bahia), con una longitud de 111 aminoácidos, y no se han observado diferencias aminoacídicas entre los 111 aminoácidos comparados.

Triatoma sherlocki

Secuencias nucleotídicas

Se han analizado un total de 7 muestras de *T. sherlocki* procedentes del Estado de Bahia y se han obtenido 7 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie:

- Haplotipo T.she-CO1a: correspondiente a 3 muestras procedentes de la localidad del Estado de Bahia, con una longitud de 699 pb y una composición en AT de 60,0 %.
- Haplotipo T.she-CO1b: correspondiente a 4 muestras procedentes de Gienio do Ouro/Bahia, con una longitud de 699 pb y una composición en AT de 60,1 %.

Se han comparado estos haplotipos nucleotídicos de *T. sherlocki* con los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank (KC608987, con una longitud de 202 pb y procedente de Gienio do Ouro/Bahia; y KC249377, con 338 pb y sin información disponible de la procedencia) y se han podido observar 4 mutaciones transicionales (véase Tabla 53).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRITOMA*

Haplotipos	Posiciones variables
	1356
	8304
	0645
T.she-CO1a_Bahia*	ATCG
T.she-CO1b_Gentio_do_Ouro*	GGTA
KC608987_Triatoma_sherlocki_CO1	-G--
KC249377_Triatoma_sherlocki_isolate80_CO1	-GT-

Tabla 53. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de *T. sherlocki* obtenidos y los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CO1 de esta especie han presentado una longitud de 232 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina (14,7 %) seguido de Leucina (13,3 %).

A partir del análisis de estas secuencias aminoacídicas de *T. sherlocki*, se han obtenido 2 haplotipos aminoacídicos:

- Haplotipo T.she-CO1A: correspondiente a las muestras de Bahia.
- Haplotipo T.she-CO1B: correspondiente a las muestras de Gentio do Ouro.

Se han comparado estos haplotipos aminoacídicos de *T. brasiliensis* con los 2 haplotipos aminoacídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank (KC608987 y KC249377, correspondiente a los haplotipos nucleotídicos comparados anteriormente) y se ha podido observar 1 posición variable (véase Tabla 54).

Haplotipos	Posición variable
	6
	0
T.she-CO1A_Bahia*	I
T.she-CO1B_Gentio_do_Ouro*	M
KC608987_Triatoma_sherlocki_CO1	-
KC249377_Triatoma_sherlocki_isolate80_CO1	-

Tabla 54. Posición variable hallada entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de *T. sherlocki* obtenidos y los 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Triatoma melanica

Secuencias nucleotídicas

De un total de 2 muestras de *T. melanica* procedentes de Paus-Pretos/Bahia se han obtenido 2 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen CO1 de esta especie: Haplotipo T.mel-CO1a, con una longitud de 693 pb y una composición en AT de 60,2 %.

Se ha comparado este haplotipo nucleotídico de *T. melanica* con los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología (KJ580493, con una longitud de 663 pb; KJ580494, con 636 pb; y KJ580495, con 630 pb, todos procedentes del Estado de Minas Gerais) y se han podido observar un total de 8 mutaciones (1 transversión y 7 transiciones) (véase Tabla 55).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Haplotipos	Posiciones variables
	11155566 23501334 06370142
T.mel-CO1a_Paus_Pretos*	CATTTCAA
KJ580495_Triatoma_melanica_haplotype_J_COIG.
KJ580494_Triatoma_melanica_haplotype_I_COIAG.
KJ580493_Triatoma_melanica_haplotype_H_COI	TGCCC.GG

Tabla 55. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de *T. melanica* obtenido y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

La secuencia aminoacídica de la proteína CO1 de esta especie ha presentado una longitud de 230 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina (14,8 %) seguido de Leucina (13,4 %).

Esta secuencia aminoacídica ha sido analizada y ha proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína CO1 de *T. melanica*: T.mel-CO1A. Este haplotipo ha sido comparado con los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología (KJ580493, KJ580494 y KJ580495) y se han observado 2 posiciones variables (véase Tabla 56).

Haplotipos	Posiciones variables
	2 41 62
T.mel-CO1A_Paus_Pretos*	IT
KJ580495_Triatoma_melanica_haplotype_J_COI	.A
KJ580494_Triatoma_melanica_haplotype_I_COI	.A
KJ580493_Triatoma_melanica_haplotype_H_COI	VA

Tabla 56. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CO1 de *T. melanica* obtenido y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Triatoma lenti

Secuencias nucleotídicas

Del total de 4 especímenes de *T. lenti* procedentes del Estado de Bahia, se han obtenido 4 secuencias. El análisis de estas secuencias ha proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie:

- Haplotipo T.len-CO1a: correspondiente a 2 muestras procedentes del Estado de Bahia, con una longitud de 693 pb y una composición en AT de 59,7 %.
- Haplotipo T.len-CO1b: correspondiente a 2 muestras procedentes de Macaúbas/Bahia, con una longitud de 693 pb y una composición en AT de 59,8 %.

Se han comparado estos haplotipos nucleotídicos de *T. lenti* entre ellos y se han podido observar 2 mutaciones transicionales (véase Tabla 57).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Haplotipos	Posiciones variables
	66
	34
	38
T.len-CO1a_Bahia	AC
T.len-CO1b_Macaibas	GT

Tabla 57. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de *T. lenti* obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CO1 de esta especie obtenidas han presentado una longitud de 230 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina (14,3 %) seguido de Leucina (13,4 %).

Estas secuencias aminoacídicas han sido idénticas y han proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína CO1 de *T. lenti*: T.len-CO1A.

Cabe resaltar que las secuencias nucleotídicas y aminoacídicas del gen CO1 de esta especie de triatomino han sido obtenidas por primera vez en la presente Tesis.

Triatoma petrocchia

Secuencias nucleotídicas

Se han analizado un total de 9 muestras de *T. petrocchia* procedentes de los Estados de Paraíba y Rio Grande do Norte y se han obtenido 9 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie:

- Haplotipo T.pet-CO1a: correspondiente a 2 muestras procedentes de Cajazeiras/Paraíba y 5 muestras procedentes de Caicó/Rio Grande do Norte, con una longitud de 693 pb y una composición en AT de 58,5 %.
- Haplotipo T.pet-CO1b: correspondiente a 2 muestras procedentes de Currais Novos/Rio Grande do Norte, con una longitud de 693 pb y una composición en AT de 58,2 %.

Se han comparado estos haplotipos nucleotídicos de *T. petrocchia* entre ellos y se han podido observar 5 mutaciones transicionales (véase Tabla 58).

Haplotipos	Posiciones variables
	11256
	58894
	93555
T.pet-CO1a_Cajazeiras	CATTA
T.pet-CO1a_Caicó
T.pet-CO1b_Currais_Novos	TGCGG

Tabla 58. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de *T. petrocchia* obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRITOMA*

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CO1 de *T. petrocchiae* han sido iguales entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico: T.pet-CO1A, con una longitud de 230 aminoácidos y una mayor abundancia de Isoleucina (15,2 %) seguido de Leucina (13,4 %).

Las secuencias nucleotídicas y aminoacídicas del gen CO1 de esta especie han sido obtenidas por primera vez en la presente Tesis.

Triatoma melanocephala

Secuencias nucleotídicas

Del total de 5 muestras de *T. melanocephala* procedentes del Estado de Bahia, se han obtenido 5 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie:

- Haplotipo T.mno-CO1a: correspondiente a 3 muestras procedentes de Poções/Bahia, con una longitud de 693 pb y una composición en AT de 62,8 %.
- Haplotipo T.mno-CO1b: correspondiente a 2 muestras procedentes de Jequié/Bahia, con una longitud de 693 pb y una composición en AT de 62,3 %.

Estos haplotipos nucleotídicos de *T. melanocephala* han sido comparados con los 3 haplotipos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank (KF826893, con una longitud de 336 pb y procedente de Bom Jesus Da Serra/Bahia; KF826894, con 336 pb, de Jequié/Bahia; y KF826895, con 336 pb y procedente de Poções/Bahia) y se han observado un total de 25 posiciones variables. Entre los 2 haplotipos nucleotídicos obtenidos en la presente Tesis se han visto 7 mutaciones (1 transversional y 6 transicionales) (véase Tabla 59).

Haplotipos	Posiciones variables
	1222333 3333333333 33356
	6777349011 1111223335 56764
	8681432901 6789180377 91348
T.mno-CO1a_Poções*	GATCTACAAG TTAGCGATAA CTATT
T.mno-CO1b_Jequié*	...TOG...T....C ...OC
KF826893_Triatoma_melanocephala_isolate_1_COI	CT.....TT .AC...G... ---
KF826894_Triatoma_melanocephala_isolate_2_COI	C.A.....TTA...G ...--
KF826895_Triatoma_melanocephala_isolate_3_COI	C...C.TTTT C.CA..GOC ACT--

Tabla 59. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de *T. melanocephala* obtenidos y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CO1 de *T. melanocephala* obtenidas han presentado una longitud de 230 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina (15,5 %) seguido de Leucina (13,6 %). Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína CO1 de esta especie: T.mno-CO1A, correspondiente a las 3 muestras de Poções/Bahia, y T.mno-CO1B, correspondiente a las 2 muestras de Jequié/Bahia.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Estos haplotipos aminoacídicos de *T. melanocephala* han sido comparadas con los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína CO1 de esta especie publicados en GenBank (KF826893, KF826893 y KF826893, correspondiente a los haplotipos nucleotídicos comparados anteriormente) y se han podido observar en total 11 diferencias aminoacídicas entre todos los haplotipos comparados. Entre los 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína CO1 obtenidos en el presente trabajo, se ha observado 1 diferencia aminoacídica (véase Tabla 60).

Haplotipos	Posiciones variables
	111111 1
	2289000112 2
	3618467030 5
T.mno-CO1A_Poções*	RIILSLWGP I
T.mno-CO1B_Jequié*	..M..... .
KF826893 <i>Triatoma melanocephala</i> isolate_1_COI	TF..FY.... .
KF826894 <i>Triatoma melanocephala</i> isolate_2_COI	T...F..R... .
KF826895 <i>Triatoma melanocephala</i> isolate_3_COI	T..FF.I.PQ F

Tabla 60. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de *T. melanocephala* obtenidos y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Triatoma tibiamaculata

Secuencias nucleotídicas

Del total de 4 muestras de *T. tibiamaculata* procedentes de Mogi Guaçu/São Paulo se han obtenido 4 secuencias. Estas secuencias han sido iguales entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen CO1 de esta especie: T.tib-CO1a, con una longitud de 693 pb y una composición en AT de 64,1 %.

Este haplotipo nucleotídico de *T. tibiamaculata* obtenido ha sido comparado con los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank (KC249389 y KF826890, procedentes de Mogi Guaçu/São Paulo, con longitudes de 415 pb y 336 pb, respectivamente; y KC249390, sin información disponible de la procedencia, con una longitud de 471 pb). Se ha podido observar que el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de esta especie obtenido en la presente Tesis, ha presentado un fragmento de 415 pb idéntico al haplotipo “T.tib-CO1isolate177” publicado en GenBank (KC249389, procedente de Mogi Guaçu), además, se han hallado un total de 12 posiciones variables (5 mutaciones transicionales y 7 mutaciones transversionales) (véase Tabla 61).

Haplotipos	Posiciones variables
	1133333456 66
	3300005757 89
	4501264768 40
T.tib-CO1a_Mogi_Guaçu*	TAACTATCTT TT
KC249389 <i>Triatoma tibiamaculata</i> isolate_177_COI	---.....-- --
KC249390 <i>Triatoma tibiamaculata</i> isolate_79_COI	---....CTCC AA
KF826890 <i>Triatoma tibiamaculata</i> _COI	ATTACT.--- --

Tabla 61. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de *T. tibiamaculata* obtenido y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRITOMA*

Secuencias aminoacídicas

La secuencia aminoacídica de la proteína CO1 de *T. tibiamaculata* obtenida ha presentado una longitud de 231 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina (15,2 %) seguido de Leucina (13,9 %). Esta secuencia ha sido analizada y ha proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína CO1 de esta especie: T.tib-CO1A, correspondiente a las 4 muestras de Mogi Guaçu/São Paulo.

Se ha comparado este haplotipo aminoacídico de *T. tibiamaculata* con los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína CO1 de esta especie publicados en GenBank (KC249389, KC249390 y KF826890, correspondientes a los haplotipos nucleotídicos comparados anteriormente) y se ha observado que el haplotipo aminoacídico obtenido ha presentado un fragmento de 138 aminoácidos idéntico a los haplotipos “T.tib-CO1isolate177” y “T.tib-CO1isolate79” publicados en GenBank (véase Tabla 62).

Haplotipos	Posiciones variables
	111
	4000
	5012
T.tib-CO1A Mogi Guaçu*	VILL
KC249389_Triatoma_tibiamaculata_isolate_177_CO1	-...
KC249390_Triatoma_tibiamaculata_isolate_79_CO1	-...
KF826890_Triatoma_tibiamaculata_CO1	DFTF

Tabla 62. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CO1 de *T. tibiamaculata* obtenido y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Triatoma vitticeps

Secuencias nucleotídicas

Del total de 6 especímenes de *T. vitticeps* procedentes de 2 Estados brasileños se ha podido obtener 3 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen CO1 de esta especie:

- Haplotipo T.vit-CO1a: correspondiente a 3 muestras procedentes de Pedra Azul/Minas Gerais, con una longitud de 693 pb y una composición en AT de 60,6 %.

Se ha comparado este haplotipo nucleotídico de *T. vitticeps* obtenido con los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología (KC249395, con una longitud de 458 pb y procedente de Itanhomi/Mina Gerais; KC249396, con 343 pb y sin información disponible de la procedencia; y AF021219, con una longitud de 1447 pb y sin información disponible de la procedencia), y se han observado 32 mutaciones (28 transiciones y 4 transversiones) (véase Tabla 63).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Haplotipos	Posiciones variables
	1122222333 3333344444 4455555666 6666
	0334599115 6779900122 4623467455 7889
	5240548264 1583608101 1527640817 8470
T.vit-CO1a Pedra Azul*	CTOCTCTCT CCCCATTTC TCTOCCACTC TTCT
KC249395_Triatoma vitticeps isolate 168_COI	--..TC.C.CC....TGTA .----
KC249396_Triatoma vitticeps isolate 81_COI	--TTT.T.TC T.TTGCCTT CTCTTA.---- ----
AF021219_Triatoma vitticeps_COI_encoding_mitochondrial	TC..T....C .T...C.... CATA

Tabla 63. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de *T. vitticeps* obtenido y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

La secuencia aminoacídica de la proteína CO1 de *T. vitticeps* ha presentado una longitud de 231 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina (15,2 %) seguido de Leucina (13,9 %). Esta secuencia ha sido analizada y ha proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína CO1 de esta especie: T.vit-CO1A, correspondiente a las 3 muestras procedente de Pedra Azul/Minas Gerais.

Se ha comparado este haplotipo aminoacídico de *T. vitticeps* con los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína CO1 de esta especie publicados en GenBank (KC249395, KC249396 y AF021219, correspondientes a los haplotipos nucleotídicos comparados anteriormente) y no se han observado diferencias aminoacídicas en el fragmento de 231 aminoácidos comparados.

A continuación se detallan (Tabla 64) las respectivas longitudes en pares de base, los porcentajes de AT y la procedencia geográfica de los diferentes haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de las especies del género *Triatoma* obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo nucleotídico</i>	<i>COI (pb)</i>	<i>AT (%)</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>T. pseudomaculata</i>	T.pse-CO1a	706	59,0	Seabra/Bahia
	T.pse-CO1b	706	59,5	Cajazeiras/Paraíba
<i>T. sordida</i>	T.sor-CO1a	648	59,1	Seabra/Bahia
<i>T. brasiliensis</i>	T.bra-CO1a	693	58,7	Curaçá/Bahia; Umari/Ceará
	T.bra-CO1b	693	59,2	Icó/Ceará
	T.bra-CO1c	693	58,6	Cajazeiras/Paraíba
	T.bra-CO1d	693	58,7	Santa Terezinha/Paraíba; Caicó/Rio Grande do Norte
	T.bra-CO1e	693	58,6	Caicó/Rio Grande do Norte
<i>T. juazeirensis</i>	T.jua-CO1a	693	59,5	Ibipeba /Bahia
	T.jua-CO1b	693	59,4	Ibipeba /Bahia
	T.jua-CO1c	693	59,4	Juazeiro/Bahia
<i>T. sherlocki</i>	T.she-CO1a	699	60,0	Bahia
	T.she-CO1b	699	60,1	Gentio do Ouro/Bahia
<i>T. melanica</i>	T.mel-CO1a	693	60,2	Paus-Pretos /Bahia
<i>T. lenti</i>	T.len-CO1a	693	59,7	Bahia
	T.len-CO1b	693	59,8	Macaúbas/Bahia
<i>T. petrocchiai</i>	T.pet-CO1a	693	58,5	Cajazeiras/Paraíba; Caicó/Rio Grande do Norte
	T.pet-CO1b	693	58,2	Currais Novos/Rio Grande do Norte
<i>T. melanocephala</i>	T.mno-CO1a	693	62,8	Poçoas/Bahia
	T.mno-CO1b	693	62,3	Jequié/Bahia
<i>T. tibiamaculata</i>	T.tib-CO1a	693	64,1	Mogi Guaçu/São Paulo
<i>T. vitticeps</i>	T.vit-CO1a	693	60,6	Pedra Azul/Minas Gerais

Tabla 64. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica en adeninas y timinas y procedencia geográfica de todos los haplotipos nucleotídicos del gen COI de las especies del género *Triatoma* obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

A continuación se detalla (Tabla 65) el número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de las especies del género *Triatoma* obtenidos en la presente Tesis.

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo aminoacídico</i>	<i>Nº aa</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>T. pseudomaculata</i>	T.pse-CO1A	241	Seabra/Bahia
	T.pse-CO1B	241	Cajazeiras/Paraíba
<i>T. sordida</i>	T.sor-CO1A	215	Seabra/Bahia
<i>T. brasiliensis</i>	T.bra-CO1A	230	Curaçá/Bahia; Umari/Ceará; Cajazeiras y Santa Terezinha/Paraíba; Caicó/Rio Grande do Norte
	T.bra-CO1B	230	Icó/Ceará
<i>T. juazeirensis</i>	T.jua-CO1A	230	Todas las muestras analizadas
<i>T. sherlocki</i>	T.she-CO1A	232	Bahia
	T.she-CO1B	232	Gentio do Ouro/Bahia
<i>T. melanica</i>	T.mel-CO1A	230	Paus-Pretos /Bahia
<i>T. lenti</i>	T.len-CO1A	230	Bahia
<i>T. petrocchiai</i>	T.pet-CO1A	230	Cajazeiras/Paraíba; Caicó y Currais Novos/Rio Grande do Norte
<i>T. melanocephala</i>	T.mno-CO1A	230	Poções/Bahia
	T.mno-CO1B	230	Jequié/Bahia
<i>T. tibiamaculata</i>	T.tib-CO1A	231	Mogi Guaçu/São Paulo
<i>T. vitticeps</i>	T.vit-CO1A	231	Pedra Azul/Minas Gerais

Tabla 65. Número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de las especies del género *Triatoma* obtenidos en la presente Tesis.

Evaluación del gen CO1 en las especies estudiadas del género *Triatoma*

Se ha procedido a un análisis conjunto de todos los haplotipos del gen CO1 descritos para todas las especies del género *Triatoma* estudiadas en la presente Tesis:

- Se han descrito un total de 22 haplotipos nucleotídicos diferentes para el gen CO1 de todas las especies del género *Triatoma* estudiadas, conforme se ha observado en la Tabla 64.
- El haplotipo del gen CO1 obtenido para la especie *T. pseudomaculata* ha presentado la mayor longitud con 706 pb. La especie *T. sordida* ha presentado el haplotipo con la longitud más corta entre todos los haplotipos de este gen obtenidos en el presente estudio: 648 pb.
- La longitud del alineamiento de todos los haplotipos obtenidos del gen CO1 ha sido de 724 pb y ha proporcionado un total de 221 posiciones variables, de las cuales 39 han sido singletons y 182 han sido posiciones parsimónicamente informativas.
- En el análisis de las diferencias par a par entre todos los haplotipos del gen CO1 de las especies del género *Triatoma* obtenidos en el presente estudio, se ha observado que la mayor distancia genética se encuentra entre las especies *T. vitticep* y *T. lenti*, con un valor de 125 diferencias nucleotídicas. Entre todos los haplotipos analizados se ha verificado una media de 76 diferencias nucleotídicas.

3.1.2.4. Análisis del gen Citocromo B (CytB)

En este estudio se han analizado las secuencias del gen mitocondrial CytB de 62 especímenes de diferentes especies del género *Triatoma* procedentes de 7 Estados brasileños (Tabla 5).

Los análisis del gen CytB de todos los especímenes estudiados de este género han permitido obtener 19 haplotipos nucleotídicos y 19 haplotipos aminoacídicos diferentes.

La longitud de las secuencias nucleotídicas del gen CytB de las especies del género *Triatoma* obtenidas en el presente trabajo, ha presentado una media de 873 pares de bases (pb) (valores entre 717 y 1134 pb) y una composición de AT con valores entre 60,0 % y 68,3 % (media de 63,6 %). Estas secuencias nucleotídicas han proporcionado proteínas codificadas por el gen CytB con una media de 277 aminoácidos (valores entre 133 y 377 aminoácidos).

Triatoma pseudomaculata

Secuencias nucleotídicas

De un total de 3 muestras de *T. pseudomaculata* procedentes de 2 Estados brasileños, se han podido obtener 2 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen CytB de esta especie:

- Haplotipo T.pse-CytBa: correspondiente a 2 muestras procedentes de Seabra/Bahia, con una longitud de 1083 pb y una composición en AT de 63,3 %.

Se ha comparado este haplotipo nucleotídico de *T. pseudomaculata* obtenido con los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología (KC249275, KC249276 y KC249277, procedentes de Várzea Alegre/Ceará y con longitudes más cortas de 423 pb, 464 pb y 511 pb,

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

respectivamente), y se han observado 15 mutaciones (2 transversiones y 13 transiciones) (véase Tabla 66).

Haplotipos	Posiciones variables
	3444555666 77788 7557568269 02801 0067076199 20610
T.pse-CytBa_Seabra*	CATATAGCC ACTCC
KC249275_Triatoma_pseudomaculata_isolate_211_CytB	-GCGCTATTT GTCAT
KC249276_Triatoma_pseudomaculata_isolate_212_CytB	TGCGCTATTT GTCAT
KC249277_Triatoma_pseudomaculata_isolate_214_CytB	.GCGCTATTT GTCAT

Tabla 66. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CytB de *T. pseudomaculata* obtenido y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CytB de *T. pseudomaculata* ha presentado una longitud de 360 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina (17,3 %) seguido de Leucina (16,1 %). Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína CytB de esta especie: T.pse-CytBA, correspondiente a las 2 muestras procedente de Seabra/Bahia.

Se ha comparado este haplotipo aminoacídico de *T. pseudomaculata* con los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología (KC249275, KC249276 y KC249277, correspondientes a los haplotipos nucleotídicos comparados anteriormente) y se ha observado 1 diferencia aminoacídica (véase Tabla 67).

Haplotipos	Posición variable
	1 9 6
T.pse-CytBA_Seabra*	A
KC249275_Triatoma_pseudomaculata_isolate_211_CytB	T
KC249276_Triatoma_pseudomaculata_isolate_212_CytB	T
KC249277_Triatoma_pseudomaculata_isolate_214_CytB	T

Tabla 67. Posición variable hallada entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CytB de *T. pseudomaculata* obtenido y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Triatoma sordida

Secuencias nucleotídicas

Se han analizado un total de 2 muestras de *T. sordida* procedentes de Seabra/Bahia y se han obtenido 2 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen CytB completo de esta especie: T.sor-CytBa, con una longitud de 1134 pb y una composición en AT de 60,2 %.

Se ha comparado este haplotipo nucleotídico de *T. sordida* con los 3 haplotipos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología (KC249291, procedente de La Paz/Bolivia; KC249292, procedente de Pantanal/Mato Grosso do Sul/Brasil; y KC249294, sin información disponible de la procedencia, y con longitudes más cortas de 562 pb, 562 pb y 551 pb, respectivamente), y se han podido observar 15 diferencias nucleotídicas (1 mutación transversional y 14 mutaciones transicionales) (véase Tabla 68).

Haplotipos	Posiciones variables
	3333334457 77888
	1156797834 79566
	5917594014 45514
<u>T.sor-CytBa</u> _Seabra*	CTAAATGGT CTCGG
KC249291_Triatoma_sordida_isolate_83_CytB	TCGGGCGAAC .CTTA
KC249292_Triatoma_sordida_isolate_85_CytB	TC.G..... ..TTA
KC249294_Triatoma_sordida_isolate_87_CytB	TC.G..... T.T--

Tabla 68. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CytB de *T. sordida* obtenido y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CytB de *T. sordida* obtenidas han presentado una longitud de 377 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina (16,7 %) seguido de Leucina (15,9 %). Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína CytB de esta especie: T.sor-CytBA, correspondiente a las 2 muestras procedente de Seabra/Bahia.

Se ha comparado este haplotipo aminoacídico de *T. sordida* con los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología (KC249291, KC249292 y KC249294, correspondientes a los haplotipos nucleotídicos comparados anteriormente) y se han observado 3 posiciones variables (véase Tabla 69).

Haplotipos	Posiciones variables
	111
	022
	735
<u>T.sor-CytBA</u> _Seabra*	SII
KC249291_Triatoma_sordida_isolate_83_CytB	FVM
KC249292_Triatoma_sordida_isolate_85_CytB	FV.
KC249294_Triatoma_sordida_isolate_87_CytB	FV.

Tabla 69. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CytB de *T. sordida* obtenido y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Triatoma brasiliensis

Secuencias nucleotídicas

Del total de 12 muestras de *T. brasiliensis* procedentes de 4 Estados brasileños se han obtenido 12 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 5 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie:

- Haplotipo T.bra-CytBa: correspondiente a 3 muestras procedentes de Curaçá/Bahia y 2 muestras de la localidad de Umari/Ceará, con una longitud de 792 pb y una composición en AT de 63,6 %.
- Haplotipo T.bra-CytBb: correspondiente a 2 muestras procedentes de Icó/Ceará, con una longitud de 792 pb y una composición en AT de 63,2 %.
- Haplotipo T.bra-CytBc: correspondiente a 2 muestras procedentes de Cajazeiras/Paraíba, con una longitud de 792 pb y una composición en AT de 63,1 %.
- Haplotipo T.bra-CytBd: correspondiente a 1 muestra procedente de Santa Terezinha/Paraíba, con una longitud de 792 pb y una composición en AT de 63,9 %.
- Haplotipo T.bra-CytBe: correspondiente a 2 muestras procedentes de Caicó/ Rio Grande do Norte, con una longitud de 792 pb y una composición en AT de 63,6 %.

Estos 5 haplotipos nucleotídicos de *T. brasiliensis* obtenidos han sido comparados con los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie depositados en GenBank que han presentado mayor homología (AY494160, con una longitud de 510 pb y procedente de Corrego Salgado/Ceará; KC249240, con una longitud de 561 pb y procedente de Curaçá/Bahia; y KC249241, con una longitud de 570 pb y procedente de Sobral/Ceará) y se han observado un total de 36 posiciones variables (4 mutaciones transversionales y 32 mutaciones transicionales). Entre los 5 haplotipos nucleotídicos del gen CytB obtenidos en el presente trabajo se han hallado 31 diferencias nucleotídicas (véase Tabla 70).

Haplotipos	Posiciones variables
	11122223 3444444555 5555666677 777788 3617848886 7004467456 6667455811 359900 9374600580 8894577921 7890089417 572827
T.bra-CytBa Curaçá*	AGAGATGTAT AACTTTCTAC AGTTOGGCTT CTCTGT
T.bra-CytBa Umari*
T.bra-CytBb Icó*	.A..GCACT. GSTOC.TC..T..TOC TC.TCA
T.bra-CytBc Cajazeiras*	G.G...A..C G....C.... ..C.A.T.. ..C...
T.bra-CytBd Santa Terezinha*	G....A... G.T..... ..AAT... ..C...
T.bra-CytBe Caicó*	G.GA..A... G..... ..A.T.. ..C...
AY494160 <i>Triatoma brasiliensis</i> haplotype v cytB	.AG.....
KC249240 <i>Triatoma brasiliensis</i> isolate_40_cytb	G.GA..AC.. G.....TA -----
KC249241 <i>Triatoma brasiliensis</i> isolate_41_cytb	G.GA..AC.. G.....TA GAG.-----

Tabla 70. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de *T. brasiliensis* obtenidos y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CytB de *T. brasiliensis* obtenidas han presentado una longitud de 263 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRITOMA*

(16,8 %) seguido de Leucina (15,7 %). Estas secuencias aminoacídicas han sido analizadas y se han obtenido 5 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie:

- Haplotipo T.bra-CytBA: correspondiente a las 3 muestras procedentes de Curaçá/Bahia y 2 muestras de la localidad de Umari/Ceará.
- Haplotipo T.bra-CytBB: correspondiente a 2 muestras procedentes de Icó/Ceará.
- Haplotipo T.bra-CytBC: correspondiente a 2 muestras procedentes de Cajazeiras/Paraíba.
- Haplotipo T.bra-CytBD: correspondiente a 1 muestra procedente de Santa Terezinha/Paraíba.
- Haplotipo T.bra-CytBE: correspondiente a 2 muestras procedentes de Caicó/ Rio Grande do Norte.

Se han comparado estos 5 haplotipos aminoacídicos de *T. brasiliensis* con los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología (AY494160, KC249240 y KC249241, correspondientes a los haplotipos nucleotídicos depositados en GenBank comparados anteriormente, con longitudes de 170, 187 y 190 aminoácidos, respectivamente) y se han observado un total de 6 diferencias aminoacídicas (véase Tabla 71). Cabe resaltar que el haplotipo aminoacídico T.bra-CytBA, obtenido en el presente trabajo, ha presentado un fragmento de 170 aminoácidos igual al haplotipo AY494160 publicado en GenBank.

Haplotipos	Posiciones variables
	1112
	193592
	346600
T.bra-CytBA_Curaçá*	IVITWG
T.bra-CytBA_Umari*
T.bra-CytBB_Icó*	.IM...
T.bra-CytBC_Cajazeiras*	MI.T.S
T.bra-CytBD_Santa_Terezinha*	MI...N
T.bra-CytBE_Caicó*	MI...S
AY494160 <i>Triatoma brasiliensis</i> haplotype v_cytB--
KC249240 <i>Triatoma brasiliensis</i> isolate_41_cytb	MI..S-
KC249241 <i>Triatoma brasiliensis</i> isolate_40_cytb	MI..--

Tabla 71. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de *T. brasiliensis* obtenidos y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Triatoma juazeirensis

Secuencias nucleotídicas

Se han analizado 5 muestras de *T. juazeirensis* procedentes de Juazeiro/Bahia y se han obtenido 5 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen CytB de esta especie: Haplotipo T.jua-CytBa, con una longitud de 792 pb y una composición en AT de 63,9 %.

El gen CytB de las 2 muestras de *T. juazeirensis* procedentes de Ibipecta/Bahia, estudiados en el presente trabajo, ha sido previamente secuenciado por Justi *et al.* (2014): haplotipo “T.jua-Cytbisolate209”, con una longitud de 461 pb (GenBank: KC249263).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Se ha comparado este haplotipo nucleotídico del gen CytB de *T. juazeirensis* publicado en GenBank con el haplotipo nucleotídico del gen CytB de esta especie obtenido en la presente Tesis (T.jua-CytBa) y se han observado 1 mutación tranversional y 3 mutaciones transicionales (véase Tabla 72).

Haplotipos	Posiciones variables
	2255
	1812
	3262
T.jua-CytBa_Juazeiro*	TTAG
KC249263_Triatoma_juazeirensis_isolate_209_cytb	OCTA

Tabla 72. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CytB de *T. juazeirensis* obtenido y el haplotipo nucleotídico del gen CytB de esta especie publicado en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CytB de *T. juazeirensis* obtenidas en el presente trabajo han presentado una longitud de 263 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina (16,4 %) seguido de Leucina (16,4 %). Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína CytB de esta especie: T.jua-CytBA, correspondiente a las 5 muestras procedente de Juazeiro/Bahia.

Se ha comparado este haplotipo aminoacídico de *T. juazeirensis* (longitud de 263 aminoácidos) con el haplotipo aminoacídico de la proteína CytB de esta especie publicado en GenBank (KC249263, procedente de Juazeiro/Bahia), con una longitud de 153 aminoácidos, y no se han observado diferencias aminoacídicas entre los 153 aminoácidos comparados.

Triatoma sherlocki

Secuencias nucleotídicas

Se han analizado un total de 5 muestras de *T. sherlocki* procedentes del Estado de Bahia y se han obtenido 5 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie:

- Haplotipo T.she-CytBa: correspondiente a 3 muestras procedentes del Estado de Bahia, con una longitud de 792 pb y una composición en AT de 62,0 %.
- Haplotipo T.she-CytBb: correspondiente a 2 muestras procedentes de Santo Inácio en el municipio de Gentio do Ouro/Bahia, con una longitud de 792 pb y una composición en AT de 62,0 %.

El gen CytB de las 2 muestras de *T. sherlocki* procedentes de Gentio do Ouro/Bahia, estudiados en el presente trabajo, ha sido previamente secuenciado por Mendonça *et al.* (2009): haplotipo “*Triatoma sherlocki* cytochrome b gene, partial”, con una longitud de 414 pb (GenBank: EU489058).

Se han comparado los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de *T. sherlocki* obtenidos en la presente Tesis con los 2 haplotipos de esta especie publicados en GenBank

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRITOMA*

(EU489058, con una longitud de 414 pb y procedente de Gentio do Ouro; y KC249288, con una longitud de 562 pb y sin información de la procedencia) y se han observado 10 posiciones variables (mutaciones transicionales) (véase Tabla 73).

Haplotipos	Posiciones variables
	1455777
	6682945138
	0140892459
T.she-CytBa_Bahia*	CAGGCOCATC
T.she-CytBb_Santo_Inácio*	TGGAT..GCT
EU489058_Triatoma_sherlocki_cytochrome_b	----T----
KC249288_Triatoma_sherlocki_isolate_80_CytB	TGGATT---

Tabla 73. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de *T. sherlocki* obtenidos y los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CytB de esta especie obtenidas han presentado una longitud de 263 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina (17,0 %) seguido de Leucina (15,7 %). Estas secuencias aminoacídicas han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie:

- Haplotipo T.she-CytBA, correspondiente a las 3 muestras procedentes del Estado de Bahia.
- Haplotipo T.she-CytBB, correspondiente a las 2 muestras procedentes Santo Inácio en el municipio de Gentio do Ouro/Bahia.

Se han comparado estos 2 haplotipos de *T. sherlocki* obtenidos con los 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie publicados en GenBank (EU489058, con una longitud de 137 aminoácidos; y KC249288, con una longitud de 187 aminoácidos) y se ha observado 1 diferencia aminoacídica entre los haplotipos comparados (véase Tabla 74).

Haplotipos	Posición variable
	2
	1
T.she-CytBA_Bahia*	I
T.she-CytBB_Santo_Inácio*	V
EU489058_Triatoma_sherlocki_cytochrome_b	-
KC249288_Triatoma_sherlocki_isolate_80_CytB	V

Tabla 74. Posición variable hallada entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de *T. sherlocki* obtenidos y los 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Triatoma melanica

Secuencias nucleotídicas

De un total de 2 muestras de *T. melanica* procedentes de Paus-Pretos/Bahia, se han obtenido 2 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen CytB completo de esta especie: Haplotipo T.mel-CytBa, con una longitud de 1134 pb y una composición en AT de 63,6 %.

Se ha comparado este haplotipo nucleotídico de *T. melanica* obtenido con los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank (AY494170, con una longitud de 510 pb y procedente de Porteirinha/Minas Gerais; y AY336527, con una longitud de 510 pb y procedente de Espinosa/Minas Gerais) y se han podido observar 6 posiciones variables (mutaciones transicionales) (véase Tabla 75).

Hay que resaltar que los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de *T. melanica* depositados en GenBank están nombrados como *T. brasiliensis* en la publicación correspondiente de Monteiro *et al.* (2004).

Haplotipos	Posiciones variables
	445667
	597599
	951775
T.mel-CytBa_Paus_Pretos*	CGATAC
AY494170_Triatoma_brasiliensis_haplotype_I_CytB	T....
AY336527_Triatoma_brasiliensis_haplotype_H_CytB	.AGGGT

Tabla 75. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CytB completo de *T. melanica* obtenido y los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank.
*Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

La secuencia aminoacídica de la proteína CytB de esta especie ha presentado una longitud de 377 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina (17,6 %) seguido de Leucina (15,9 %). Esta secuencia aminoacídica ha sido analizada y ha proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína CytB de *T. melanica*: T.mel-CytBA.

Este haplotipo ha sido comparado con los 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie publicados en GenBank (AY494170 y AY336527, ambos con una longitud de 170 aminoácidos y procedentes de Minas Gerais) y se han observado 2 diferencias aminoacídicas. Cabe resaltar que los 170 aminoácidos comparados han sido iguales entre el haplotipo AY494170 publicado en GenBank y el haplotipo aminoacídico de la proteína CytB de *T. melanica* obtenido en la presente Tesis (véase Tabla 76).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Haplotipos	Posiciones variables
	12
	93
	13
T.mel-CytBA_Paus_Pretos*	TI
AY494170_Triatoma_brasiliensis_haplotype_I_CytB	..
AY336527_Triatoma_brasiliensis_haplotype_H_CytB	AV

Tabla 76. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CytB completo de *T. melanica* obtenido y los 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Triatoma lenti

Secuencias nucleotídicas

Se han analizado un total de 4 especímenes de *T. lenti* procedentes del Estado de Bahia y se han obtenido 4 secuencias. El análisis de estas secuencias ha proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen CytB completo de esta especie:

- Haplotipo T.len-CytBa: correspondiente a 2 muestras procedentes del Estado de Bahia, con una longitud de 1134 pb y una composición en AT de 63,7 %.
- Haplotipo T.len-CytBb: correspondiente a 2 muestras procedentes de Macaúbas/Bahia, con una longitud de 1134 pb y una composición en AT de 63,6 %.

Se han comparado estos 2 haplotipos nucleotídicos de *T. lenti* obtenidos con el haplotipo nucleotídico del gen CytB de esta especie publicado en GenBank (KT347299, con 698 pb y procedente de Macaúbas/Bahia) y se han observado 10 diferencias nucleotídicas (2 mutaciones transversionales y 8 mutaciones transicionales) (véase Tabla 77).

Haplotipos	Posiciones variables
	11
	334779900
	4179130301
	3563153951
T.len-CytBa_Bahia*	ACAGGGCTTA
T.len-CytBb_Macaúbas*	G.G.A.
KT347299_Triatoma_lenti_cytochrome_b	-TGTAATCAC

Tabla 77. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CytB completo de *T. lenti* obtenidos y el haplotipo nucleotídico del gen CytB de esta especie publicado en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CytB de *T. lenti* obtenidas han presentado una longitud de 377 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina (17,2 %) seguido de Leucina (15,6 %). Estas secuencias aminoacídicas han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie:

- Haplotipo T.len-CytBA, correspondiente a las 2 muestras procedentes del Estado de Bahia.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

- Haplotipo T.len-CytBB, correspondiente a las 2 muestras procedentes Macaúbas/Bahia.

Estos haplotipos aminoacídicos de *T. lenti* obtenidos han sido comparados con el haplotipo aminoacídico de esta especie publicado en GenBank (KT347299, con una longitud de 232 aminoácidos, procedente de Macaúbas/Bahia) y se han podido observar 2 posiciones variables (véase Tabla 78).

Haplotipos	Posiciones variables
	1
	12
	56
T.len-CytBA_Bahia*	IR
T.len-CytBB_Macaúbas*	VG
KT347299_Triatoma_lenti_cytochrome_b	-G

Tabla 78. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB completo de *T. lenti* obtenidos y el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicado en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Triatoma petrocchiai

Secuencias nucleotídicas

De un total de 7 muestras de *T. petrocchiai* procedentes del Estado de Rio Grande do Norte, se han obtenido 7 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie:

- Haplotipo T.pet-CytBa: correspondiente a 5 muestras procedentes de Caicó/Rio Grande do Norte, con una longitud de 783 pb y una composición en AT de 64,2 %.
- Haplotipo T.pet-CytBb: correspondiente a 2 muestras procedentes de Currais Novos/Rio Grande do Norte, con una longitud de 783 pb y una composición en AT de 64,3 %.

Se han comparado estos 2 haplotipos nucleotídicos de *T. petrocchiai* entre ellos y se han observado 6 posiciones variables (mutaciones transicionales) (véase Tabla 79).

Haplotipos	Posiciones variables
	12567
	428550
	832219
T.pet-CytBa_Caicó	GCACTA
T.pet-CytBb_Currais_Novos	ATGTGG

Tabla 79. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de *T. petrocchiai* obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CytB de esta especie han presentado una longitud de 260 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina (16,8 %) seguido de Leucina (16,2 %). Estas secuencias aminoacídicas han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos aminoacídicos: T.pet-CytBA, correspondiente a las 5 muestras de Caicó/Rio Grande do Norte; y T.pet-CytBB, correspondiente a las 2 muestras de Currais Novos/Rio Grande do Norte.

Estos haplotipos aminoacídicos de *T. petrocchiae* han sido comparados entre ellos y se ha observado 1 diferencia aminoacídica (véase Tabla 80).

Haplotipos	Posición variable
	2
	3
	7
T.pet-CytBA_Caicó	I
T.pet-CytBB_Currais_Novos	V

Tabla 80. Posición variable hallada entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de *T. petrocchiae* obtenidos en la presente Tesis.

Triatoma melanocephala

Secuencias nucleotídicas

Del total de 5 muestras de *T. melanocephala* procedentes del Estado de Bahia, se han obtenido 5 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie:

- Haplotipo T.mno-CytBa: correspondiente a 3 muestras procedentes de Poções/Bahia, con una longitud de 531 pb y una composición en AT de 63,8 %.
- Haplotipo T.mno-CytBb: correspondiente a 2 muestras procedentes de Jequié/Bahia, con una longitud de 531 pb y una composición en AT de 64,8 %.

Se han comparado estos 2 haplotipos nucleotídicos de *T. melanocephala* obtenidos con los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank (KF826898, con una longitud de 442 pb y procedente de Bom Jesus da Serra/Bahia; KF826899, con 442 pb, de Jequié/Bahia; y KF826900, con 442 pb y procedente de Poções/Bahia) y se han observado un total de 22 posiciones variables (5 mutaciones transversionales y 17 mutaciones transicionales). Entre los 2 haplotipos nucleotídicos obtenidos en el presente trabajo, se han observado 14 mutaciones (1 transversión y 13 transiciones) (véase Tabla 81).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Haplotipos	Posiciones variables
	1222 2222233333 34 2333454003 6778834489 92 6568791346 8012464592 98
T.mno-CytBa_Poçoës*	ACCTGGCTGC GAATACAGAC CC
T.mno-CytEb_Jequié*	...TATATT ...GGTG.GT TT
KF826898 <i>Triatoma melanocephala</i> isolate_1_CytB	C.A..... TTT....A.. ..
KF826899 <i>Triatoma melanocephala</i> isolate_2_CytB	..TATAT.TT .T.GGTG.GT TT
KF826900 <i>Triatoma melanocephala</i> isolate_3_CytB	.TAA..... .TT..... ..

Tabla 81. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de *T.melanocephala* obtenidos y los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CytB de *T. melanocephala* obtenidas han presentado una longitud de 176 aminoácidos, con una mayor abundancia de Leucina (20,5 %) seguido de Serina (10,9 %). Estas secuencias aminoacídicas han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie:

- T.mno-CytBA, correspondiente a las muestras de la localidad de Poçoës/Bahia.
- T.mno-CytBB, correspondiente a las muestras de Jequié/Bahia.

Estos haplotipos aminoacídicos de *T. melanocephala* han sido comparados con los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie depositados en GenBank (KF826898, con una longitud de 147 aminoácidos y procedente de Bom Jesus da Serra/Bahia; KF826899, con una longitud de 147 aminoácidos y procedente de Jequié/Bahia; y KF826900 con una longitud de 147 aminoácidos y procedente de Poçoës/Bahia) y se han observado un total de 12 posiciones variables (véase Tabla 82).

Haplotipos	Posiciones variables
	11 11 112679913 34 9260890150 13
T.mno-CytBA_Poçoës*	ESSGFSEIEN PP
T.mno-CytBB_Jequié*	..FDYF..GS LL
KF826898 <i>Triatoma melanocephala</i> isolate_1_CytB	A.....YF.. ..
KF826899 <i>Triatoma melanocephala</i> isolate_2_CytB	..FD.FD.GS LL
KF826900 <i>Triatoma melanocephala</i> isolate_3_CytB	..L....DF.. ..

Tabla 82. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de *T. melanocephala* obtenidos y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Triatoma tibiamaculata

Secuencias nucleotídicas

Del total de 4 muestras de *T. tibiamaculata* procedentes de Mogi Guaçu/São Paulo se han obtenido 4 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen CytB de esta especie: T.tib-CytBa, con una longitud de 789 pb y una composición en AT de 68,3 %.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIAMOMA*

Este haplotipo nucleotídico de *T. tibiamaculata* ha sido comparado con los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank (KF826897, con una longitud de 442 pb y procedente de Mogi Guaçu/São Paulo; KC249296, con una longitud de 560 pb y procedente de Mogi Guaçu/São Paulo; y KC249297, con una longitud de 562 pb y sin información disponible de la procedencia) y se han podido observar 10 mutaciones transicionales (véase Tabla 83).

Cabe resaltar que el haplotipo nucleotídico del gen CytB de *T. tibiamaculata* obtenido en el presente trabajo ha presentado un fragmento de 442 pb idéntico al haplotipo nucleotídico del gen CytB de esta especie depositado en GenBank, con número de acceso KF826897, procedente de Mogi Guaçu.

Haplotipos	Posiciones variables
	133445555
	2977011556
	1258946292
<i>T.tib-CytBa_Mogi_Guaçu*</i>	-ATATCCCTG
KF826897 <i>Triatoma tibiamaculata</i> CytB	-.....---
KC249296 <i>Triatoma tibiamaculata</i> isolate_177_CytB	A.....TCA
KC249297 <i>Triatoma tibiamaculata</i> isolate_79_CytB	GGCGCTTTC.

Tabla 83. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CytB de *T.tibiamaculata* obtenido y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

La secuencia aminoacídica de la proteína CytB de *T. tibiamaculata* ha presentado una longitud de 262 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina (16,6 %) seguido de Leucina (15,8 %). El análisis de esta secuencia ha proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína CytB de esta especie: T.tib-CytBA, correspondiente a las 5 muestras de Mogi Guaçu/São Paulo.

Este haplotipo aminoacídico de *T. tibiamaculata* obtenido ha sido comparado con los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie publicados en GenBank (KF826897, con una longitud de 147 aminoácidos; KC249296, con una longitud de 186 aminoácidos, ambos procedentes de Mogi Guaçu; y KC249297, con una longitud de 187 aminoácidos y sin información disponible de la procedencia) y se ha observado 1 posición variable (véase Tabla 84).

Hay que mencionar que el haplotipo aminoacídico de la proteína CytB de *T. tibiamaculata* obtenido en el presente trabajo ha presentado un fragmento de 186 aminoácidos idéntico a los haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie depositados en GenBank: KF826897 y KC249296, procedentes de Mogi Guaçu.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

Haplotipos	Posición variable
	1
	3
	7
T.tib-CytBA_Mogi_Guaçu*	F
KF826897_Triatoma_tibiamaculata_CytB	.
KC249296_Triatoma_tibiamaculata_isolate_177_CytB	.
KC249297_Triatoma_tibiamaculata_isolate_79_CytB	L

Tabla 84. Posición variable hallada entre el haplotipo aminoacídico de la proteína CytB de *T. tibiamaculata* obtenido y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Triatoma vitticeps

Secuencias nucleotídicas

Del total de 3 especímenes de *T. vitticeps* procedentes de Guarapari/Espírito Santo se han obtenido 3 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen CytB de esta especie: Haplotipo T.vit-CytBa, con una longitud de 717 pb y una composición en AT de 63,4 %.

Se ha comparado este haplotipo nucleotídico de *T. vitticeps* obtenido con los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología (KF826896, con una longitud de 442 pb y procedente de Guarapari/Espírito Santo; y KC249303, con una longitud de 561 pb y sin información disponible de la procedencia) y se han observado un total de 6 mutaciones (1 transversión y 5 transiciones) (véase Tabla 85).

Hay que resaltar que el haplotipo obtenido en el presente trabajo, ha presentado un fragmento de 442 pb idéntico a uno de los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie depositado en GenBank: KF826896, también procedente de Guarapari/Espírito Santo.

Haplotipos	Posiciones variables
	223555
	195112
	624093
T.vit-CytBa_Guarapari*	ATGCGT
KF826896_Triatoma_vitticeps_CytB	...---
KC249303_Triatoma_vitticeps_isolate_81_CytB	GCAATC

Tabla 85. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CytB de *T. vitticeps* obtenido y los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CytB de esta especie han presentado una longitud de 238 aminoácidos, con una mayor abundancia de Isoleucina y Leucina (ambas con un 17,0 %). Estas secuencias aminoacídicas de *T. vitticeps* han sido analizadas y han proporcionando 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína CytB de esta especie: T.vit-CytBA, correspondiente a las 3 muestras procedentes de Guarapari/Espírito Santo.

Este haplotipo aminoacídico de *T. vitticeps* obtenido ha sido comparado con los 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie publicados en GenBank que

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRATOMA*

han presentado mayor homología (KF826896, con una longitud de 147 aminoácidos; y KC249303, con 187 aminoácidos) y no se han observado posiciones variables en el fragmento de 187 aminoácidos comparado.

A continuación se detallan (Tabla 86) las respectivas longitudes en pares de bases, los porcentajes de AT y la procedencia geográfica de los diferentes haplotipos nucleotídicos del gen CytB de las especies del género *Triatoma* obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRITOMA*

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo nucleotídico</i>	<i>CytB (pb)</i>	<i>AT (%)</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>T. pseudomaculata</i>	T.pse-CytBa	1083	63,3	Seabra/Bahia
<i>T. sordida</i>	T.sor-CytBa	1134	60,2	Seabra/Bahia
<i>T. brasiliensis</i>	T.bra-CytBa	792	63,6	Curaçá/Bahia; Umari/Ceará
	T.bra-CytBb	792	63,2	Icó/Ceará
	T.bra-CytBc	792	63,1	Cajazeiras/Paraíba
	T.bra-CytBd	792	63,9	Santa Terezinha/Paraíba
	T.bra-CytBe	792	63,6	Caicó/Rio Grande do Norte
<i>T. juazeirensis</i>	T.jua-CYTa	792	63,9	Juazeiro/Bahia
<i>T. sherlocki</i>	T.she-CytBa	792	60,0	Bahia
	T.she-CytBb	792	62,0	Santo Inácio (Gentio do Ouro) /Bahia
<i>T. melanica</i>	T.mel-CytBa	1134	63,6	Paus-Pretos /Bahia
<i>T. lenti</i>	T.len-CytBa	1134	63,7	Bahia
	T.len-CytBb	1134	63,6	Macaúbas/Bahia
<i>T. petrocchia</i>	T.pet-CytBa	783	64,2	Caicó/Rio Grande do Norte
	T.pet-CytBb	783	64,3	Currais Novos/Rio Grande do Norte
<i>T. melanocephala</i>	T.mno-CytBa	531	63,8	Poções/Bahia
	T.mno-CytBb	531	64,8	Jequié/Bahia
<i>T. tibiamaculata</i>	T.tib-CytBa	789	68,3	Mogi Guaçu/São Paulo
<i>T. vitticeps</i>	T.vit-CytBa	717	63,4	Guarapari/Espírito Santo

Tabla 86. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica en adeninas y timinas y procedencia geográfica de todos los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de todas las especies del género *Triatoma* obtenidos en la presente Tesis.

A continuación se detallan (Tabla 87) el número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de las especies del género *Triatoma* obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo aminoacídico</i>	<i>Nº aa</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>T. pseudomaculata</i>	T.pse-CytBA	360	Seabra/Bahia
<i>T. sordida</i>	T.sor-CytBA	377	Seabra/Bahia
<i>T. brasiliensis</i>	T.bra-CytBA	263	Curaçá/Bahia; Umari/Ceará
	T.bra-CytBB	263	Icó/Ceará
	T.bra-CytBC	263	Cajazeiras/Paraíba
	T.bra-CytBD	263	Santa Terezinha/Paraíba
	T.bra-CytBE	263	Caicó/Rio Grande do Norte
<i>T. juazeirensis</i>	T.jua-CytBA	263	Juazeiro/Bahia; Ibipeba/Bahia
<i>T. sherlocki</i>	T.she-CytBA	263	Bahia
	T.she-CytBB	263	Santo Inácio (Gentio do Ouro) /Bahia
	T.she-CytBC	133	Gentio do Ouro/Bahia
<i>T. melanica</i>	T.mel-CytBA	377	Paus-Pretos /Bahia
<i>T. lenti</i>	T.len-CytBA	377	Bahia
	T.len-CytBB	230	Macaúbas/Bahia
<i>T. petrocchiae</i>	T.pet-CytBA	260	Caicó/Rio Grande do Norte
	T.pet-CytBB	260	Currais Novos/Rio Grande do Norte
<i>T. melanocephala</i>	T.mno-CytBA	147	Poções/Bahia
	T.mno-CytBB	147	Jequié/Bahia
<i>T. tibiamaculata</i>	T.tib-CytBA	262	Mogi Guaçu/São Paulo
<i>T. vitticeps</i>	T.vit-CytBA	238	Guarapari/Espírito Santo

Tabla 87. Número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de las especies del género *Triatoma* analizadas en la presente Tesis.

Evaluación del gen CytB en las especies estudiadas del género *Triatoma*

Se ha procedido a un análisis conjunto de todos los haplotipos del gen CytB descritos para todas las especies del género *Triatoma* estudiadas en la presente Tesis:

- Se han descrito un total de 19 haplotipos nucleotídicos diferentes para el gen CytB de todas las especies del género *Triatoma* estudiadas, conforme se ha observado en la Tabla 86.
- Se ha obtenido la secuencia del gen CytB completo, con una longitud de 1134 pb, para las especies *T. sordida*, *T. melanica* y *T. lenti*.
- La especie *T. melanocephala* ha presentado el haplotipo con la longitud más corta entre todos los haplotipos de este gen obtenidos en el presente estudio: 531 pb.
- La longitud del alineamiento de todos los haplotipos obtenidos del gen CytB ha sido de 1134 pb y ha proporcionado un total de 364 posiciones variables, de las

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *TRIATOMA*

cuales 101 han sido singletons y 263 han sido posiciones parsimónicamente informativas.

- En el análisis de las diferencias par a par entre todos los haplotipos del gen CytB de las especies del género *Triatoma* obtenidos en el presente estudio, se ha observado que la mayor distancia genética se encuentra entre las especies *T. sordida* y *T. tibiamaculata*, con 103 diferencias nucleotídicas. Entre todos los haplotipos analizados se ha verificado una media de 63 diferencias nucleotídicas.

3.2. ANÁLISIS DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

3.2.1. Resultados obtenidos en el estudio del ADN ribosomal nuclear (ADNr)

En este apartado se detalla el análisis de las secuencias de los marcadores moleculares del ADN ribosomal nuclear, región intergénica completa (ITS-1 + 5.8S + ITS-2), de las especies estudiadas del género *Panstrongylus* (Tabla 5).

Las comparaciones entre las secuencias obtenidas y las secuencias ya publicadas en la base de datos GenBank, se han llevado a cabo mediante el programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) y se han utilizado hasta las 3 primeras secuencias publicadas que han presentado mayor homología para cada especie de este género analizada.

Todos los haplotipos obtenidos en el estudio del ADN ribosomal nuclear han sido nombrados según nomenclatura previamente establecida por Mas-Coma & Bargues (2009).

3.2.1.1. Análisis de la región intergénica completa del ADNr (ITS-1 + 5.8S + ITS-2)

A continuación se detalla el análisis de 6 nuevos haplotipos de la región intergénica obtenidos de las especies y poblaciones siguientes: 6 especímenes de *P. megistus* de los Estados de Bahia (4) y São Paulo (2); 2 especímenes de *P. geniculatus* de Bahia; 3 especímenes de *P. lutzi* de Bahia; y 4 especímenes de *P. herreri* de Pará.

Los análisis de la región intergénica completa de todos los especímenes estudiados de este género han permitido obtener haplotipos con una longitud media de 1418 pares de bases (pb) (entre 1219 y 1517 pb) y una composición de A y T que ha variado entre 68,5 % y 71,0 % (Tabla 90), con una media de 69,2 %.

Panstrongylus megistus

De un total de 6 especímenes de *P. megistus* procedentes de 2 Estados de Brasil se han obtenido 6 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 3 haplotipos de la región intergénica completa de esta especie.

Se han comparado estos 3 haplotipos de *P. megistus* obtenidos con los 3 haplotipos de la región intergénica completa de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología y se ha podido observar que:

- De 2 especímenes procedentes de Seabra/Bahia, el haplotipo obtenido ha sido igual al haplotipo P.meg-CH1S publicado en GenBank (HF678473, procedente de los Estados de Sergipe y São Paulo), con una longitud de 1517 pb y una composición en AT de 68,5 %. Para fines comparativos se ha nombrado este haplotipo como “P.meg-CH1S_Seabra 1”.
- De 2 especímenes procedentes de Seabra/Bahia, el ITS-1 obtenido ha sido igual al haplotipo P.meg-HS publicado en GenBank (HF678473, procedente de los Estados de Sergipe y São Paulo), y el ITS-2 ha sido idéntico al haplotipo P.meg-H10 depositado en GenBank (HF678475, procedente del Estado de Minas Gerais). Este nuevo haplotipo combinado, P.meg-CH10S, ha presentado una longitud de 1515 pb y una composición en AT de 68,5 %. Para fines comparativos se ha nombrado este haplotipo como “P.meg-CH10S_Seabra 2”.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

- De los 2 especímenes procedentes de Juquiá/São Paulo, el haplotipo obtenido ha sido igual al haplotipo P.meg-CH9Q publicado en GenBank (HF678470, del Estado de Rio Grande do Sul), con una longitud de 1514 pb y una composición en AT de 68,7 %.

Se han comparado estos haplotipos de *P. megistus* con los 3 haplotipos de la región intergénica completa de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología (HF678473, procedente de Simão Dias/Sergipe y Araraquara/São Paulo; HF678470, procedente de Santa Rosa/Rio Grande do Sul; y HF678475, procedente de Belo Horizonte/Minas Gerais) y se han observado un total de 5 mutaciones en el ITS-1 (2 transversiones y 3 transiciones) y 2 mutaciones en el ITS-2 (1 transición y 1 transversión) (véase Tabla 88).

Haplotipos	Posiciones variables	
	ITS-1	ITS-2
		1
	33356	93
	09990	86
	92552	16
P.meg-CH1S Seabra 1*	AAGGC	TA
P.meg-CH10S Seabra 2*	CC
P.meg-CH9Q Juquiá*	...AA	C.
HF678473 <i>Panstrongylus megistus</i> ITS1_5.8S_rRNA_gene ITS2_haplotype_1S
HF678470 <i>Panstrongylus megistus</i> ITS1_5.8S_rRNA_gene ITS2_haplotype_9Q	...AA	C.
HF678475 <i>Panstrongylus megistus</i> ITS1_5.8S_rRNA_gene ITS2_haplotype_10C	TGAA	CC

Tabla 88. Posiciones variables halladas entre los haplotipos de la región intergénica completa de *P. megistus* obtenidos y los 3 haplotipos de la región intergénica completa de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Panstrongylus geniculatus

Se han analizado 2 especímenes de *P. geniculatus* procedentes de Seabra/Bahia y se han obtenido 2 secuencias. Estas secuencias han sido iguales entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo de la región intergénica completa de esta especie: Haplotipo P.gen-CH1A, con una longitud de 1328 pb y una composición en AT de 69,3 %.

Este haplotipo de *P. geniculatus* obtenido ha sido comparado con los haplotipos del ITS-1 e ITS-2 de esta especie publicados en GenBank (AM949585 y AJ306543, procedentes de Ecuador; y AJ306544, procedente del Estado brasileño de Pará) y se han observado un total de 6 mutaciones en el ITS-1 (2 deleciones y 4 transiciones) y 10 mutaciones en el ITS-2 (1 inserción, 2 transiciones, 3 transversiones y 4 deleciones) (véase Tabla 89).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

Haplotipos	Posiciones variables	
	ITS-1	ITS-2
		11111111
	223444	8902222223
	690257	4790002332
	750584	8561282346
P.gen-CH1A_Seabra*	--ATGT	TGG--TA--T
AM949585 <i>Panstrongylus geniculatus</i> ITS1	ATGCAC	-----
AJ306543 <i>Panstrongylus geniculatus</i> ITS2	-----	-AT--A.--C
AJ306544 <i>Panstrongylus geniculatus</i> ITS2	-----	-ATGTRACTAC

Tabla 89. Posiciones variables halladas entre el haplotipo de la región intergénica completa de *P. geniculatus* obtenido y las secuencias del ITS-1 e ITS-2 de esta especie publicadas en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Panstrongylus lutzi

Del total de 3 muestras de *P. lutzi* procedentes de Curaçá/Bahia, se han obtenido 3 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo del ITS-1 de esta especie: Haplotipo P.lut-HA, con una longitud de 682 pb y una composición en AT de 70,2 %.

No ha sido posible obtener la secuencia del ITS-2 de esta especie mediante la amplificación por PCR de los especímenes analizados.

Panstrongylus herreri

Se han analizado un total de 4 muestras de *P. herreri* de la localidad de Belém/Pará y se han obtenido 4 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo de la región intergénica completa de esta especie: Haplotipo P.her-CH1A, con una longitud de 1219 pb y una composición en AT de 71,0 %.

Se compara este haplotipo de *P. herreri* obtenido con los haplotipos del ITS-1 e ITS-2 de esta especie, y la especie sinónima *P. lignarius*, publicados en GenBank (AM949584, ITS-1 procedente de Ecuador; AJ306550, ITS-2 procedente de Ecuador; y AJ306549, ITS-2 procedente del Estado brasileño de Pará) y se ha observado que el ITS-1 del haplotipo obtenido en la presente Tesis ha sido idéntico al haplotipo “*Panstrongylus herreri* ITS1” depositado en GenBank (AM949584, de Ecuador), y que el ITS-2 del haplotipo obtenido en el presente estudio ha sido igual al haplotipo “*Panstrongylus lignarius* ITS2” publicado en GenBank (AJ306549, de Pará).

A continuación se detallan (Tabla 90) las respectivas longitudes en pares de base de cada espaciador interno transcrito (ITS-1 e ITS-2) y de la región intergénica completa, así como los porcentajes de AT y la procedencia geográfica de los diferentes haplotipos de la región intergénica de las especie del género *Panstrongylus* obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo</i>	<i>ITS1</i> (pb)	<i>ITS2</i> (pb)	<i>Región</i> <i>intergénica</i> <i>completa</i> (pb)	<i>AT</i> (%)	<i>Procedencia</i> <i>geográfica</i>
<i>P. megistus</i>	P.meg-CH1S	762	600	1517	68,5	Seabra/Bahia
	P.meg-CH10S	762	598	1515	68,5	Seabra/Bahia
	P.meg-CH9Q	761	598	1514	68,7	Juquiá/São Paulo
<i>P. geniculatus</i>	P.gen-CH1A	666	507	1328	69,3	Seabra/Bahia
<i>P. lutzi</i>	P.lut-HA	682	-	-	-	Curaçá/Bahia
<i>P. herreri</i>	P.her-CH1A	572	492	1219	71,0	Belém/Pará

Tabla 90. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de todas los haplotipos de la región intergénica de las especies del género *Panstrongylus* obtenidos en la presente Tesis.

Evaluación de la región intergénica completa en las especies estudiadas del género *Panstrongylus*

Se ha procedido a un análisis conjunto de todos los haplotipos descritos para todas las especies del género *Panstrongylus* estudiadas en la presente Tesis:

- Se han descrito un total de 5 haplotipos diferentes de la región intergénica completa y 1 haplotipo del ITS-1 para todas las especies del género *Panstrongylus* estudiadas, conforme se ha observado en la Tabla 90. Los haplotipos obtenidos para la especie *P. megistus* han presentado las mayores longitudes del ITS-1, con 761 y 762 pb, mientras que para el ITS-2, la longitud más larga ha sido observada para el haplotipo P.meg-CH1A de *P. megistus*, con 600 pb. Para la región intergénica completa, se ha podido observar que la longitud más larga ha sido la del haplotipo “P.meg-CH1S” de la especie *P. megistus*, con una longitud de 1517 pb.
- La longitud del alineamiento entre todo los haplotipos obtenidos de la región intergénica completa ha sido de 1560 pb y ha proporcionado un total de 371 posiciones variables, de las cuales 292 han sido singletons y 78 han sido posiciones parsimónicamente informativas.
- Mediante el análisis comparativo de las distancias genéticas en base a la región intergénica completa de todos los haplotipos de las especies del género *Triatoma* obtenidos en el presente estudio, se ha podido observar que la mayor distancia genética ha sido observada para las especies *P. megistus* y *P. herreri*, con 263 diferencias nucleotídicas. Entre todos los haplotipos de la región intergénica completa de las especies del género *Panstrongylus* analizadas en el presente estudio, se ha verificado una media de 154 bases nucleotídicas diferentes.

3.2.2. Resultados obtenidos en el estudio del ADN mitocondrial (ADNmt)

En este apartado se detalla el análisis de las secuencias de los marcadores moleculares del ADN mitocondrial: 16S ARNr, ND1, CO1 y CytB. Se especificarán las longitudes y

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

composiciones nucleotídicas y aminoacídicas (para aquellos genes que las codifican) de cada haplotipo obtenido para cada especie analizada del género *Panstrongylus*.

Las comparaciones entre las secuencias obtenidas y las secuencias ya publicadas en la base de datos GenBank, se ha llevado a cabo mediante el programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) y se han utilizado hasta las 3 primeras secuencias publicadas que han presentado mayor homología para especie analizada.

Todos los haplotipos obtenidos en el estudio del ADN mitocondrial han sido nombrados según nomenclatura previamente establecida por Mas-Coma & Bargues (2009).

3.2.2.1. Análisis del gen 16S ARNr

A continuación se detalla el análisis del gen 16S ARNr de 15 especímenes de las especies y procedencias siguientes: 6 especímenes de *P. megistus* de los Estados de Bahia (4) y São Paulo (2); 2 especímenes de *P. geniculatus* de Bahia; 3 especímenes de *P. lutzi* de Bahia; y 4 especímenes de *P. herreri* de Pará.

Los análisis de las secuencias del gen 16S de los especímenes estudiados del género *Panstrongylus* han permitido obtener 5 haplotipos. La longitud media del fragmento analizado ha sido de 541 pares de base (pb) (valores entre 540 y 543 pb) y una composición media de A y T con valores entre 66,8 % y 69,6 % (media de 68,1 %).

Panstrongylus megistus

De un total de 6 muestras de *P. megistus* procedentes de los Estados de Bahia y São Paulo, se han obtenido 6 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos del gen 16S de esta especie:

- Haplotipo P.meg-16Sa: correspondiente a 4 muestras procedentes de la localidad de Seabra/Bahia, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 69,6 %.
- Haplotipo P.meg-16Sb: correspondiente a 2 muestras procedentes de la localidad de Juquiá/São Paulo, con una longitud de 542 pb y una composición en AT de 69,4 %.

Se han comparado estos haplotipos de *P. megistus* obtenidos con los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología (KC248972, con una longitud de 543 pb y procedente de Tres Pasos/Rio Grande do Sul; KC248975, con una longitud de 530 pb y procedente de Pitangui/Minas Gerais; y AF021177, con una longitud 506 pb y sin información disponibles de la procedencia) y se han observado un total de 8 mutaciones (2 transversiones y 6 transiciones). Entre los 2 haplotipos del gen 16S de *P. megistus* obtenidos en este estudio se ha observado 1 mutación transicional (véase Tabla 91).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

Haplotipos	Posiciones variables
	12234445 40771483 21775728
P.meg-16Sa_Seabra*	TCATG3CC
P.meg-16Sb_Juquiá*	..G.....
KC248975_Panstrongylus_megistus_isolate_183_16S	C..C...-
KC248972_Panstrongylus_megistus_isolate_130_16S	.T..ACTG
AF021177_Panstrongylus_megistus_isolate_1_16S-

Tabla 91. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de *P. megistus* obtenidos y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Panstrongylus geniculatus

Se han analizado 2 muestras de *P. geniculatus* procedentes de Seabra/Bahia y se han obtenido 2 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo del gen 16S de esta especie: Haplotipo P.gen-16Sa, con una longitud de 543 pb y una composición en AT de 67,7 %.

Este haplotipo de *P. geniculatus* obtenido ha sido comparado con los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie depositados en GenBank (JQ897822, con una longitud de 531 pb y procedente de Costa Rica; y AF394593, con una longitud de 508 pb y sin información disponible de la procedencia) y se han observado un total de 23 posiciones variables (1 deleción, 4 mutaciones transversionales y 18 mutaciones transicionales) (véase Tabla 92).

Haplotipos	Posiciones variables
	122222 2222223333 344 1357614456 7778880014 537 7861153863 0371344849 240
P.gen-16Sa_Seabra*	TGGTA-AGGT TATGGATAATC TGG
JQ897822_Panstrongylus_geniculatus_strain_00052167_16S	AT.A.-G... ..CA.GGGAT CAA
AF394593_Panstrongylus_geniculatus_16S	.TA.GG.AAC CG..A...A. ..A

Tabla 92. Posiciones variables halladas entre el haplotipo del gen 16S de *P. geniculatus* obtenido y los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Panstrongylus lutzi

Se han analizado un total de 3 muestras de *P. lutzi* procedentes de Curaçá/Bahia y se han obtenido 3 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo del gen 16S de esta especie: Haplotipo P.lut-16Sa, con una longitud de 540 pb y una composición en AT de 67,0 %.

Se ha comparado este haplotipo de *P. lutzi* obtenido con los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank (KC248969, con una longitud de 506 pb y procedente de Santa Quitéria/Ceará; y AY035449, con una longitud de 505 pb y sin información disponible de la procedencia) y se han observado un total de 18 mutaciones (1 transversión y 17 transiciones) (véase Tabla 93).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

Haplotipos	Posiciones variables
	1111222 23334445 1333449346 71260380 9670459447 01736017
<i>P.lut-16Sa_Curaçá*</i> KC248969_Panstrongylus_lutzi_isolate_202_16S AY035449_Panstrongylus_lutzi_16S	AGATAGAGATC GATTCATG AAGCGA.AC. .GACTG.- GAG.GGAGAT A.A.TCCA

Tabla 93. Posiciones variables halladas entre el haplotipo del gen 16S de *P. lutzi* obtenido y los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Panstrongylus herreri

De un total de 4 muestras de *P. herreri* procedentes de Belém/Pará se han obtenido 4 secuencias iguales entre sí, que han sido analizadas y han proporcionado 1 único haplotipo del gen 16S de esta especie: Haplotipo P.her-16Sa, con una longitud de 540 pb y una composición en AT de 67,9 %.

Este haplotipo de *P. herreri* obtenido ha sido comparado con los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie depositados en GenBank (AY185833, con una longitud de 506 pb; AY035452, con 505 pb; y AF028742, con una longitud de 208 pb; todos sin información disponible de la procedencia) y se ha observado que el haplotipo de *P. herreri* obtenido en el presente trabajo ha presentado un fragmento de 506 pb idéntico al haplotipo “*Panstrongylus herreri* 16S partial sequence” publicado en GenBank (AY185833) (véase Tabla 94).

Haplotipos	Posiciones variables
	4 1118 1243
<i>P.her-16Sa Belém*</i> AY185833_Panstrongylus_herreri_16S_partial_sequence AY035452_Panstrongylus_herreri_16S AF028742_Panstrongylus_herreri_16S	TCTT GTCC ----

Tabla 94. Posiciones variables halladas entre el haplotipo del gen 16S de *P. herreri* obtenido y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

A continuación se detallan (Tabla 95) las respectivas longitudes en pares de base, así como los porcentajes de AT y la procedencia geográfica de los diferentes haplotipos del gen 16S de las especie del género *Panstrongylus* obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo</i>	<i>16S</i> (pb)	<i>AT</i> (%)	<i>Procedencia</i> <i>geográfica</i>
<i>P. megistus</i>	P.meg-16Sa	542	69,6	Seabra/Bahia
	P.meg-16Sb	542	69,4	Juquiá/São Paulo
<i>P. geniculatus</i>	P.gen-16Sa	543	67,7	Seabra/Bahia
<i>P. lutzi</i>	P.lut-16Sa	540	67,9	Curaçá/Bahia
<i>P. herreri</i>	P.her-16Sa	540	66,8	Belém/Pará

Tabla 95. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de todos los haplotipos del gen 16S de las especies del género *Panstrongylus* obtenidos en la presente Tesis.

Evaluación del gen 16S en las especies estudiadas del género *Panstrongylus*

Se ha procedido a un análisis conjunto de todos los haplotipos del gen 16S descritos para todas las especies del género *Panstrongylus* estudiadas en la presente Tesis:

- Se han descrito un total de 6 haplotipos diferentes para el gen 16S de todas las especies del género *Panstrongylus* estudiadas, conforme se ha observado en la Tabla 95. El haplotipo obtenido para la especie *P. geniculatus*, ha presentado la mayor longitud del gen 16S, con 543 pb. Las especies *P. lutzi* y *P. herreri* han presentado los haplotipos con la longitud más corta entre todos los haplotipos de este gen obtenidos en el presente estudio, con 540 pb.
- La longitud del alineamiento de todos los haplotipos obtenidos del gen 16S ha sido de 543 pb y ha proporcionado un total de 75 posiciones variables, de las cuales 38 han sido singletons y 37 han sido posiciones parsimónicamente informativas.
- En el análisis de las distancias genéticas entre todos los haplotipos del gen 16S de las especies del género *Panstrongylus* obtenidos en el presente estudio, se ha observado que la mayor distancia genética se encuentra entre las especies *P. megistus* y *P. geniculatus*, con un valor de 50 diferencias nucleotídicas. Entre todos los haplotipos del gen 16S de las especies de este género obtenidos en el presente estudio, se ha verificado una media de 39 diferencias nucleotídicas.

3.2.2.2. Análisis de la subunidad I del gen NADH Deshidrogenasa (ND1)

En este apartado se han analizado las secuencias del gen ND1 completo de 15 especímenes de las siguientes especies: 6 especímenes de *P. megistus* de los Estados de Bahia (4) y São Paulo (2); 2 especímenes de *P. geniculatus* de Bahia; 3 especímenes de *P. lutzi* de Bahia; y 4 especímenes de *P. herreri* de Pará.

Los análisis del gen ND1 de todos los especímenes estudiados de este género han permitido obtener 4 haplotipos nucleotídicos y 4 haplotipos aminoácidos diferentes. Todas las secuencias obtenidas, correspondientes al gen ND1 completo, han presentado una longitud de 924 pares de bases, que codificaron para 307 aminoácidos.

En cuanto a la composición nucleotídica de las secuencias, se ha observado un elevado contenido en pares AT, con un 72,3 % de media (valores entre 70,4 % y 74,9 %).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

Panstrongylus megistus

Secuencias nucleotídicas

De un total de 6 muestras de *P. megistus* se han obtenido 6 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos del gen ND1 completo de esta especie:

- Haplotipo P.meg-ND1a: correspondiente a 4 muestras procedentes de la localidad de Seabra/Bahia, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 74,9 %.
- Haplotipo P.meg-ND1b: correspondiente a 2 muestras procedentes de la localidad de Juquiá/São Paulo, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 74,6 %.

Se han comparado estos haplotipos de *P. megistus* obtenidos entre ellos y se han observado 19 mutaciones (4 transversiones y 15 transiciones) (véase Tabla 96).

Haplotipos	Posiciones variables
	11223455 666777889 1905249508 013399111 6080269442 980312065
P.meg-ND1a_Seabra	AAATCAAAA TAACTCCAG
P.meg-ND1b_Juquiá	GGTCTGGTGG AGTTCCTGA

Tabla 96. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de *P. megistus* obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína ND1 de *P. megistus* obtenidas han presentado una longitud de 307 aminoácidos, con una mayor abundancia de Fenilalanina (14,2 %) seguido de Leucina (13,7 %). El codón de inicio ha sido GTA y el de parada TAG. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína ND1 de esta especie: P.meg-ND1A, correspondiente a las muestras de Seabra/Bahia; y P.meg-ND1B, correspondiente a las muestras de Juquiá/São Paulo.

Se han comparado estos 2 haplotipos aminoacídicos de *P. megistus* y se han podido observar 6 posiciones variables (véase Tabla 97).

Haplotipos	Posiciones variables
	1123 85660 622845
P.meg-ND1A_Seabra	IIITVM
P.meg-ND1B_Juquiá	VMIMAI

Tabla 97. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína ND1 de *P. megistus* obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

Panstrongylus geniculatus

Secuencias nucleotídicas

Se han analizado 2 muestras de *P. geniculatus* de Seabra/Bahia y se han obtenido 2 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie: Haplotipo P.gen-ND1a, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 71,1 %.

Este haplotipo nucleotídico de *P. geniculatus* obtenido ha sido comparado con el haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie publicado en GenBank (AM980628, procedente de Ecuador) y se han observado 40 posiciones variables (6 mutaciones transversionales y 34 mutaciones transicionales) (véase Tabla 98).

Haplotipos	Posiciones variables
	11122 3445555555 5566666666 7777888999
	146703816 6670122222 4800012333 2579178011
	5656388931 9877601289 9537881123 9912698634
P.gen-ND1a_Seabra*	TGTATGTCTA AGTAAACCCG GTTGCAGTCA ATGGGATAT
AM980628_Panstrongylus_geniculatus_ndl	CAAGCACTCG GACGGGTATA CCAAGCACAG GCAAGGGCC

Tabla 98. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de *P. geniculatus* obtenido y el haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie publicado en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína ND1 de *P. geniculatus* obtenidas han presentado una longitud de 307 aminoácidos, con una mayor abundancia de Fenilalanina (14,7 %) seguido de Leucina (13,4 %). El codón de inicio ha sido GTA y el de parada TAG. Estas secuencias aminoacídicas han sido analizadas y han proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína ND1 de esta especie: P.gen-ND1A, correspondiente a las 2 muestras de Seabra/Bahia.

Este haplotipo aminoacídico de *P. geniculatus* obtenido ha sido comparado con el haplotipo aminoacídico de la proteína ND1 depositado en GenBank (AM980628, procedente de Ecuador) y se han observado 10 diferencias aminoacídicas (véase Tabla 99).

Haplotipos	Posiciones variables
	11122223
	77800140
	2647313135
P.gen-ND1A_Seabra*	VIVILDASII
AM980628_Panstrongylus_geniculatus_ndl	AIVIFENQMA

Tabla 99. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de *P. geniculatus* obtenido y el haplotipo de la proteína ND1 de esta especie publicado en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

Panstrongylus lutzii

No ha sido posible obtener la secuencia del gen ND1 de esta especie mediante la amplificación por PCR en todos los especímenes analizados, probablemente a consecuencia de una fragmentación del ADN en las muestras obtenidas.

Panstrongylus herreri

Secuencias nucleotídicas

Se han analizado un total de 4 muestras de *P. herreri* procedentes de Belém/Pará y se han obtenido 4 secuencias. Estas secuencias han sido iguales entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie: P.her-ND1a, con una longitud de 924 pb y una composición en AT de 70,4 %.

Se ha comparado este haplotipo nucleotídico de *P. herreri* obtenido con el haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie depositado en GenBank (AM980627, procedente de Ecuador) y se ha observado que estos 2 haplotipos nucleotídicos han sido idénticos.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína ND1 de *P. herreri* obtenidas han presentado una longitud de 307 aminoácidos, con una mayor abundancia de Fenilalanina (14,5 %) seguido de Leucina (14,1 %). El codón de inicio ha sido GTA y el de parada TAG.

Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína ND1 de esta especie: P.her-ND1A, correspondiente a las 4 muestras de Belém/Pará. Este haplotipo aminoacídico de *P. herreri* obtenido ha sido comparado con el haplotipo aminoacídico de la proteína ND1 de esta especie publicado en GenBank (CAQ37678, procedente de Ecuador) y se ha observado que estos 2 haplotipos aminoacídicos comparados han sido idénticos.

A continuación se detallan (Tabla 100) las longitudes en pares de bases, los codones de inicio y fin y la procedencia geográfica de cada haplotipo nucleotídico del gen ND1 de las especies del género *Panstrongylus* obtenidos en la presente Tesis.

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo nucleotídico</i>	<i>ND1 (pb)</i>	<i>AT (%)</i>	<i>Codones (inicio/fin)</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>P. megistus</i>	P.meg-ND1a	924	74,9	GTA/TAG	Seabra/Bahia
	P.meg-ND1b	924	74,6	GTA/TAG	Juquiá/São Paulo
<i>P. geniculatus</i>	P.gen-ND1a	924	71,1	GTA/TAG	Seabra/Bahia
<i>P. herreri</i>	P.her-ND1a	924	70,4	GTA/TAG	Belém/Pará

Tabla 100. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas, codones de inicio y parada y procedencia geográfica de todos los haplotipos del gen ND1 de las especies estudiadas del género *Panstrongylus* obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

A continuación se detalla (Tabla 101) el número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 de las especies del género *Panstrongylus* obtenidos en la presente Tesis.

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo aminoacídico</i>	<i>Nº aa</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>P. megistus</i>	P.meg-ND1A	307	Seabra/Bahia
	P.meg-ND1B	307	Juquiá/São Paulo
<i>P. geniculatus</i>	P.gen-ND1A	307	Seabra/Bahia
<i>P. herreri</i>	P.her-ND1A	307	Belém/Pará

Tabla 101. Número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 de las especies del género *Panstrongylus* obtenidos en la presente Tesis.

Evaluación del gen ND1 en las especies estudiadas del género *Panstrongylus*

Se ha procedido a un análisis conjunto de todos los haplotipos del gen ND1 completo descritos para todas las especies del género *Panstrongylus* estudiadas en la presente Tesis:

- Se han descrito un total de 4 haplotipos diferentes para el gen ND1 completo de todas las especies del género *Panstrongylus* estudiadas, conforme se ha observado en la Tabla 100. Todos los haplotipos obtenidos han presentado una longitud del gen ND1 completo de 924 pb.
- La longitud del alineamiento de todos los haplotipos obtenidos del gen ND1 ha sido de 924 pb y ha proporcionado un total de 178 posiciones variables, de las cuales 127 han sido singletons y 51 han sido posiciones parsimónicamente informativas.
- En el análisis de las distancias genéticas entre todos los haplotipos del gen ND1 de las especies del género *Panstrongylus* obtenidos en el presente estudio, se ha observado que la mayor distancia genética se encuentra entre las especies *P. megistus* y *P. herreri*, con un total de 121 diferencias nucleotídicas. Entre todos los haplotipos del gen ND1 de las especies de este género obtenidos en el presente estudio, se ha verificado una media de 104 bases nucleotídicas diferentes.

3.2.2.3. Análisis de la subunidad I del gen Citocromo Oxidasa (CO1)

Los análisis del gen CO1 de los 15 especímenes estudiados del género *Panstrongylus* (Tabla 5), han permitido obtener 3 haplotipos nucleotídicos y 3 haplotipos aminoacídicos.

La longitud de las secuencias nucleotídicas del gen CO1 obtenidas en el presente trabajo ha presentado una media de 669 pares de bases (pb) (valores entre 651 y 705 pb) y una composición de AT con valores entre 61,1 % y 63,0 % (media de 62,3 %). Estas secuencias nucleotídicas han proporcionado proteínas codificadas por el gen CO1 con una media de 223 aminoácidos (valores entre 217 y 235 aminoácidos).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

Panstrongylus megistus

Secuencias nucleotídicas

De un total de 6 muestras de *P. megistus* procedentes de los Estados de Bahia y São Paulo, se han obtenido 6 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie:

- Haplotipo P.meg-CO1a: correspondiente a 4 muestras procedentes de la localidad de Seabra/Bahia, con una longitud de 651 pb y una composición en AT de 63,0 %.
- Haplotipo P.meg-CO1b: correspondiente a 2 muestras procedentes de la localidad de Juquiá/São Paulo, con una longitud de 651 pb y una composición en AT de 62,8 %.

Se han comparado estos 2 haplotipos nucleotídicos de *P. megistus* obtenidos con los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie depositados en GenBank que han presentado mayor homología (AF021179, con una longitud de 1447 pb y sin información disponible de la procedencia; KC249308, con una longitud de 560 pb y procedente de Nova Prata/Rio Grande do Sul; y KC249312, con 537 pb y procedente de Pitangui/Minas Gerais) y se han observado un total de 33 posiciones variables (6 mutaciones transversales y 27 mutaciones transicionales). Entre los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie obtenidos en el presente trabajo, se han observado 10 mutaciones (2 transversiones y 8 transiciones) (véase Tabla 102).

Haplotipos	Posiciones variables
	1111111222 2222334444 4444555556 666 3445789355 6899114445 6667001361 344 0237870909 0958692564 0393581224 736
P.meg-CO1a_Seabra*	CGGATTATGG GGAOCTTGG CTTTTCCTCT TAC
P.meg-CO1b_Juquiá*G... TAG.....A. ACC.C.A. ...
AF021179_Panstrongylus_megistus_isolate_1_CO1	..AT...TA ...T.C.A. ACC.A.TA.. C.T
KC249308_Panstrongylus_megistus_isolate_128_CO1	.TATCG..A .A.T...AAA A..OCT.ATC .T-
KC249312_Panstrongylus_megistus_isolate_183_CO1	T.ATC.GCTA .AG.TC..A. ACC.C.A.- ---

Tabla 102. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de *P. megistus* obtenidos y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicado en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CO1 de *P. megistus* obtenidas han presentado una longitud de 217 aminoácidos, con una mayor abundancia de Serina (14,0 %) seguido de Asparagina (10,9 %).

Estas secuencias aminoacídicas han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie: P.meg-CO1A, correspondiente a las 4 muestras de Seabra/Bahia; y P.meg-CO1B, correspondiente a las 2 muestras de Juquiá/São Paulo.

Estos 2 haplotipos aminoacídicos de *P. megistus* obtenidos han sido comparados con los 3 haplotipos aminoacídicos de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología AF021179, con una longitud de 482 aminoácidos y sin información disponible de la procedencia; KC249308, con 186 aminoácidos, de Nova Prata/Rio Grande do Sul; y KC249312, con 179 aminoácidos y procedente de

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

Pitangui/Minas Gerais) y se han hallado un total de 28 posiciones variables. Entre los 2 haplotipos aminoacídicos de *P. megistus* obtenidos en el presente trabajo se han observado 9 posiciones variables (véase Tabla 103).

Haplotipos	Posiciones variables
	111111111 11111222
	4456668889 9000445555 67778011
	4830340477 9067892578 90188536
<i>P.meg</i> -CO1A Seabra*	HRIFWSFLAG NRESSRASSI SPFCFFFP
<i>P.meg</i> -CO1B Juquiá*G..VS D....H.PP. P..S....
AF021179 <i>Panstrongylus megistus</i> isolate_1_CO1	.HF...FT. ..S.EH.PP. T.SS..LS
KC249308 <i>Panstrongylus megistus</i> isolate_128_CO1	.YFLRG..TS .W...NT..T PS.SSS.-
KC249312 <i>Panstrongylus megistus</i> isolate_183_CO1	YHFL.GSFTS D.SP.H.PP. P..S.---

Tabla 103. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de *P. megistus* obtenidos y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Panstrongylus geniculatus

No ha sido posible obtener la secuencia del gen CO1 de esta especie mediante la amplificación por PCR en todos los especímenes analizados, probablemente a consecuencia de una fragmentación del ADN en las muestras obtenidas.

Panstrongylus lutzi

Al igual que la anterior especie, no ha sido posible obtener la secuencia del gen CO1 de esta especie mediante la amplificación por PCR en todos los especímenes analizados, probablemente a consecuencia de una fragmentación del ADN en las muestras obtenidas.

Panstrongylus herreri

Secuencias nucleotídicas

De un total de 4 muestras de *P. herreri* procedentes de Belém/Pará se han obtenido 4 secuencias iguales entre sí, que han sido analizadas y han proporcionado 1 único haplotipo del gen CO1 de esta especie: Haplotipo P.her-CO1a, con una longitud de 705 pb y una composición en AT de 61,1 %.

Este haplotipo nucleotídico de *P. herreri* obtenido ha sido comparado con el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de esta especie publicado en GenBank (AF449141, con una longitud de 1431 pb y sin información disponible de la procedencia) y se han hallado 3 mutaciones en el fragmento de 705 pb comparados (1 transición y 2 transversiones) (véase Tabla 104).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

Haplotipos	Posiciones variables
	666
	899
	928
P.her-CO1a_Belém*	TTT
AF449141_Panstrongylus_herrerii_CO1	CGG

Tabla 104. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CO1 de *P. herrerii* obtenido y el haplotipo del gen CO1 de esta especie publicado en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CO1 de *P. herrerii* obtenidas han presentado una longitud de 235 aminoácidos, con una mayor abundancia de Leucina (18,6 %) seguido de Fenilalanina (9,0 %).

Estas secuencias aminoacídicas han proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína CO1 de esta especie: P.her-CO1A, correspondiente a las muestras de Belém/Pará. Este haplotipo aminoacídico de *P. herrerii* obtenido ha sido comparado con el haplotipo aminoacídico de la proteína CO1 de esta especie publicado en GenBank (AF449141, con una longitud de 477 aminoácidos) y se han observado 3 posiciones variables (véase Tabla 105).

Haplotipos	Posiciones variables
	222
	333
	013
P.her-CO1A_Belém*	LVL
AF449141_Panstrongylus_herrerii_CO1	SGR

Tabla 105. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CO1 de *P. herrerii* obtenido y el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicado en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

A continuación se detallan (Tabla 106) las respectivas longitudes en pares de bases, los porcentajes de AT y la procedencia geográfica de los diferentes haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de las especies del género *Panstrongylus* obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo nucleotídico</i>	<i>CO1 (pb)</i>	<i>AT (%)</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>P. megistus</i>	P.meg-CO1a	651	63,0	Seabra/Bahia
	P.meg-CO1b	651	62,8	Juquiá/São Paulo
<i>P.herrerri</i>	P.her-CO1a	705	61,1	Belém/Pará

Tabla 106. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de todos los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de las especies del género *Panstrongylus* obtenidos en la presente Tesis.

A continuación se detallan (Tabla 107) el número de aminoácidos (N° aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de las especies del género *Panstrongylus* obtenidos en la presente Tesis.

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo aminoacídico</i>	<i>N° aa</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>P. megistus</i>	P.meg-CO1A	217	Seabra/Bahia
	P.meg-CO1B	217	Juquiá/São Paulo
<i>P.herrerri</i>	P.her-CO1A	235	Belém/Pará

Tabla 107. Número de aminoácidos (N° aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de las especies del género *Panstrongylus* obtenidos en la presente Tesis.

Evaluación del gen CO1 en las especies estudiadas del género *Panstrongylus*

Se ha procedido a un análisis conjunto de todos los haplotipos del gen CO1 descritos para todas las especies del género *Panstrongylus* estudiadas en la presente Tesis:

- Se han descrito un total de 3 haplotipos nucleotídicos diferentes para el gen CO1 de todas las especies del género *Panstrongylus* estudiadas, conforme se ha observado en la Tabla 106.
- El haplotipo del gen CO1 obtenido para la especie *P. herrerri* ha presentado la mayor longitud con 705 pb. La especie *P. megistus* ha presentado el haplotipo con la longitud más corta, 651 pb.
- La longitud del alineamiento de todos los haplotipos obtenidos del gen CO1 ha sido de 705 pb y ha proporcionado un total de 105 posiciones variables, de las cuales todas han sido singletons.
- En el análisis de las diferencias par a par entre los 3 haplotipos del gen CO1 de las especies *P. megistus* y *P. herrerri* obtenidos en el presente estudio, se ha observado que la distancia genética entre estas 2 especies presenta un valor de 103 diferencias nucleotídicas. Entre todos los haplotipos analizados se ha verificado una media de 71 bases nucleotídicas diferentes.

3.2.2.4. Análisis del gen Citocromo B (CytB)

En este apartado se han analizado las secuencias del gen mitocondrial CytB de 15 especímenes de diferentes especies del género *Panstrongylus* procedentes de 3 Estados brasileños (Tabla 5).

Los análisis del gen CytB de todos los especímenes estudiados de este género han permitido obtener 3 haplotipos nucleotídicos y 3 haplotipos aminoácídicos diferentes.

La longitud de las secuencias nucleotídicas del gen CytB de las especies del género *Panstrongylus* obtenidas en el presente trabajo, ha presentado una media de 780 pares de base (pb) (valores entre 777 y 782 pb) y una composición de AT con valores entre 64,6 % y 68,4 % (media de 67,1 %). Estas secuencias nucleotídicas han proporcionado proteínas codificadas por el gen CytB con una media de 259 aminoácidos (valores entre 258 y 260 aminoácidos).

Panstrongylus megistus

Secuencias nucleotídicas

Se han analizado un total de 6 muestras de *P. megistus* procedentes de los Estados de Bahía y São Paulo y se han obtenido 6 secuencias. Estas secuencias han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie:

- Haplotipo P.meg-CytBa: correspondiente a 4 muestras procedentes de la localidad de Seabra/Bahia, con una longitud de 781 pb y una composición en AT de 68,3 %.
- Haplotipo P.meg-CytBb: correspondiente a 2 muestras procedentes de la localidad de Juquiá/São Paulo, con una longitud de 782 pb y una composición en AT de 68,4 %.

Estos 2 haplotipos nucleotídicos de *P. megistus* obtenidos han sido comparados con los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie depositados en GenBank que han presentado mayor homología (KC249230, con una longitud de 561 pb y procedente de Tres Pasos/Rio Grande do Sul; KC249231, con 559 pb, de Salvador do Sul/Rio Grande do Sul; y KC249232, con 512 pb y procedente de Pitangui/Minas Gerais) y se han observado un total de 36 posiciones variables (2 mutaciones transversionales y 34 mutaciones transicionales). Entre los 2 haplotipos nucleotídicos de *P. megistus* obtenidos en el presente trabajo se han observado 22 mutaciones transicionales (véase Tabla 108).

Haplotipos	Posiciones variables
	111222 2223344444 4455555556 666777 4568399357 8887711344 6900145583 577134 8420747378 1584738446 7236587829 917941
P.meg-CytBa_Seabra*	GTCTTTAOCG OCOOGTTGTA OGGTCCATGC TCTAAT
P.meg-CytBb_Juquiá*	...C.GTTA ...AC...G TACTT..AT CTGCGC
KC249230_Panstrongylus_megistus_isolate_130_CytB	...C..... ..A...G T.AC.TGC-- -----
KC249231_Panstrongylus_megistus_isolate_131_CytB	A.T.CG.TTA TTTTA..A.G T.AC.T.C-- -----
KC249232_Panstrongylus_megistus_isolate_183_CytB	-C.C.....A T....CC.C. ...C.TGC-- -----

Tabla 108. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de *P. megistus* obtenidos y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CytB de *P. megistus* obtenidas han presentado una longitud de 260 aminoácidos, con una mayor abundancia de Leucina (17,7 %) seguido de Fenilalanina (11,0 %).

Estas secuencias aminoacídicas han proporcionado 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie: P.meg-CytBA, correspondiente a las muestras de Seabra/Bahia; y P.meg-CytBB, de las muestras de Juquiá/São Paulo. Estos haplotipos aminoacídicos de *P. megistus* obtenidos han sido comparados con los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología (KC249230, con una longitud de 186 aminoácidos y procedente de de Tres Pasos/Rio Grande do Sul; KC249231, con 186 aminoácidos, de Salvador do Sul/Rio Grande do Sul; y KC249232, con 170 aminoácidos y procedente de Pitangui/Minas Gerais) y se han observado un total de 24 posiciones variables (véase Tabla 109).

Haplotipos	Posiciones variables
	11 1111111112 2222 2246678922 3445667882 2244 1765686456 8056892360 4605
P.meg-CytBA Seabra*	SFLVDSSSSR LYSSSLTSTI SLDH
P.meg-CytBB Juquiá*	..P.GLL..K S..FNPIF.T FPR
KC249230 <i>Panstrongylus megistus</i> isolate_130_CytB	..P.....K ...FNP.FS- ----
KC249231 <i>Panstrongylus megistus</i> isolate_131_CytB	L.PG.LLFLK ..NFP.F.- ----
KC249232 <i>Panstrongylus megistus</i> isolate_183_CytB	.S.....F.. SH...P.FS- ----

Tabla 109. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos obtenidos de la proteína codificada por el gen CytB de *P. megistus* y las 3 secuencias publicadas en GenBank de esta especie que han presentado mayor homología. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Panstrongylus geniculatus

No ha sido posible obtener la secuencia del gen CytB de esta especie mediante la amplificación por PCR en todos los especímenes analizados, probablemente a consecuencia de una fragmentación del ADN en las muestras obtenidas.

Panstrongylus lutzi

Al igual que la especie anterior, no ha sido posible obtener la secuencia del gen CytB de *P. lutzi* mediante la amplificación por PCR en todos los especímenes analizados, probablemente a consecuencia de una fragmentación del ADN en las muestras obtenidas.

Panstrongylus herreri

Secuencias nucleotídicas

De un total de 4 muestras de *P. herreri* procedentes de Belém/Pará, se han obtenido 4 secuencias iguales entre sí. Estas secuencias han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen CytB de esta especie: Haplotipo P.her-CytBa, con una longitud de 777 pb y una composición en AT de 64,6 %.

Se ha comparado este haplotipo de *P. herreri* obtenido con el haplotipo nucleotídico del gen CytB de *P. lignarius* (especie sinónima) publicado en GenBank (KX109902, con

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

una longitud de 423 pb y sin información disponible de la procedencia) y se han observado 10 posiciones variables (3 mutaciones transicionales y 7 mutaciones transversionales) (véase Tabla 110).

Haplotipos	Posiciones variables
	1111
	9999990006
	3456890141
P.her-CytBa_Belém*	CCTCCCGCTG
KX109902_Panstrongylus_lignarius_cytochrome_b	GAATGGAGAA

Tabla 110. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CytB de *P. herreri* obtenido y el haplotipo nucleotídico del gen CytB de *P. lignarius* publicado en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CytB de *P. herreri* obtenidas han presentado una longitud de 258 aminoácidos, con una mayor abundancia de Leucina (17,3 %) seguido de Isoleucina (14,4 %).

Estas secuencias aminoacídicas han proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína CytB de esta especie: Haplotipo P.her-CytBA, de las muestras procedentes de Belém/Pará. Este haplotipo aminoacídico de *P. herreri* obtenido ha sido comparado con el haplotipo aminoacídico de *P. lignarius* publicado en GenBank (KX109902, con una longitud de 141 aminoácidos, correspondiente al haplotipo nucleotídico anteriormente comparado) y se han observado 5 posiciones variables (véase Tabla 111).

Haplotipos	Posiciones variables
	33335
	23454
P.her-CytBA_Belém*	LSAIS
KX109902_Panstrongylus_lignarius_cytochrome_b	NWSNN

Tabla 111. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CytB de *P. herreri* y el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CytB de *P. lignarius* publicado en GenBank. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

A continuación se detallan (Tabla 112) las respectivas longitudes en pares de base, los porcentajes de AT y la procedencia geográfica de los diferentes haplotipos nucleotídicos del gen CytB de las especies del género *Panstrongylus* obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *PANSTRONGYLUS*

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo nucleotídico</i>	<i>CytB (pb)</i>	<i>AT (%)</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>P. megistus</i>	P.meg-CytBa	781	68,3	Seabra/Bahia
	P.meg-CytBb	782	68,4	Juquiá/São Paulo
<i>P.herrerri</i>	P.her-CytBa	777	64,6	Belém/Pará

Tabla 112. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de las especies del género *Panstrongylus* obtenidos en la presente Tesis.

A continuación se detalla (Tabla 113) el número de aminoácidos (N° aa) y la procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de las especies del género *Panstrongylus* obtenidos en la presente Tesis.

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo aminoacídico</i>	<i>N° aa</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>P. megistus</i>	P.meg-CytBA	260	Seabra/Bahia
	P.meg-CytBB	260	Juquiá/São Paulo
<i>P.herrerri</i>	P.her-CytBA	258	Belém/Pará

Tabla 113. Número de aminoácidos (N° aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de las especies del género *Panstrongylus* obtenidos en la presente Tesis.

Evaluación del gen CytB en las especies estudiadas del género *Panstrongylus*

Se ha procedido a un análisis conjunto de todos los haplotipos del gen CytB descritos para todas las especies del género *Panstrongylus* estudiadas en la presente Tesis:

- Se han descrito un total de 3 haplotipos nucleotídicos diferentes para el gen CytB de las especies del género *Panstrongylus* estudiadas, conforme se ha observado en la Tabla 112.
- La especie *P. megistus* ha presentado el haplotipo con la longitud más larga entre los 3 haplotipos de este gen obtenidos en el presente estudio, con un 782 pb.
- La longitud del alineamiento de todos los haplotipos obtenidos del gen CytB ha sido de 782 pb y ha proporcionado un total de 134 posiciones variables, todas han sido singletons.
- En el análisis de las diferencias par a par entre los 3 haplotipos del gen CytB de las especies *P. megistus* y *P. herrerri* obtenidos en el presente estudio, se ha observado que la distancia genética entre estas 2 especies presenta un valor de 129 diferencias nucleotídicas. Entre todos los 3 haplotipos analizados se ha verificado una media de 91 bases nucleotídicas diferentes.

3.3. ANÁLISIS DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *RHODNIUS*

3.3.1. Resultados obtenidos en el estudio del ADN ribosomal nuclear (ADNr)

En este apartado se detalla el análisis de las secuencias de los marcadores moleculares del ADN ribosomal nuclear, región intergénica completa (ITS-1 + 5.8S + ITS-2), de las especies estudiadas del género *Rhodnius* (Tabla 5).

Las comparaciones entre las secuencias obtenidas y las secuencias ya publicadas en la base de datos GenBank, se ha llevado a cabo mediante el programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) y se han utilizado hasta las 3 primeras secuencias publicadas que han presentado mayor homología para cada especie analizada.

Todos los haplotipos obtenidos en el estudio del ADN ribosomal nuclear han sido nombrados según nomenclatura previamente establecida por Mas-Coma & Bargues (2009).

3.3.1.1. Análisis de la región intergénica completa del ADNr (ITS-1 + 5.8S + ITS-2)

A continuación se detalla el análisis de 5 nuevos haplotipos de la región intergénica obtenidos de las especies y poblaciones siguientes: 5 especímenes de *R. neglectus* del Estado de Minas Gerais; 4 especímenes de *R. pictipes* de los Estados de Pará (2) y Tocantins (2); y 4 especímenes de *R. robustus* de Lima/Perú (2) y Venezuela (2).

Los análisis de la región intergénica de los especímenes estudiados de este género han permitido obtener haplotipos con una longitud media de 1086 pares de bases (pb) (entre 1056 y 1115 pb) y una composición de A y T con valores entre 74,2 % y 74,4 %, con una media de 74,3 %.

Rhodnius neglectus

De un total de 2 muestras de *R. neglectus* analizadas procedentes de Uberaba/Minas Gerais, se han obtenido 2 secuencias. Estas secuencias han sido iguales entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo del ITS-1 de esta especie: Haplotipo R.neg-HA, con una longitud de 178 pb y una composición en AT de 79,8 %.

Cabe resaltar que se ha obtenido por primera vez la secuencia del ITS-1 de esta especie de triatomino y que no ha sido posible obtener la secuencia del ITS-2 mediante amplificación por PCR de los especímenes de *R. neglectus* analizados en el presente trabajo.

Rhodnius robustus

Se han analizado un total de 4 especímenes de *R. robustus* procedentes de Lima/Perú y Venezuela y se han obtenido 4 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos de la región intergénica completa de esta especie:

- Haplotipo R.rob-CH1A: correspondiente a 2 muestras procedentes de Lima/Perú, con una longitud de 1048 pb y una composición en AT de 74,0 %.
- Haplotipo R.rob-CH2A: correspondiente a 2 muestras procedentes de Venezuela, con una longitud de 1047 pb y una composición en AT de 74,1 %.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *RHODNIUS*

Se han comparado estos 2 haplotipos de *R. robustus* obtenidos con el haplotipo del ITS-1 de esta especie publicado en GenBank (AM949587, con 180 pb y procedente de Venezuela) y se ha observado: (i) que el ITS-1 de los 2 haplotipos obtenidos en el presente trabajo han sido idénticos; (ii) que estos haplotipos obtenidos han presentado 1 mutación en el ITS-1 (transversión) con relación al haplotipo publicado; y (iii) 4 mutaciones en el ITS-2 (1 transversión y 3 transiciones) entre los 2 haplotipos obtenidos (véase Tabla 114).

Haplotipos	Posiciones variables	
	ITS-1	ITS-2
	1	3445
	5	7049
	5	5803
<i>R.rob-CH1A_Lima*</i>	T	GTCA
<i>R.rob-CH2A_Venezuela*</i>	.	ACTC
AM949587_ <i>Rhodnius_robustus</i> _ITS1	G	----

Tabla 114. Posiciones variables halladas entre los haplotipos de la región intergénica completa de *R. robustus* obtenidos y el haplotipo del ITS-1 de esta especie publicado en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Rhodnius pictipes

De un total de 4 especímenes de *R. pictipes* procedentes de 2 Estados brasileños se han obtenido 4 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos de la región intergénica completa de esta especie:

- Haplotipo *R.pic-CH1A*: correspondiente a 2 muestras procedentes de Belém/Pará, con una longitud de 1116 pb y una composición en AT de 74,2 %.
- Haplotipo *R.pic-CH2B*: correspondiente a 2 muestras procedentes de Tocantinópolis/Tocantins, con una longitud de 1115 pb y una composición en AT de 74,3 %.

Se han comparado estos haplotipos de *R. pictipes* obtenidos con el haplotipo del ITS-2 de esta especie publicado en GenBank (FJ887796, con una longitud de 725 pb y procedente de Abaetetuba/Pará) y se han observado 3 mutaciones en el ITS-1 (delecciones) y 6 mutaciones (1 delección y 5 transiciones) en el ITS-2 (véase Tabla 115).

Haplotipos	Posiciones variables	
	ITS-1	ITS-2
		1111
	111	460111
	449	039000
	014	945567
<i>R.pic-CH1A_Belém*</i>	AA-	-AAAAA
<i>R.pic-CH1B_Tocantinópolis*</i>	--T	-.....
FJ887796_ <i>Rhodnius_pictipes</i> _ITS2	---	CGGGGG

Tabla 115. Posiciones variables halladas entre los haplotipos obtenidos de la región intergénica completa de *R. pictipes* y las secuencia del ITS-2 de esta especie publicada en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *RHODNIUS*

Cabe resaltar que la secuencia del ITS-1 de esta especie ha sido obtenida por primera vez en el presente trabajo.

A continuación se detallan (Tabla 116) las respectivas longitudes en pares de base de cada espaciador interno transcrito (ITS-1 e ITS-2) y de la región intergénica completa, así como los porcentajes de AT y la procedencia geográfica de los diferentes haplotipos de la región intergénica de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en la presente Tesis.

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo</i>	<i>ITS1</i> (pb)	<i>ITS2</i> (pb)	<i>Región</i> <i>intergénica</i> <i>completa</i> (pb)	<i>AT</i> (%)	<i>Procedencia</i> <i>geográfica</i>
<i>R. neglectus</i>	R.neg-HA	178	-	-	-	Uberaba/Minas Gerais
<i>R. robustus</i>	R.rob-CH1A	180	721	1056	74,4	Lima/Perú
	R.rob-CH2A	180	721	1056	74,4	Venezuela
<i>R. pictipes</i>	R.pic-CH1A	237	724	1116	74,2	Belém/Pará
	R.pic-CH2B	236	724	1115	74,3	Tocantinópolis/Tocantins

Tabla 116. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de los haplotipos de la región intergénica completa de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en la presente Tesis.

Evaluación de la región intergénica completa en las especies estudiadas del género *Rhodnius*

Se ha procedido a un análisis conjunto de todos los haplotipos descritos para todas las especies del género *Rhodnius* estudiadas en la presente Tesis:

- Se han descrito un total de 4 haplotipos diferentes de la región intergénica completa y 1 haplotipo del ITS-1 para todas las especies del género *Rhodnius* estudiadas, conforme se ha observado en la Tabla 116. Los haplotipos obtenidos para la especie *R. pictipes* han presentado las mayores longitudes del ITS-1, con 236 y 237 pb, y del ITS-2, con 724 pb. Para la región intergénica completa, se ha podido observar que la longitud más larga ha sido la del haplotipo “R.pic-CH1A” de la especie *R. pictipes*, con una longitud de 1116 pb.
- La longitud del alineamiento de todos los haplotipos obtenidos de la región intergénica completa ha sido de 1221 pb y ha proporcionado un total de 196 posiciones variables, de las cuales 11 han sido singletons y 183 han sido posiciones parsimónicamente informativas.
- Mediante el análisis comparativo de las distancias genéticas en base a la región intergénica completa de los haplotipos de las especies *R. robustus* y *R. pictipes* obtenidos en el presente estudio, se ha podido observar que entre estas especies hay 187 diferencias nucleotídicas. Entre todos los haplotipos de la región intergénica completa de las especies de este género analizadas en el presente estudio, se ha verificado una media de 125 diferencias nucleotídicas.

3.3.2. Resultados obtenidos en el estudio del ADN mitocondrial (ADNmt)

En este apartado se detalla el análisis de las secuencias de los marcadores moleculares del ADN mitocondrial: 16S ARNr, ND1, CO1 y CytB. Se especificarán las longitudes y composiciones nucleotídicas y aminoacídicas (para aquellos genes que las codifican) de cada haplotipo obtenido para cada especie analizada del género *Rhodnius*.

Las comparaciones entre las secuencias obtenidas y las secuencias ya publicadas en la base de datos GenBank, se ha llevado a cabo mediante el programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) y se han utilizado hasta las 3 primeras secuencias publicadas que han presentado mayor homología para cada especie analizada.

Todos los haplotipos obtenidos en el estudio del ADN mitocondrial han sido nombrados según nomenclatura previamente establecida por Mas-Coma & Bargues (2009).

3.3.2.1. Análisis del gen 16S ARNr

A continuación se detalla el análisis del gen 16S ARNr de los 13 especímenes estudiados del género *Rhodnius* de las siguientes poblaciones: 5 especímenes de *R. neglectus* del Estado de Minas Gerais; 4 especímenes de *R. pictipes* de los Estados de Pará (2) y Tocantins (2); y 4 especímenes de *R. robustus* de Lima/Perú (2) y Venezuela (2).

Las secuencias obtenidas para este gen han proporcionado 5 haplotipos nuevos, con una longitud media de 527 pares de base (pb) (con valores entre 500 y 546 pb) y una composición de AT con valores entre 67,6 % y 69,8 % (con una media de 68,7 %).

Rhodnius neglectus

De un total de 5 muestras de *R. neglectus* procedentes del Estado de Minas Gerais, se han obtenido 5 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos del gen 16S de esta especie:

- Haplotipo R.neg-16Sa: correspondiente a 3 muestras procedentes de la localidad de Frutal/Minas Gerais, con una longitud de 546 pb y una composición en AT de 67,6 %.
- Haplotipo R.neg-16Sb: correspondiente a 2 muestras procedentes de la localidad de Uberaba/Minas Gerais, con una longitud de 546 pb y una composición en AT de 68,4 %.

Se han comparado estos 2 haplotipos de *R. neglectus* obtenidos con los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank (EU822951, con una longitud de 315 pb y procedente de Guaira/São Paulo; y JQ897839, con 536 pb y procedente de Ecuador) y se han observado un total de 25 posiciones variables. Entre los 2 haplotipos obtenidos en el presente trabajo se han observado 4 mutaciones transicionales (véase Tabla 117).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *RHODNIUS*

Haplotipos	Posiciones variables
	1122222 2222233333 33444 2233434678 8888912346 67338 0194771391 3567449347 97586
R.neg-16Sa_Frutal*	AGCGAGGAGC GOTTACATGG AGRAC
R.neg-16Sb_Uberaba*	...T...T. .T.....T
EU822951_Rhodnius_neglectus_isolate_CTA-001-B_16S	GG..... ----
JO897839_Rhodnius_neglectus_strain_00052203_16S	..ATGAAGTA ATCCGAGAAA GAGG.

Tabla 117. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de *R. neglectus* obtenidos y los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Rhodnius robustus

De un total de 4 especímenes de *R. robustus* procedentes de Lima/Perú y Venezuela se han obtenido 4 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos del gen 16S de esta especie:

- Haplotipo R.rob-16Sa: correspondiente a 2 muestras procedentes de la localidad de Lima/Perú, con una longitud de 500 pb y una composición en AT de 68,0 %.
- Haplotipo R.rob-16Sb: correspondiente a 2 muestras procedentes de Venezuela, con una longitud de 500 pb y una composición en AT de 69,4 %.

Estos 2 haplotipos de *R. robustus* obtenidos han sido comparados con los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank (EU827206, con una longitud de 316 pb y procedente de Perú; y KT805173, con 299 pb y procedente de Bolivia) y se han observado un total de 17 posiciones variables. Entre los 2 haplotipos obtenidos en el presente trabajo se han observado 9 mutaciones (1 transversión y 8 transiciones) (véase Tabla 118).

Haplotipos	Posiciones variables
	1222333 3333333 5773489334 4444457 6574114891 2467906
R.rob-16Sa_Lima*	GCAAGGACAG GTATGTG
R.rob-16Sb_Venezuela*	ATGTAA...T A....A
EU827206_Rhodnius_robustus_isolate_CTA-011_A_16S	ATGTAA.----
KT805173_Rhodnius_robustus_isolate_Yuc5_16S	-....AGTCA .GTATG-

Tabla 118. Posiciones variables halladas entre los haplotipos del gen 16S de *R. robustus* obtenidos y los 2 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Rhodnius pictipes

De un total de 4 especímenes de *R. pictipes* procedentes de Belém/Pará y Tocantinópolis/Tocantins se han obtenido 4 secuencias. Estas secuencias han sido idénticas entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo del gen 16S de esta especie: Haplotipo R.pic-16Sa, con una longitud de 541 pb y una composición en AT de 69,8 %.

Se ha comparado este haplotipo de *R. pictipes* obtenido con los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank (KC248981, con una longitud de 530 pb y

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *RHODNIUS*

sin información disponible de la procedencia; KC248982, con 541 pb, de Abaetetuba/Pará; y JQ897840, con 412 pb y procedente de Guiana Francesa) y se han observado un total de 2 mutaciones transicionales (véase Tabla 119).

Haplotipos	Posiciones variables
	1
	26
	01
R.pic-16Sa_Belém*	AT
R.pic-16Sa_Tocantinópolis*	..
KC248981_Rhodnius_pictipes_isolate_199_16S	.C
KC248982_Rhodnius_pictipes_isolate_200_16S	.C
JQ897840_Rhodnius_pictipes_strain_00052208_16S	G.

Tabla 119. Posiciones variables halladas entre el haplotipo del gen 16S de *R. pictipes* obtenido y los 3 haplotipos del gen 16S de esta especie publicados en GenBank que han presentado una mayor homología. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

A continuación se detallan (Tabla 120) las respectivas longitudes en pares de bases, los porcentajes de AT y la procedencia geográfica de los diferentes haplotipos del gen 16S de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en la presente Tesis.

Especie	Haplotipo	16S (pb)	AT (%)	Procedencia geográfica
<i>R. neglectus</i>	R.neg-16Sa	546	67,6	Frutal/Minas Gerais
	R.neg-16Sb	546	68,4	Uberaba/Minas Gerais
<i>R. robustus</i>	R.rob-16Sa	500	68,0	Lima/Perú
	R.rob-16Sb	500	69,4	Venezuela
<i>R. pictipes</i>	R.pic-16Sa	541	69,8	Belém/Pará; Tocantinópolis/Tocantins

Tabla 120. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de todas los haplotipos del gen 16S de todas las especies del género *Rhodnius* obtenidos en la presente Tesis.

Evaluación del gen 16S en las especies estudiadas del género *Rhodnius*

Se ha procedido a un análisis conjunto de todos los haplotipos del gen 16S descritos para todas las especies del género *Rhodnius* estudiadas en la presente Tesis:

- Se han descrito un total de 5 haplotipos diferentes para el gen 16S de todas las especies del género *Rhodnius* estudiadas, conforme se ha observado en la Tabla 120. Los haplotipos obtenidos para la especie *R. neglectus*, ha presentado la mayor longitud del gen 16S, con 546 pb. La especie *R. robustus* ha presentado el haplotipo con la longitud más corta entre todos los haplotipos de este gen obtenidos en el presente estudio, con 500 pb.
- La longitud del alineamiento de todos los haplotipos obtenidos del gen 16S ha sido de 546 pb y ha proporcionado un total de 65 posiciones variables, de las

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *RHODNIUS*

cuales 4 han sido singletons y 61 han sido posiciones parsimónicamente informativas.

- En el análisis de las diferencias par a par entre todos los haplotipos del gen 16S de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en el presente estudio, se ha observado que las distancias genéticas entre las especies *R. pictipes* y *R. robustus*, ha presentado un valor de 52 diferencias nucleotídicas. Entre todos los haplotipos analizados se ha verificado una media de 30 diferencias nucleotídicas.

3.3.2.2. Análisis de la subunidad I del gen NADH Deshidrogenasa (ND1)

En este apartado se han analizado las secuencias del gen mitocondrial ND1 completo de 13 especímenes de las diferentes especies del género *Rhodnius* procedentes de Brasil, Perú y Venezuela (Tabla 5).

Los análisis del gen ND1 de los especímenes estudiados de este género han permitido obtener 4 haplotipos nucleotídicos y 4 haplotipos aminoacídicos diferentes. Todas las secuencias obtenidas, correspondientes al gen ND1 completo, han presentado una longitud media de 934 pares de base (pb) (con valores entre 930 y 939 pb), que codificaron para una media de 310 aminoácidos (con valores entre 309 y 312).

En cuanto a la composición nucleotídica de las secuencias, se ha destacado un elevado contenido en pares AT, con valores entre 71,2 % y 74,0 % (media de 72,3 %).

Rhodnius neglectus

Secuencias nucleotídicas

De un total de 2 muestras de *R. neglectus* procedentes de Frutal/Minas Gerais se han obtenido 2 secuencias. Estas secuencias han sido iguales entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie: Haplotipo R.neg-ND1a, con una longitud de 939 pb y una composición en AT de 71,2 %.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína ND1 de *R. neglectus* obtenidas han presentado una longitud de 312 aminoácidos, con una mayor abundancia de Fenilalanina (15,2 %) seguido de Leucina (13,2 %). El codón de inicio ha sido GTA y el codón de parada TAA.

Estas secuencias aminoacídicas han sido analizadas y han proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína ND1 de esta especie: Haplotipo R.neg-ND1A, correspondiente a las muestras procedentes de Frutal/Minas Gerais.

Hay que mencionar que las secuencias nucleotídicas y aminoacídicas del gen ND1 completo de *R. neglectus* han sido obtenidas por primera vez en el presente estudio.

Rhodnius robustus

Secuencias nucleotídicas

Se han analizado un total de 2 especímenes de *R. robustus* procedentes Venezuela y se han obtenido 2 secuencias. Estas secuencias han sido iguales entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie: Haplotipo R.rob-ND1a, con una longitud de 939 pb y una composición en AT de 71,7 %.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *RHODNIUS*

Este haplotipo de *R. robustus* obtenido ha sido comparado con el haplotipo nucleotídico del gen ND1 completo de esta especie publicado en GenBank (AM980633, procedente de Venezuela) y no se han observado posiciones variables.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína ND1 de *R. robustus* obtenidas han presentado una longitud de 312 aminoácidos, con una mayor abundancia de Fenilalanina (15,2 %) seguido de Leucina (13,2 %). El codón de inicio ha sido GTA y el codón de parada TAA.

Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína ND1 de esta especie: Haplotipo R.rob-ND1A. Este haplotipo ha sido comparado con el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen ND1 de esta especie publicado en GenBank (AM980633) y no se han observado diferencias aminoacídicas.

Rhodnius pictipes

Secuencias nucleotídicas

De un total de 4 especímenes de *R. pictipes* procedentes de 2 Estados brasileños se han obtenido 4 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de esta especie:

- Haplotipo R.pic-ND1a: correspondiente a 2 muestras procedentes de la localidad de Belém/Pará, con una longitud de 930 pb y una composición en AT de 74,0 %.
- Haplotipo R.pic-ND1b: correspondiente a 2 muestras procedentes de la localidad de Tocantinópolis/Tocantins, con una longitud de 930 pb y una composición en AT de 73,8 %.

Se han comparado estos 2 haplotipos de *R. pictipes* obtenidos entre ellos y se han observado 3 mutaciones (1 transición y 2 transversiones) (véase Tabla 121).

Haplotipos	Posiciones variables
	148
	182
	468
R.pic-ND1a_Belém	TAT
R.pic-ND1b_Tocantinópolis	GTC

Tabla 121. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de *R. pictipes* obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína ND1 de esta especie han presentado una longitud de 309 aminoácidos, con una mayor abundancia de Leucina (15,2 %) seguido de Fenilalanina (14,5 %). El codón de inicio ha sido TTA y el codón de parada TAG.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *RHODNIUS*

Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína ND1 de *R. pictipes*: R.pic-ND1A, correspondiente a las muestras de Belém/Pará; y R.pic-ND1B, correspondiente a las muestras de Tocantinópolis/Tocantins.

Se han comparado estos 2 haplotipos aminoacídicos obtenidos y se ha observado 1 posición variable (véase Tabla 122).

Haplotipos	Posición variable
	1
	6
	2
R.pic-ND1A_Belém	L
R.pic-ND1B_Tocantinópolis	F

Tabla 122. Posición variable hallada entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 completo de *R. pictipes* obtenidos en la presente Tesis.

Hay que resaltar que las secuencias nucleotídicas y aminoacídicas del gen ND1 completo de esta especie de triatomino han sido obtenidas por primera vez en el presente trabajo.

A continuación se detallan (Tabla 123) las respectivas longitudes en pares de base, los porcentajes de AT, los codones de inicio y parada y la procedencia geográfica de los diferentes haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en la presente Tesis.

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo nucleotídico</i>	<i>ND1 (pb)</i>	<i>AT (%)</i>	<i>Codones (inicio/fin)</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>R. neglectus</i>	R.neg-ND1a	939	71,2	GTA/TAA	Frutal/Minas Gerais
<i>R. robustus</i>	R.rob-ND1a*	939	71,7	GTA/TAA	Venezuela
<i>R. pictipes</i>	R.pic-ND1a	930	74,0	TTA/TAG	Belém/Pará
	R.pic-ND1b	930	73,8	TTA/TAG	Tocantinópolis/Tocantins

Tabla 123. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas, codones de inicio y parada y procedencia geográfica de todos los haplotipos nucleotídicos del gen ND1 completo de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en la presente Tesis. *Haplotipo idéntico al descrito por Mas-Coma & Bargues (2009).

A continuación se detalla (Tabla 124) el número de aminoácidos (n° aa) y la procedencia geográfica de los diferentes haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *RHODNIUS*

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo aminoacídico</i>	<i>Nº aa</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>R. neglectus</i>	R.neg-ND1A	312	Frutal/Minas Gerais
<i>R. robustus</i>	R.rob-ND1A*	312	Venezuela
<i>R. pictipes</i>	R.pic-ND1A	309	Belém/Pará
	R.pic-ND1B	309	Tocantinópolis/ Tocantins

Tabla 124. Número de aminoácidos (Nº aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen ND1 de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en la presente Tesis. *Haplotipo idéntico al descrito por Mas-Coma & Bargues (2009).

Evaluación del gen ND1 en las especies estudiadas del género *Rhodnius*

Se ha procedido a un análisis conjunto de todos los haplotipos del gen ND1 completo descritos para todas las especies del género *Rhodnius* estudiadas en la presente Tesis:

- Se han descrito un total de 4 haplotipos diferentes para el gen ND1 completo de las especies del género *Rhodnius* estudiadas, conforme se ha observado en la Tabla 123. Los haplotipos obtenidos para la especie *R. neglectus* y *R. robustus*, han presentado una longitud del gen ND1 completo de 939 pb. Para la especie *R. pictipes* la longitud del gen ND1 completo ha sido de 930 pb.
- La longitud del alineamiento de todos los haplotipos obtenidos del gen ND1 ha sido de 939 pb y ha proporcionado un total de 150 posiciones variables, de las cuales 66 han sido singletons y 84 han sido posiciones parsimónicamente informativas.
- En el análisis de las distancias genéticas entre todos los haplotipos del gen ND1 de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en el presente estudio, se ha observado que la mayor distancia genética se encuentra entre las especies *R. neglectus* y *R. pictipes*, con un total de 122 diferencias nucleotídicas. Entre todos los haplotipos del gen ND1 de las especies de este género obtenidos en el presente estudio, se ha verificado una media de 92 bases nucleotídicas diferentes.

3.3.2.3. Análisis de la subunidad I del gen Citocromo Oxidasa (CO1)

Se han analizado las secuencias del gen CO1 de 13 especímenes de las diferentes especies del género *Rhodnius* procedentes de Brasil, Perú y Venezuela (Tabla 5) y se han obtenido 3 haplotipos nucleotídicos y 3 haplotipos aminoacídicos diferentes.

Las secuencias nucleotídicas del gen CO1 obtenidas han presentado una longitud media de 701 pares de base (pb) (con valores entre 699 y 702 pb), con una composición media de A y T con valores entre 61,1 % y 62,5 % (media de 62,0 %). Estas secuencias nucleotídicas han proporcionado proteínas codificadas por el gen CO1 con una media de 234 aminoácidos (valores entre 233 y 234 aminoácidos).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *RHODNIUS*

Rhodnius neglectus

Secuencias nucleotídicas

De un total de 2 muestras de *R. neglectus* procedentes de Uberaba/Minas Gerais se han obtenido 2 secuencias. Estas secuencias han sido iguales entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen CO1 de esta especie: Haplotipo R.neg-CO1a, con una longitud de 699 pb y una composición en AT de 61,1 %.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CO1 de *R. neglectus* ha presentado una longitud de 233 aminoácidos, con una mayor abundancia de Leucina (14,5 %) seguido del Ácido Glutámico (10,1 %).

Estas secuencias aminoacídicas han sido analizadas y han proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína CO1 de esta especie: Haplotipo R.neg-CO1A, correspondiente a las muestras de Uberaba/Minas Gerais.

Cabe resaltar que las secuencias nucleotídicas y aminoacídicas de esta especie de triatomino han sido obtenidas por primera vez en el presente trabajo.

Rhodnius robustus

No ha sido posible obtener la secuencia del gen CO1 de esta especie mediante la amplificación por PCR en todos los especímenes analizados.

Rhodnius pictipes

Secuencias nucleotídicas

Se han analizado un total de 4 especímenes de *R. pictipes* procedentes de 2 Estados brasileños y se han obtenido 4 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie:

- Haplotipo R.pic-CO1a: correspondiente a 2 muestras procedentes de Belém/Pará, con una longitud de 702 pb y una composición en AT de 62,2 %.
- Haplotipo R.pic-CO1b: correspondiente a 2 muestras procedentes de Tocantinópolis/Tocantins, con una longitud de 702 pb y una composición en AT de 62,5 %.

Se han comparado estos 2 haplotipos de *R. pictipes* obtenidos con los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank (KC249314, con una longitud de 1195 pb y sin información disponible de la procedencia; y KC249315, con 1193 pb y procedente de Abaetetuba/Pará) y se han observado un total de 8 posiciones variables (3 mutaciones transversionales y 5 transicionales). Entre los 2 haplotipos obtenidos en el presente trabajo se han observado 3 mutaciones (1 transición y 2 transversiones) (véase Tabla 125).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *RHODNIUS*

Haplotipos	Posiciones variables
	33345666 16827459 76533843
R.pic-CO1a_Belém*	CTGGGCT
R.pic-CO1b_Tocantinópolis*	T.T.T...
KC249314_Rhodnius_pictipes_isolate_199_CO1	.C.A.ATA
KC249315_Rhodnius_pictipes_isolate_200_CO1	.C.A.AT.

Tabla 125. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de *R. pictipes* obtenidos y los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie publicados en GenBank.

*Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CO1 de esta especie han presentado una longitud de 234 aminoácidos, con una mayor abundancia de Leucina e Isoleucina (14,1 % para ambas) seguido de Glicina (10,6 %).

Estas secuencias de *R. pictipes* obtenidas han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie: R.pic-CO1A, correspondiente a las muestras de Belém/Pará; y R.pic-CO1B, correspondiente a las muestras de Tocantinópolis/Tocantins.

Estos haplotipos aminoacídicos de *R. pictipes* obtenidos han sido comparados con los 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína CO1 de esta especie publicados en GenBank (KC249314 y KC249315, ambos con 398 aminoácidos) y se han observado 2 posiciones variables entre los 2 haplotipos obtenidos en el presente trabajo. Además, se ha visto que el haplotipo “R.pic-CO1A” obtenido en el presente estudio, ha presentado un fragmento de 234 aminoácidos idéntico a los haplotipos de la proteína CO1 de esta especie publicados en GenBank (véase Tabla 126).

Haplotipos	Posiciones variables
	11 02 69
R.pic-CO1A_Belém*	AA
R.pic-CO1B_Tocantinópolis*	VS
KC249314_Rhodnius_pictipes_isolate_199_CO1	..
KC249315_Rhodnius_pictipes_isolate_200_CO1	..

Tabla 126. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de *R. pictipes* y los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

A continuación se detallan (Tabla 127) las respectivas longitudes en pares de base, los porcentajes de AT y la procedencia geográfica de los diferentes haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *RHODNIUS*

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo nucleotídico</i>	<i>COI (pb)</i>	<i>AT (%)</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>R. neglectus</i>	R.neg-CO1a	699	61,1	Uberaba/Minas Gerais
<i>R. pictipes</i>	R.pic-CO1a	702	62,2	Belém/Pará
	R.pic-CO1b	702	62,5	Tocantinópolis/Tocantins

Tabla 127. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de todos los haplotipos del gen CO1 de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en la presente Tesis.

A continuación se detalla (Tabla 128) el número de aminoácidos (N° aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en la presente Tesis.

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo aminoacídico</i>	<i>N° aa</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>R. neglectus</i>	R.neg-CO1A	233	Uberaba/Minas Gerais
<i>R. pictipes</i>	R.pic-CO1A	234	Belém/Pará
	R.pic-CO1B	234	Tocantinópolis/Tocantins

Tabla 128. Número de aminoácidos (N° aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CO1 de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en la presente Tesis.

Evaluación del gen CO1 en las especies estudiadas del género *Rhodnius*

Se ha procedido a un análisis conjunto de todos los haplotipos del gen CO1 descritos para todas las especies del género *Rhodnius* estudiadas en la presente Tesis:

- Se han descrito un total de 3 haplotipos diferentes para el gen CO1 de las especies *R. neglectus* y *R. pictipes*, conforme se ha observado en la Tabla 127. Los haplotipos obtenidos para la especie *R. pictipes*, han presentado la mayor longitud del gen CO1, con 702 pb. Para la especie *R. neglectus* se ha obtenido una longitud de 699 pb.
- La longitud del alineamiento de todos los haplotipos obtenidos del gen CO1 ha sido de 702 pb y ha proporcionado un total de 89 posiciones variables, todas han sido singletons.
- En el análisis de las diferencias par a par entre todos los haplotipos del gen CO1 obtenidos en el presente estudio, se ha observado que las distancias genéticas entre las especies *R. neglectus* y *R. pictipes* ha presentado un valor de 89 diferencias nucleotídicas. Entre todos los haplotipos analizados se ha verificado una media de 60 bases nucleotídicas diferentes.

3.3.2.4. Análisis del gen Citocromo B (CytB)

En este estudio se han analizado las secuencias del gen CytB de 13 especímenes del género *Rhodnius* procedentes de Brasil, Perú y Venezuela (Tabla 5).

Los análisis del gen CytB de todos los especímenes estudiados de este género han permitido obtener 5 haplotipos nucleotídicos y 5 haplotipos aminoacídicos diferentes.

La longitud de las secuencias nucleotídicas del gen CytB de las especies del género *Rhodnius* obtenidas en el presente trabajo, ha presentado una media de 793 pares de bases (pb) (valores entre 792 y 795 pb) y una composición de AT con valores entre 64,2 % y 68,7 % (media de 66,0 %). Estas secuencias nucleotídicas han proporcionado proteínas codificadas por el gen CytB con una media de 263 aminoácidos (valores entre 263 y 264 aminoácidos).

Rhodnius neglectus

Secuencias nucleotídicas

De un total de 2 muestras de *R. neglectus* procedentes de Uberaba/Minas Gerais se han obtenido 2 secuencias. Estas secuencias han sido iguales entre sí y han proporcionado 1 único haplotipo nucleotídico del gen CytB de esta especie: Haplotipo R.neg-CytBa, con una longitud de 792 pb y una composición en AT de 64,3 %.

Este haplotipo nucleotídico de *R. neglectus* obtenido ha sido comparado con los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología (JX273156, con una longitud de 663 pb y procedente del Estado de Tocantins; KT317035, con 630 pb y sin información disponible de la procedencia; y AF045716, con 399 pb y sin información disponible de la procedencia) y se han observado un total de 10 posiciones variables (todas mutaciones transicionales). Además, se ha podido observar que el haplotipo obtenido en el presente trabajo ha presentado un fragmento de 399 pb idéntico al haplotipo “*Rhodnius neglectus* CytB partial” depositado en GenBank (AF045716) (véase Tabla 129).

Haplotipos	Posiciones variables
	1222234556
	2144957470
	1617111630
R.neg-CytBa_Uberaba*	ACAGAAACT
JX273156_Rhodnius_neglectus_haplotype_R_neg_PalmTO_001_CytBG....
KT317035_Rhodnius_neglectus_isolate_XX03_cytochrome_b	GTGA.GGGTC
AF045716_Rhodnius_neglectus_CytB_partial---

Tabla 129. Posiciones variables halladas entre el haplotipo nucleotídico del gen CytB de *R. neglectus* obtenido y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CytB de esta especie ha presentado una longitud de 263 aminoácidos, con una mayor abundancia de Leucina (17,4 %) seguido de Isoleucina (15,1 %).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *RHODNIUS*

Estas secuencias aminoacídicas de *R. neglectus* han sido analizadas y han proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico de la proteína CytB de esta especie: R.neg-CytBA. Este haplotipo ha sido comparado con los 3 haplotipos aminoacídicos de esta especie publicados en GenBank (correspondientes a los haplotipos nucleotídicos comparados anteriormente, con 221, 210 y 132 aminoácidos, respectivamente) y se han observado 4 posiciones variables.

Además, se ha podido verificar que el haplotipo aminoacídico de *R. neglectus* obtenido en el presente estudio ha sido idéntico a los haplotipos “R.neg-Palm1To001 CytB” y “*Rhodnius neglectus* CytB partial” publicados en GenBank (JX273156 y AF045716, respectivamente) (véase Tabla 130).

Haplotipos	Posiciones variables
	1
	4888
	1132
R.neg-CytBA_Uberaba*	ITVI
JX273156_Rhodnius_neglectus_haplotype_R_neg_Palm1TO_001_CytB
KT317035_Rhodnius_neglectus_isolate_XX03_cytochrome_b	VAIM
AF045716_Rhodnius_neglectus_CytB_partial	...-

Tabla 130. Posiciones variables halladas entre el haplotipo aminoacídico de la proteína codificada por el gen CytB de *R. neglectus* obtenido y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipo obtenido en la presente Tesis.

Rhodnius robustus

Secuencias nucleotídicas

De un total de 4 especímenes de *R. robustus* procedentes de Lima/Perú y Venezuela se han obtenido 4 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie:

- Haplotipo R.rob-CytBa: correspondiente a 2 muestras procedentes de Lima/Perú, con una longitud de 795 pb y una composición en AT de 64,7 %.
- Haplotipo R.rob-CytBb: correspondiente a 2 muestras procedentes de Venezuela, con una longitud de 795 pb y una composición en AT de 64,2 %.

Se han comparado estos 2 haplotipos nucleotídicos de *R. robustus* obtenidos con los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie depositados en GenBank que han presentado mayor homología (AF421341, con una longitud de 663 pb y procedente de Ecuador; EF011711, con 663 pb, de Brasil; y EF011719, con 663 pb y procedente de Venezuela) y se ha observado que: (i) los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de *R. robustus* obtenidos en el presente trabajo han presentado 66 mutaciones entre ellos (5 transversiones y 61 transiciones); (ii) el haplotipo obtenido en la presente Tesis procedente de Lima/Perú ha presentado un fragmento de 663 pb idéntico al haplotipo “R.rob-CytB_clone_roEC_haplotype g” publicado en GenBank y procedente de Ecuador; (iii) el haplotipo obtenido en el presente estudio procedente de Venezuela ha presentado 1 única mutación transicional con relación al haplotipo “R.rob-CytB_isolate_roVE2e” depositado en GenBank, procedente de Venezuela (véase Tabla 131).

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *RHODNIUS*

Haplotipos	Posiciones variables
	1 1111111112 2222222223 3333333334 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890
R.rob-CytBa_Lima*	AAITATAGGC TOCACTCAOC GTTGCAACT AAATTTGCA
R.rob-CytBb_Venezuela*	GGGCGGATT .TTCACGTGT ACCACTGGTC GGGGCTATG
AF421341_Rhodnius_robustus_clone_roEC_haplotype_g_cytb
EF011711_Rhodnius_robustus_isolate_roERlh_cytb C.....
EF011719_Rhodnius_robustus_isolate_roVE2e_cytb	GGGCGGATT .TTCACGTGT ACCA.TGGTC GGGGCTATG
	4444444445 5555555556 666666666 1234567890 1234567890 12345678
R.rob-CytBa_Lima*	AACTTGGCT GACTGCGCA CCACATAA
R.rob-CytBb_Venezuela*	GGTT.CIATC AGCTCTAATC TTGTGAGG
AF421341_Rhodnius_robustus_clone_roEC_haplotype_g_cytb
EF011711_Rhodnius_robustus_isolate_roERlh_cytbC.....
EF011719_Rhodnius_robustus_isolate_roVE2e_cytb	GGTT.CIATC A-----

Tabla 131. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de *R. robustus* obtenidos y los 3 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CytB de esta especie han presentado una longitud de 264 aminoácidos, con una mayor abundancia de Leucina (17,3 %) seguido de Isoleucina (14,8 %).

Estas secuencias aminoacídicas de *R. robustus* obtenidas han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie: R.rob-CytBA, correspondiente a las muestras de Lima/Perú; y R.rob-CytBB, correspondiente a las muestras de Venezuela. Estos 2 haplotipos obtenidos han sido comparados con los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie publicados en GenBank, correspondiente a los haplotipos nucleotídicos comparados anteriormente, y se han observado un total de 8 posiciones variables (véase Tabla 132).

Haplotipos	Posiciones variables
	1122222 22803455 64287856
R.rob-CytBA_Lima*	MIIVIIIF
R.rob-CytBB_Venezuela*	IMMIIML
AF421341_Rhodnius_robustus_clone_roEC_haplotype_g_CytB----
EF011711_Rhodnius_robustus_isolate_roERlh_CytB----
EF011719_Rhodnius_robustus_isolate_roVE2e_CytB	IMI----

Tabla 132. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de *R. robustus* obtenidos y los 3 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicados en GenBank que han presentado mayor homología. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Rhodnius pictipes

Secuencias nucleotídicas

De un total de 4 especímenes de *R. pictipes* procedentes de 2 Estados brasileños se han obtenido 4 secuencias. Estas secuencias han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie:

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *RHODNIUS*

- Haplotipo R.pic-CytBa: correspondiente a 2 muestras procedentes de Belém/Pará, con una longitud de 792 pb y una composición en AT de 68,7 %.
- Haplotipo R.pic-CytBb: correspondiente a 2 muestras procedentes de Tocantinópolis/Tocantins, con una longitud de 792 pb y una composición en AT de 68,5 %.

Se han comparado estos haplotipos nucleotídicos de *R. pictipes* obtenidos con los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank (KC249236, con una longitud de 558 pb y procedente de Abaetetuba/Pará; y JX273157, con 663 pb, de Itacoatiara/Amazonas) y se han observado un total de 9 mutaciones (1 transversión y 8 transiciones). Entre los 2 haplotipos obtenidos en el presente trabajo se han observado 2 mutaciones (1 transversión y 1 transición) (véase Tabla 133).

Haplotipos	Posiciones variables
	2555668
	889455470
	033515480
R.pic-CYTBA_Belém*	CGGCTTAA
R.pic-CYTBb_Tocantinópolis*C.T
KC249236_Rhodnius_pictipes_isolate_200_cytbTC---
JX273157_Rhodnius_pictipes_haplotypeR_pic_ITA86_cytb	TAAC...G-

Tabla 133. Posiciones variables halladas entre los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de *R. pictipes* obtenidos y los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CytB de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

Secuencias aminoacídicas

Las secuencias aminoacídicas de la proteína CytB de esta especie han presentado una longitud de 263 aminoácidos, con una mayor abundancia de Leucina (19,8 %) seguido de Fenilalanina (10,4 %).

Estas secuencias aminoacídicas de *R. pictipes* obtenidas han sido analizadas y han proporcionado 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie: R.pic-CytBA, correspondiente a las muestras de Belém/Pará; y R.pic-CytBB, correspondiente a las muestras de Tocantinópolis/Tocantins. Estos 2 haplotipos obtenidos han sido comparados con los 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína CytB de esta especie publicados en GenBank, correspondiente a los haplotipos nucleotídicos comparados anteriormente, y se han observado un total de 6 posiciones variables. Entre los 2 haplotipos aminoacídicos obtenidos en el presente trabajo se ha observado 1 posición variable (véase Tabla 134).

Haplotipos	Posiciones variables
	112
	229881
	788245
R.pic-CytBA_Belém*	SGCFIF
R.pic-CytBB_Tocantinópolis*S
KC249236_Rhodnius_pictipes_isolate_200_cytbI-
JX273157_Rhodnius_pictipes_haplotypeR_pic_ITA86_cytb	LDYS..

Tabla 134. Posiciones variables halladas entre los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de *R. pictipes* obtenidos y los 2 haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de esta especie publicados en GenBank. *Haplotipos obtenidos en la presente Tesis.

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *RHODNIUS*

A continuación se detallan (Tabla 135) las respectivas longitudes en pares de base, los porcentajes de AT y la procedencia geográfica de los diferentes haplotipos nucleotídicos del gen CytB de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en la presente Tesis.

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo nucleotídico</i>	<i>CytB (pb)</i>	<i>AT (%)</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>R. neglectus</i>	R.neg-CytBa	792	64,3	Uberaba/Minas Gerais
<i>R. robustus</i>	R.rob-CytBa	795	64,7	Lima/Perú
	R.rob-CytBb	795	64,2	Venezuela
<i>R. pictipes</i>	R.pic-CytBa	792	68,7	Belém/Pará
	R.pic-CytBb	792	68,5	Tocantinópolis/Tocantins

Tabla 135. Longitud en pares de bases, composición nucleotídica de adeninas y timinas y procedencia geográfica de todos los haplotipos nucleotídicos del gen CytB de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en la presente Tesis.

A continuación se detalla (Tabla 136) el número de aminoácidos (N° aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en la presente Tesis.

<i>Especie</i>	<i>Haplotipo aminoacídico</i>	<i>N° aa</i>	<i>Procedencia geográfica</i>
<i>R. neglectus</i>	R.neg-CytBA	263	Uberaba/Minas Gerais
<i>R. robustus</i>	R.rob-CytBA	264	Lima/Perú
	R.rob-CytBB	264	Venezuela
<i>R. pictipes</i>	R.pic-CytBA	263	Belém/Pará
	R.pic-CytBB	263	Tocantinópolis/Tocantins

Tabla 136. Número de aminoácidos (N° aa) y procedencia geográfica de los haplotipos aminoacídicos de la proteína codificada por el gen CytB de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en la presente Tesis.

Evaluación del gen CytB en las especies estudiadas del género *Rhodnius*

Se ha procedido a un análisis conjunto de todos los haplotipos del gen CytB descritos para todas las especies del género *Rhodnius* estudiadas en la presente Tesis:

- Conforme se ha observado en la Tabla 135, se han descrito un total de 5 haplotipos diferentes para el gen CytB de las especies del género *Rhodnius* analizadas. Los

III. MARCADORES MOLECULARES EN EL GÉNERO *RHODNIUS*

haplotipos de este gen obtenidos para la especie *R. robustus*, han presentado la mayor longitud, con 795 pb. Para las especies *R. neglectus* y *R. pictipes*, se ha obtenido una longitud de 792 pb.

- La longitud del alineamiento de todos los haplotipos obtenidos del gen CytB ha sido de 795 pb y ha proporcionado un total de 197 posiciones variables, de las cuales 52 han sido singletons y 144 han sido posiciones parsimónicamente informativas.
- En el análisis de las diferencias par a par entre todos los haplotipos del gen CytB de las especies del género *Rhodnius* obtenidos en el presente estudio, se ha observado que la mayor distancia genética se encuentra entre las especies *R. robustus* y *R. pictipes*, con 157 diferencias nucleotídicas. Entre todos los haplotipos analizados se ha verificado una media de 110 bases nucleotídicas diferentes.

3.4. DETECCIÓN DE PSEUDOGENES

Como paso previo a la detección de pseudogenes en los especímenes de los géneros *Triatoma*, *Panstrongylus* y *Rhodnius* procedentes de Brasil analizados en el presente estudio, se han procesado 10 muestras de *T. dimidiata* procedentes de Guatemala, Colombia y México con el objetivo de identificar la presencia de secuencias pseudogénicas. Se han elegido estos especímenes debido a que en estudios anteriores (Bargues *et al.*, 2014; Zuriaga *et al.*, 2015) llevados a cabo en el Departamento de Parasitología, donde se ha desarrollado este estudio, ya se habían detectado pseudogenes en triatominos de la especie *T. dimidiata* procedentes de diferentes países de América.

Se ha amplificado la región del 5.8S + ITS-2 de esta especie mediante cebadores específicos diseñados para la posible identificación de secuencias de ITS-2 pseudogénicas. Los resultados obtenidos han determinado la presencia de secuencias parálogas de ITS-2 en las muestras de *T. dimidiata* analizadas.

Con el fin de determinar la proporción relativa de las dos secuencias parálogas de ITS-2 identificadas (ITS-2 funcional e ITS-2 pseudogen) en estas muestras, se ha realizado una cuantificación mediante PCR en tiempo real. Los resultados obtenidos han sido muy variables, aunque en todas las muestras la cantidad de ITS-2 funcional fue mayor que la de ITS-2 pseudogénico.

Posteriormente, se ha procedido a amplificar el fragmento del gen 5.8S + ITS-2 con los cebadores utilizados en la detección de pseudogenes de *T. dimidiata*, en diferentes especies de triatominos procedentes de Brasil. Se han procesado un total de 30 especímenes del género *Triatoma*, 10 especímenes del género *Panstrongylus* y 13 especímenes del género *Rhodnius*: 2 especímenes de *T. pseudomaculata* del Estado de Bahía (1) y Paraíba (1); 2 especímenes de *T. sordida* de Bahía; 7 especímenes de *T. brasiliensis* de Bahía (1), Ceará (2), Paraíba (2) y Rio Grande do Norte (2); 2 especímenes de *T. juazeirensis* de Bahía; 3 especímenes de *T. sherlocki* de Bahía; 2 especímenes de *T. melanica* de Bahía; 2 especímenes de *T. lenti* de Bahía; 4 especímenes de *T. petrocchiaie* de Rio Grande do Norte (2) y Paraíba (2); 2 especímenes de *T. melanocephala* de Bahía; 2 especímenes de *T. tibiamaculata* de São paulo; y 2 especímenes de *T. vitticeps* de Espírito Santo (1) y Minas Gerais (1); 4 especímenes de *P. megistus* del Estado de Bahía (2) y São Paulo (2); 2 especímenes de *P. geniculatus* de Bahía; 2 especímenes de *P. lutzi* de Bahía; y 2 especímenes de *P. herreri* del Estado de Pará; 5 especímenes de *R. neglectus* del Estado de Minas Gerais; 4 especímenes de *R. robustus* de Lima/Perú (2) y Venezuela (2); y 4 especímenes de *R. pictipes* procedente de los Estados de Pará (2) y Tocantins (2).

Las muestras de *T. dimidiata* analizadas anteriormente fueron utilizadas como control positivo. Los resultados obtenidos no han revelado la presencia de secuencias pseudogénicas en las especies analizadas, aunque cabe resaltar que son necesarios estudios más específicos (diseño de nuevo cebadores) para poder demostrar que las secuencias pseudogénicas en el ADN ribosomal (ps 5.8S + ITS-2) no son detectadas en los triatominos del sur de Sudamérica.

Hasta el momento, se puede concluir que los pseudogenes (en la región 5.8S + ITS-2), solo están presentes en triatominos del género *Triatoma* de Norteamérica, Centroamérica y norte de Sudamérica.

CAPÍTULO IV. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS

4.1. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS DE LAS ESPECIES DE TRIATOMINOS ESTUDIADAS

4.1.1. Análisis filogenéticos en base a los marcadores moleculares del ADN ribosomal nuclear

En este apartado se analizan las relaciones filogenéticas en base a la región intergénica completa (ITS-1 + 5.8S + ITS-2) de las especies de los géneros *Triatoma*, *Panstrongylus* y *Rhodnius* estudiadas en el presente trabajo.

Para este análisis filogenético se han incluido un total de 28 nuevos haplotipos obtenidos en el presente trabajo: 19 pertenecientes al género *Triatoma*, 5 al género *Panstrongylus* y 4 al género *Rhodnius* (véase Tabla 137).

Además, se ha utilizado como grupo externo la especie *Cimex lectularius* (Heteroptera: Cimicidae): haplotipo “isolate 133 internal transcribed spacer 2 partial sequence” (KF018697; Balvín *et al.*, 2015).

El árbol filogenético (Figura 27) ha sido construido utilizando el modelo evolutivo GTR + G, con un valor de logaritmo neperiano (-Ln) = 11854.53. El valor de bootstrap que se muestra en la Figura 27 ha sido obtenido por el método de Máxima Verosimilitud, 1.000 réplicas, a partir del software RAxML.

A partir del análisis del árbol filogenético obtenido con las secuencias de la región intergénica completa (Figura 27) se han podido observar los siguientes puntos relevantes:

El clado monofilético que agrupa a todas las especies actualmente clasificadas dentro del complejo *T. brasiliensis* (destacado en color rojo) (con un soporte estadístico de 65), se divide en dos grupos: uno en los que se reúnen todos los haplotipos de las especies *T. brasiliensis*, *T. juazeirensis*, *T. sherlocki*, *T. melanica* y *T. lenti*, con valor de bootstrap elevado (98), y otro que agrupa a los haplotipos de la especie *T. petrocchia*, con un elevado soporte estadístico (100).

En una observación más detallada de las especies del complejo *T. brasiliensis*, se ha desglosado el clado al que pertenecen estas especies en la parte superior izquierda de la Figura 27. Se ha podido observar que el grupo en el que se han ubicado la gran mayoría de las especies de este complejo, se ha dividido en 3 subgrupos (con un soporte estadístico elevado de 98): (i) uno que agrupa a los haplotipos de la especie *T. brasiliensis*, con un valor de bootstrap de 93; (ii) uno en el que se agrupan las especies *T. melanica*, *T. sherlocki* y *T. lenti*, con un soporte estadístico elevado (99); (iii) y un tercero que posiciona a la especie *T. juazeirensis*.

En cuanto a la especie *T. brasiliensis*, se ha podido observar que el haplotipo T.bra-CH1H correspondiente a las muestras procedentes de Curaçá/Bahia e Icó/Ceará (idéntico al depositado en GenBank y identificado como *T. b. macromelasoma*), se ha posicionado en un grupo distinto (con un soporte de 93) a los demás haplotipos obtenidos para esta especie.

La especie *T. lenti* se ha situado en el mismo grupo que las especies *T. melanica* y *T. sherlocki* con un elevado soporte estadístico (99), ratificando su actual clasificación como miembro del complejo *T. brasiliensis*. Además, el haplotipo de *T. lenti* obtenido ha compartido el mismo nodo que la especie *T. sherlocki*, con un valor de bootstrap de 79. Lo que deberá ser comprobado en el siguiente apartado del presente estudio que incluirán los análisis filogenéticos de los marcadores del ADN mitocondrial.

IV. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS

Para la especie *T. petrocchia*, se ha podido observar que el haplotipo obtenido de las muestras procedentes de Caicó (RN) se ha ubicado en un grupo, y que los haplotipos de las muestras procedentes de Currais Novos (RN) y Cajazeiras (PB) se han agrupado en otro grupo con un soporte estadístico de 66.

En lo que se refiere a los haplotipos de *T. pseudomaculata* y *T. sordida*, se han posicionado en un nodo común con un elevado valor de bootstrap (99). Además, se ha podido observar que comparten nodo con las especies del complejo *T. brasiliensis* con un elevado valor de bootstrap (96).

Las especies *T. melanocephala* y *T. vitticeps* se han ubicado más alejadas de las especies del complejo *T. brasiliensis*, y se han situado en un único nodo con un soporte estadístico de 99. Este hecho confirmaría su exclusión del subcomplejo Brasiliensis y la proximidad genética entre ellas, las cuales han sido, en un principio, clasificadas como especies sinónimas (Lent & Wygodzinsky, 1979).

Con relación a *T. tibiamaculata*, se ha podido observar que se sitúa más alejada de las demás especies estudiadas del género *Triatoma* y que, además, comparte el mismo nodo que las especies del género *Panstrongylus*, aunque con un soporte estadístico de 62. Este hecho, a parte de corroborar su exclusión del subcomplejo Brasiliensis, resalta la necesidad de estudios más amplios para una posible revisión de su clasificación.

En cuanto a las especies del género *Panstrongylus*, se ha podido observar que los haplotipos obtenidos para las especies de este género se han ubicado en 2 grupos principales (soporte estadístico elevado de 95): uno en el que se han ubicado los haplotipos de *P. megistus*, con elevado valor de bootstrap (100); y otro en el que se han situado las especies *P. herreri*, *P. geniculatus* y *T. tibiamaculata*, con un valor estadístico de 66. Esto indicaría que es necesario comprobar estas relaciones filogenéticas con los análisis de los demás marcadores moleculares estudiados.

Las especies del género *Rhodnius* se han agrupado en un único clado en el que se han dividido dos grupos (con valor estadístico elevado de 100): en un primer grupo se han ubicado los haplotipos obtenidos para la especie *R. robustus* procedentes de Lima (Perú) y Venezuela con un valor de bootstrap elevado de 100; y en un segundo grupo, se han situado los haplotipos de la especie *R. pictipes* con valor estadístico elevado (100).

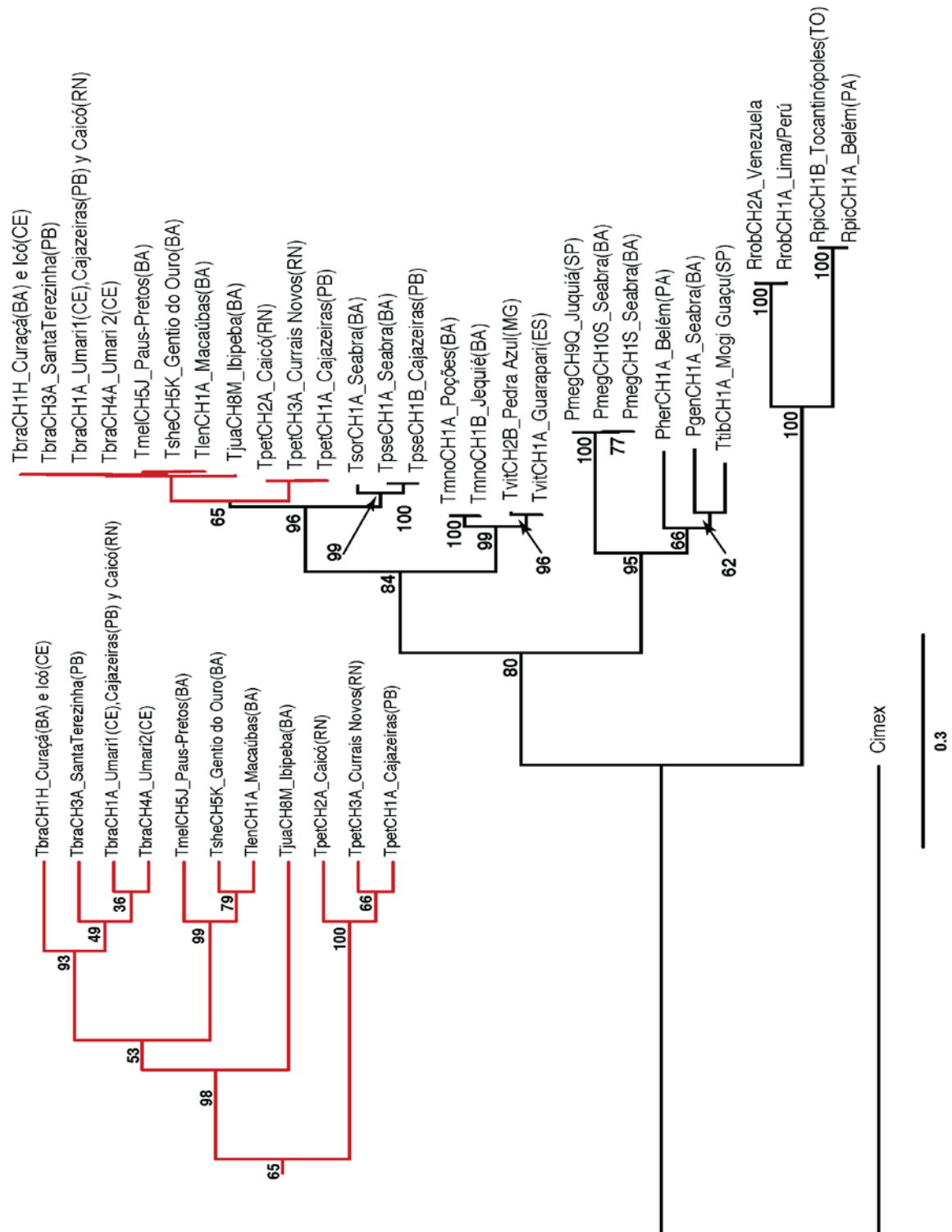


Figura 27. Árbol filogenético en base a la región intergénica completa de todas las especies estudiadas. Se ha utilizado la secuencia de la especie *C. lectularius* como grupo externo. La barra de escala indica el número de sustituciones por posición de la secuencia. El valor de soporte de los nodos ha sido obtenido con el software RAxML mediante el método filogenético de Máxima Verosimilitud, 1.000 réplicas. En rojo se muestra el clado que agrupa a las especies del complejo *T. brasiliensis*.

IV. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS

4.1.2. Análisis filogenéticos en base a los marcadores moleculares del ADN mitocondrial

En este apartado se analizan las relaciones filogenéticas en base a los genes 16S, ND1, CO1 y CytB de las especies de los géneros *Triatoma*, *Panstrongylus* y *Rhodnius* estudiadas en el presente trabajo.

Para este análisis filogenético se han incluido un total de 20 nuevos haplotipos obtenidos en el presente estudio: 13 pertenecientes al género *Triatoma*, 4 al género *Panstrongylus* y 3 al género *Rhodnius* (véase Tabla 137).

Cabe mencionar que para este análisis se han incluido las especies *P. lutzi* y *R. neglectus*, las cuales no han podido ser incluidas en el anterior análisis debido a la dificultad de obtener la secuencia de la región intergénica completa.

Como grupo externo se ha utilizado la especie *Cimex lectularius* (Heteroptera: Cimicidae): los genes analizados pertenecen al genoma mitocondrial completo de esta especie depositado en GenBank (NC030043; Kolokotronis *et al.*, 2016).

El árbol filogenético (Figura 28) ha sido construido utilizando el modelo evolutivo GTR + G, con un valor de logaritmo neperiano (-Ln) = 20659.97. El valor de bootstrap que se muestra en la Figura 28 ha sido obtenido por el método de Máxima Verosimilitud, 1.000 réplicas, a partir del software RAxML.

En el árbol filogenético obtenido (Figura 28) se ha podido observar que:

El clado monofilético que agrupa a las especies del complejo *T. brasiliensis* (destacado en color rojo) con un soporte estadístico elevado de 95, se divide en dos grupos principales: en uno de estos grupos, se reúnen los haplotipos de las especies *T. brasiliensis*, *T. juazeirensis*, *T. sherlocki*, *T. melanica* y *T. lenti*, y en un segundo grupo se ubica el haplotipo de la especie *T. petrocchiaae*.

El grupo en el que se han ubicado la gran mayoría de las especies de este complejo, en este análisis se ha dividido en 2 subgrupos (con un soporte estadístico elevado de 98): (i) uno que agrupa a los haplotipos de la especie *T. brasiliensis* y *T. juazeirensis*, con un alto soporte de bootstrap (99); y (ii) otro en el que se agrupan las especies *T. melanica*, *T. sherlocki* y *T. lenti*, con un soporte estadístico elevado (100).

Cabe resaltar que en el anterior árbol analizado, la especie *T. juazeirensis* se había ubicado en un grupo distinto al que se habían situado los haplotipos de *T. brasiliensis*. Teniendo en cuenta que estas 2 especies presentan una gran proximidad genética, el hecho de que en este análisis se hayan agrupado en una misma grupo, ratifica la utilidad de los genes mitocondriales para resolver los problemas inherentes a las relaciones entre especies muy cercanas.

La especie *T. lenti*, aparece directamente relacionada con las especies *T. melanica* y *T. sherlocki* con un elevado soporte estadístico (100), lo que confirma su clasificación como miembro del complejo *T. brasiliensis*. Hay que mencionar que *T. lenti*, en este análisis, aparece como especie hermana de *T. melanica* con un alto valor de bootstrap (100).

T. petrocchiaae se ha ubicado en un grupo distinto a las demás especies del complejo *T. brasiliensis* con un elevado valor estadístico de 95.

Con relación a *T. pseudomaculata* y *T. sordida*, se ha observado que aparecen claramente relacionadas entre sí, posicionándose en un nodo común con un elevado

soporte estadístico de 93. Además, se ha podido verificar que comparten un nodo común con las especies del complejo *T. brasiliensis* con un elevado valor de bootstrap (95).

T. melanocephala y *T. vitticeps* se han localizado en un nodo común con un soporte elevado (100), encontrándose muy próximas filogenéticamente. Además, se han ubicado más alejadas de las especies del complejo *T. brasiliensis*.

En cuanto a *T. tibiamaculata*, se mantiene su ubicación en el clado de las especies del género *Panstrongylus* con un soporte estadístico de 63.

El clado en el que se ubican las especies del género *Panstrongylus*, se ha dividido en 2 grupos principales (soporte estadístico de 63): en un primer grupo se encuentran las especies *P. geniculatus* y *P. lutzii* con valor de bootstrap significativo (75); y en un segundo grupo, se agrupan las especies *P. megistus*, *P. herreri* y *T. tibiamaculata*, aunque sin un soporte significativo de bootstrap (31).

Hay que mencionar que, en este análisis filogenético, *T. tibiamaculata* se ha posicionado en el mismo nodo que la especie *P. megistus* (con un soporte de 60), a diferencia de su ubicación más cercana a la especie *P. geniculatus* observada en el anterior análisis.

Las especies analizadas del género *Rhodnius* se han situado en un clado que se ha dividido en dos grupos con un elevado valor estadístico (100): un grupo en la que se han agrupado las especies *R. neglectus* y *R. robustus* con un valor de bootstrap elevado (100); y, en uno segundo grupo, se ha situado la especie *R. pictipes* con un elevado valor estadístico (100).

Los resultados observados para las especies del género *Rhodnius*, comprueban las posiciones taxonómicas dentro de los distintos grupos de especies crípticas a los que pertenecen: *R. neglectus* y *R. robustus* al “grupo robustus”, y *R. pictipes* al “grupo pictipes”.

IV. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS

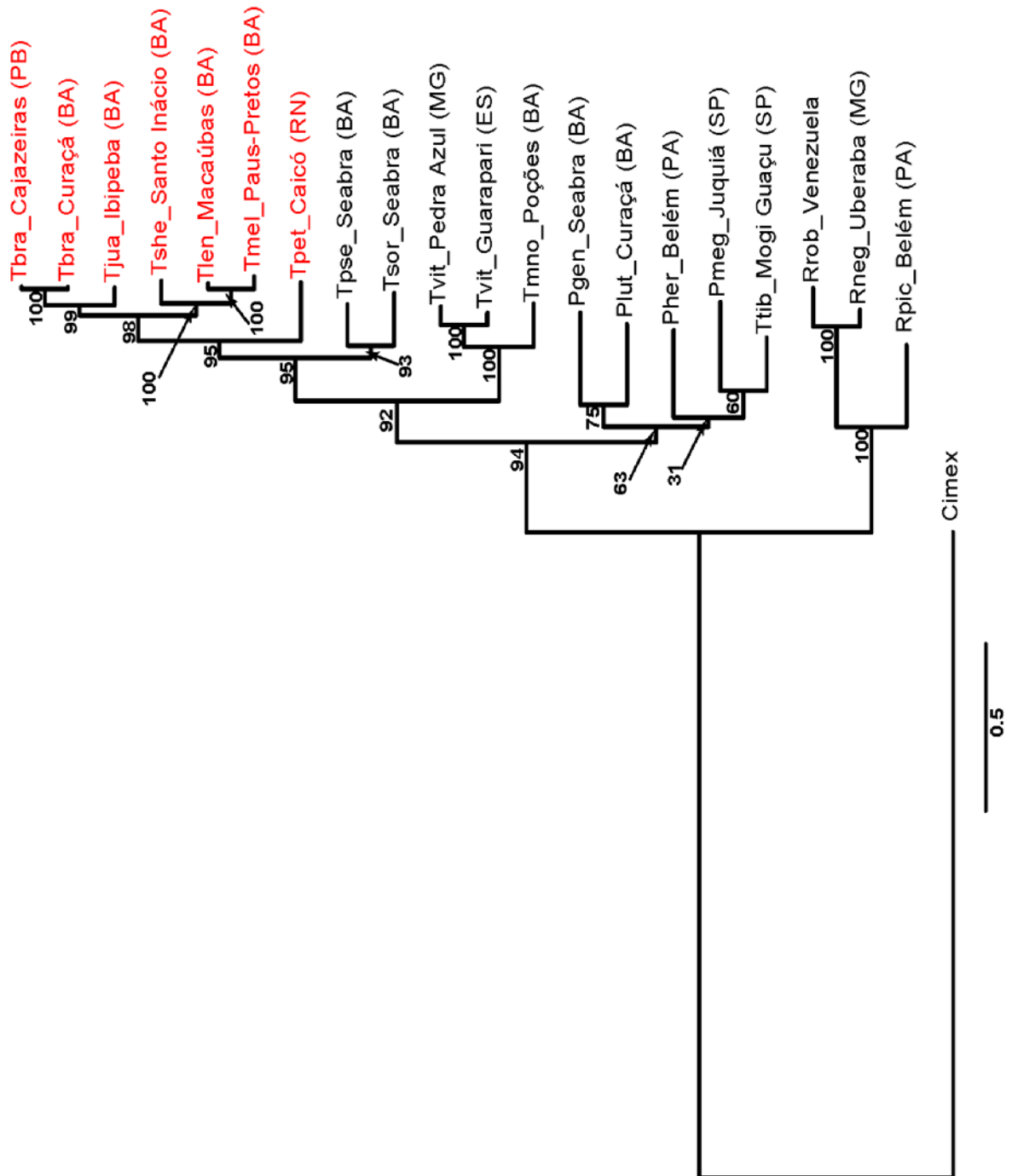


Figura 28. Árbol filogenético en base a los marcadores del ADN mitocondrial. Se ha utilizado la secuencia de la especie *C. lectularius* como grupo externo. La barra de escala indica el número de sustituciones por posición de la secuencia. El valor de soporte de los nodos ha sido obtenido con el software RAXML mediante el método filogenético de Máxima Verosimilitud, 1.000 réplicas.

4.1.3. Análisis filogenéticos conjunto de los marcadores moleculares del ADN ribosomal nuclear y del ADN mitocondrial

Con el objetivo de obtener un estudio filogenético más robusto, se llevó a cabo el análisis conjunto de las secuencias obtenidas del ADN ribosomal nuclear y del ADN mitocondrial.

Para este análisis filogenético se han incluido un total de 20 haplotipos obtenidos en el presente estudio: 13 pertenecientes al género *Triatoma*, 4 al género *Panstrongylus* y 3 al género *Rhodnius* (véase Tabla 137).

Como grupo externo se ha utilizado la especie *Cimex lectularius* (Heteroptera: Cimicidae):

- haplotipo “isolate 133 internal transcribed spacer 2 partial sequence” (KF018697; Balvín *et al.*, 2015);
- los genes analizados pertenecen al genoma mitocondrial completo de esta especie depositado en GenBank (NC030043; Kolokotronis *et al.*, 2016).

El árbol filogenético (Figura 29) ha sido construido utilizando el modelo evolutivo GTR + G, con un valor de logaritmo neperiano (-Ln) = 33195.47. El valor de bootstrap que se muestra en la Figura 29 ha sido obtenido por el método de Máxima Verosimilitud, 1.000 réplicas, a partir del software RAxML.

En el árbol filogenético obtenido (Figura 29) se han destacado los siguientes puntos:

Se observa la posición filogenética de las especies del complejo *T. brasiliensis* (destacado en color rojo) en un clado monofilético que se subdivide en dos grupos principales (con un soporte estadístico elevado de 95): uno en el que se agrupan las especies *T. brasiliensis*, *T. juazeirensis*, *T. sherlocki*, *T. melanica* y *T. lenti*, con un alto valor de bootstrap (99); y un segundo grupo en el que se ubica la especie *T. petrocchia*.

T. juazeirensis aparece compartiendo nodo con los haplotipos de la especie *T. brasiliensis* con un alto soporte estadístico (98), demostrando la proximidad genética entre estas dos especies.

Las especies *T. sherlocki*, *T. melanica* y *T. lenti* se han agrupado en un único nodo con un valor de bootstrap elevado (100), además se ha observado la posición de *T. melanica* y *T. lenti* como especies hermanas con un alto soporte (100).

Con relación a *T. pseudomaculata* y *T. sordida*, se ha podido observar la proximidad filogenética entre éstas, las cuales han compartido nodo con un soporte estadístico elevado (100). Además, destacar la ubicación cercana de estas dos especies con los miembros del complejo *T. brasiliensis* (con un valor de bootstrap de 96).

En cuanto a las especies *T. melanocephala* y *T. vitticeps*, se verifica la proximidad filogenética entre ellas, las cuales aparecen en un nodo común con un elevado soporte estadístico (100).

T. tibiamaculata se ha posicionado en el clado al que pertenecen las especies del género *Panstrongylus* con un soporte estadístico alto (87). En este análisis filogenético, se ha podido observar con una mayor robustez su clasificación dentro de este género, además, se posiciona en un grupo separado y que se aleja de la especie *P. megistus*.

El clado en el que se han ubicado las especies del género *Panstrongylus*, se ha dividido en dos grupos principales (soporte estadístico de 87): uno en el que se ubica la especie *P. megistus*; y un segundo en la que se posicionan las especies *P. herreri*, *P.*

IV. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS

geniculatus, *P. lutzii* y *T. tibiamaculata*. En este segundo grupo, se ha podido verificar una subdivisión en dos grupos distintos (con un soporte de 80), uno en el que aparecen las especies *P. herreri*, *P. geniculatus* y *P. lutzii*; y otro grupo en el que se posiciona la especie *T. tibiamaculata*.

Se ha verificado una mayor proximidad entre *P. geniculatus* y *P. lutzii*. Además, en este análisis estas dos especies han compartido nodo con un soporte elevado (100).

Para las especies del género *Rhodnius*, se han confirmado las mismas relaciones que los anteriores análisis filogenéticos. El clado en el que se ubican las especies de este género se ha dividido en dos grupos con un elevado soporte estadístico (100): un primer grupo en el que se posicionan las especies *R. neglectus* y *R. robustus* con un alto valor de bootsrap (100); y un segundo grupo en la que se ubica la especie *R. pictipes*.

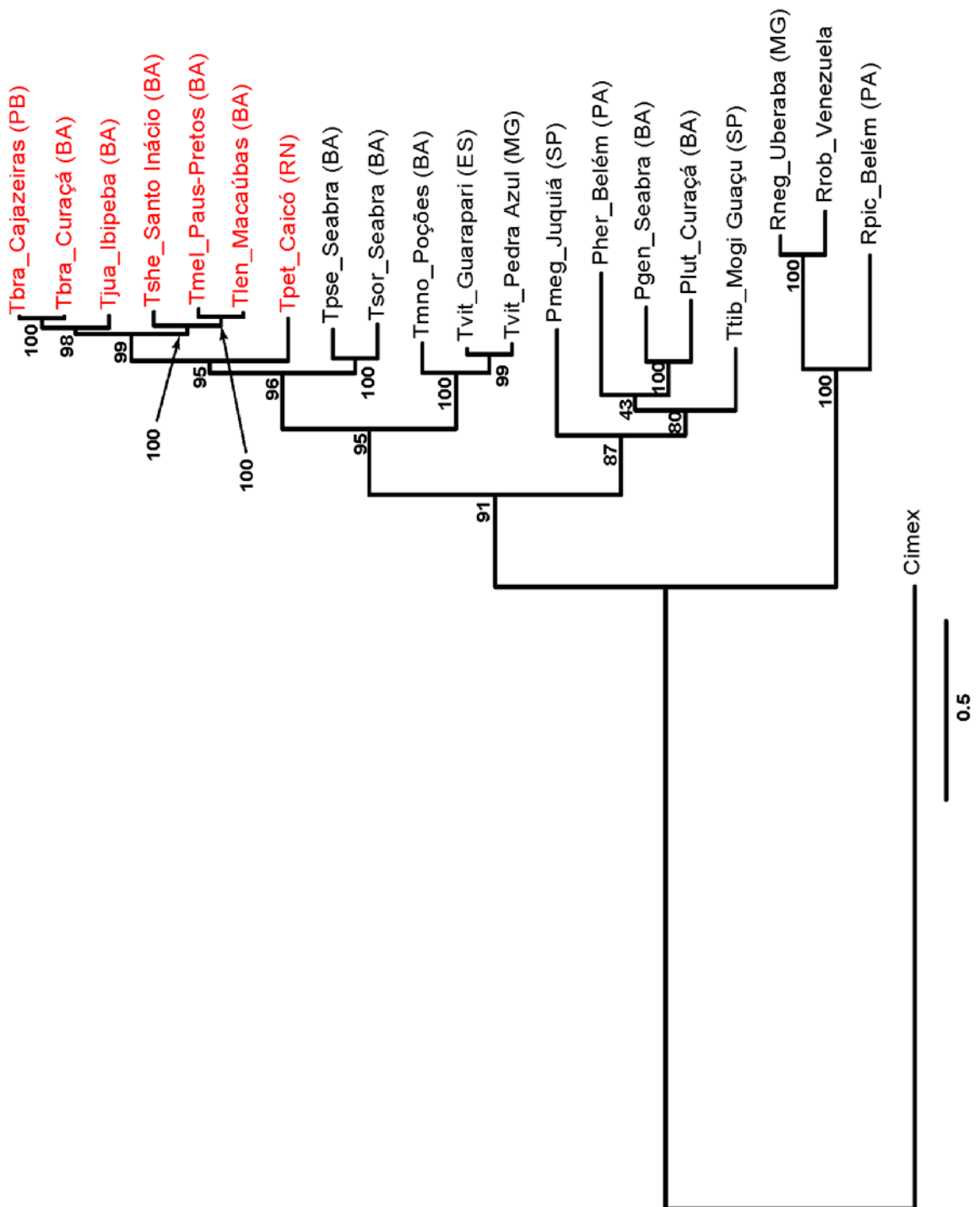


Figura 29. Árbol filogenético conjunto de los marcadores del ADN ribosomal nuclear y del ADN mitocondrial. Se ha utilizado la secuencia de la especie *C. lectularius* como grupo externo. La barra de escala indica el número de sustituciones por posición de la secuencia. El valor de soporte de los nodos ha sido obtenido con el software RAxML mediante el método filogenético de Máxima Verosimilitud, 1.000 réplicas.

IV. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS

<i>Especie</i>	<i>Procedencia geográfica</i>	<i>ITS-1, 5.8S, ITS-2</i>	<i>16S</i>	<i>ND1</i>	<i>CO1</i>	<i>CytB</i>
<i>Triatoma pseudomaculata</i>	Seabra (Bahia)	T.pse-CH1A Presente estudio	T.pse-16Sa Presente estudio	T.pse-ND1a Presente estudio	T.pse-CO1a Presente estudio	T.pse-CytBa Presente estudio
	<i>T. sordida</i>	Seabra (Bahia)	T.sor-CH1A Presente estudio	T.sor-16Sa Presente estudio	T.sor-ND1a Presente estudio	T.sor-CO1a Presente estudio
<i>T. brasiliensis</i>	Curaçá (Bahia)	T.bra-CH1H (presente estudio y GenBank: KJ125145)	T.bra-16Sa Presente estudio	T.bra-ND1a Presente estudio	T.bra-CO1a Presente estudio	T.bra-CytBa Presente estudio
	Cajazeiras (Paraíba)	T.bra-CH1A (presente estudio y GenBank: KJ125136)	T.bra-16Sc Presente estudio	T.bra-ND1d Presente estudio	T.bra-CO1c Presente estudio	T.bra-CytBc Presente estudio
<i>T. juazeirensis</i>	Ibipeba (Bahia)	T.jua-CH8M (presente estudio y GenBank: KJ125150)	T.jua-16Sb Presente estudio	T.jua-ND1a Presente estudio	T.jua-CO1b Presente estudio	Haplotipo del GenBank: KC249263
<i>T. sherlocki</i>	Santo Inácio (Bahia)	T.she-CH5K (presente estudio y GenBank: KJ125149)	T.she-16Sb Presente estudio	T.she-ND1c Presente estudio	T.she-CO1b Presente estudio	T.she-CytBb Presente estudio
<i>T. melanica</i>	Paus-Pretos (Bahia)	T.mel-CH5J Presente estudio	T.mel-16Sa Presente estudio	T.mel-ND1a Presente estudio	T.mel-CO1a Presente estudio	T.mel-CytBa Presente estudio
<i>T. lenti</i>	Macaúbas (Bahia)	T.len-CH1A Presente estudio	T.len-16Sa Presente estudio	T.len-ND1b Presente estudio	T.len-CO1b Presente estudio	T.len-CytBb Presente estudio
<i>T. petrocchiai</i>	Caicó (Rio Grande do Norte)	T.pet-CH2A Presente estudio	T.pet-16Sc Presente estudio	T.pet-ND1a Presente estudio	T.pet-CO1a Presente estudio	T.pet-CytBa Presente estudio
<i>T. melanocephala</i>	Poções (Bahia)	T.mno-CH1A Presente estudio	T.mno-16Sa Presente estudio	T.mno-ND1a Presente estudio	T.mno-CO1a Presente estudio	T.mno-CytBa Presente estudio
<i>T. tibiamaculata</i>	Mogi Guaçu (São Paulo)	T.tib-CH1A Presente estudio	T.tib-16Sa Presente estudio	T.tib-ND1a Presente estudio	T.tib-CO1a Presente estudio	T.tib-CytBa Presente estudio
<i>T. vitticeps</i>	Guarapari (Espírito Santo)	T.vit-CH1A Presente estudio	T.vit-16Sa Presente estudio	T.vit-ND1a Presente estudio	-	T.vit-CytBa Presente estudio
	Pedra Azul (Minas Gerais)	T.vit-CH2B Presente estudio	T.vit-16Sb Presente estudio	-	T.vit-CO1a Presente estudio	-
<i>Panstrongylus megistus</i>	Juquiá (São Paulo)	P.meg-CH9Q (presente estudio y GenBank: HF678470)	P.meg-16Sb Presente estudio	P.meg-ND1b Presente estudio	P.meg-CO1b Presente estudio	P.meg-CytBb Presente estudio
<i>P. geniculatus</i>	Seabra (Bahia)	P.gen-CH1A Presente estudio	P.gen-16Sa Presente estudio	P.gen-ND1a Presente estudio	-	Haplotipo del GenBank: KX109903
<i>P. lutzi</i>	Curaçá (Bahia)	-	P.lut-16Sa Presente estudio	-	-	Haplotipo del GenBank: KC249227
<i>P. herreri</i>	Belém (Pará)	P.her-CH1A Presente estudio	P.her-16Sa Presente estudio	P.her-ND1a (presente estudio y GenBank: AM980627)	P.her-CO1a Presente estudio	P.her-CytBa Presente estudio
<i>Rhodnius neglectus</i>	Frutal (Minas Gerais)	-	-	R.neg-ND1a Presente estudio	-	-

IV. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS

	Uberaba (Minas Gerais)	-	R.neg-16Sb Presente estudio	-	R.neg-CO1a Presente estudio	R.neg-CytBa Presente estudio
<i>R. robustus</i>	Lima (Perú)	R.rob-CH1A Presente estudio	R.rob-16Sa Presente estudio	-	-	R.rob-CytBa Presente estudio
	Venezuela	R.rob-CH2A Presente estudio	R.rob-16Sb Presente estudio	R.rob-ND1a (presente estudio y GenBank: AM980633)	-	R.rob-CytBb Presente estudio
<i>R. pictipes</i>	Tocantínópolis (Tocantins)	R.pic-CH2B Presente estudio	R.pic-16Sa Presente estudio	R.pic-ND1b Presente estudio	R.pic-CO1b Presente estudio	R.pic-CytBb Presente estudio
<i>Cimex lectularius</i> (Outgroup)		Haplotipo del GenBank: KF018697	Haplotipo del GenBank: NC030043	Haplotipo del GenBank: NC030043	Haplotipo del GenBank: NC030043	Haplotipo del GenBank: NC030043

(-) No disponible

Tabla 137. Especies, procedencia geográfica y haplotipos (con número de acceso de GenBank), de los diferentes marcadores moleculares utilizados en los análisis filogenéticos llevados a cabo en el presente estudio (ITS-1, 5.8S, ITS-2: marcadores moleculares del ADN ribosomal nuclear; 16S, ND1, CO1 y CytB: marcadores del ADN mitocondrial).

CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

5.1. LOS MARCADORES MOLECULARES Y LA TAXONOMÍA DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS

El principal objetivo del presente estudio es la caracterización y comparación a nivel molecular de los principales vectores de la enfermedad de Chagas en Brasil. Los diferentes marcadores moleculares analizados (ITS-1, 5.8S e ITS-2, del ADN ribosomal nuclear, y el 16S, ND1, CO1 y CytB, del ADN mitocondrial) han resultado ser de relevante importancia a la hora de analizar la diversidad genética y las relaciones filogenéticas de las diferentes especies de triatomíneos estudiados procedentes de Brasil y países limítrofes.

Como resultado del análisis de estos diferentes marcadores moleculares, se ha podido obtener un gran número de haplotipos nucleotídicos y aminoacídicos de los especímenes procedentes de distintas localizaciones geográficas. Todo ello contribuirá a la vigilancia epidemiológica, al monitoramiento de la expansión geográfica de estos vectores y al control del proceso de domiciliación y transmisión de la enfermedad.

A continuación se discutirá la diversidad genética y la taxonomía de las diferentes especies estudiadas en base a los marcadores moleculares y análisis filogenéticos.

5.1.1. Género *Triatoma*

Esta sección se dividirá en diferentes partes de acuerdo con los diferentes grupos de especies del género *Triatoma* estudiadas.

Triatoma pseudomaculata y *Triatoma sordida*

Los haplotipos de los diferentes marcadores moleculares analizados para la especie *T. pseudomaculata*, han permitido diferenciar entre las localidades de procedencia de las muestras: Seabra/Bahia (silvestre) y Cajazeiras/Paraíba (peridomicilio).

El análisis de la región intergénica completa de *T. pseudomaculata*, obtenida por primera vez para esta especie en el presente estudio, ha proporcionado 2 haplotipos nuevos con 2 mutaciones en el ITS-1 e idéntico ITS-2 cuando comparados entre ellos.

Para el gen 16S de *T. pseudomaculata*, se han obtenido 2 haplotipos, uno para los especímenes procedentes de Seabra/Bahia y otro para el espécimen de Cajazeiras/Paraíba. El haplotipo de la muestra procedente de la localidad de Cajazeiras ha sido idéntico al haplotipo del gen 16S de esta especie publicado en GenBank y procedente del Estado de Ceará (KC249050; Justi *et al.*, 2014).

Para los demás genes del ADN mitocondrial, todos los haplotipos nucleotídicos y aminoacídicos obtenidos han sido nuevos, con las longitudes más largas descritas hasta la fecha y con el gen ND1 secuenciado al completo por primera vez para esta especie. Además, es la primera vez que se obtienen las secuencias de los distintos marcadores moleculares de especímenes de *T. pseudomaculata* de la localidad de Seabra/Bahia.

Entre los 2 haplotipos del gen CO1 obtenidos para las muestras procedentes de los Estados de Bahia (silvestre) y Paraíba (peridomicilio), se han podido observar 10 posiciones variables entre los 2 haplotipos nucleotídicos y 5 posiciones variables entre las dos secuencias aminoacídicas comparadas. Este hecho resalta la necesidad de ampliar los estudios entre muestras de esta especie procedente de distintos ecotopos de estos 2

V. DISCUSIÓN

Estados brasileños con el objetivo de verificar si las diferencias halladas podrían indicar cambios adaptativos al entorno doméstico.

Para la especie *T. sordida* (todas las muestras procedentes de Seabra/Bahia), se ha obtenido 1 haplotipo de la región intergénica completa, el cual ha presentado 10 mutaciones transversionales en el ITS-1 cuando comparado con el haplotipo de la región intergénica completa de esta especie publicado en GenBank (AJ576063; Barges *et al.*, 2006) y procedente de Mato Grosso. Para el gen 16S de esta especie, se ha obtenido 1 haplotipo. Este haplotipo del gen 16S de *T. sordida* ha sido idéntico al haplotipo del gen 16S de esta especie publicado en GenBank (KC249075; Justi *et al.*, 2014) procedente del Estado de Mato Grosso do Sul.

Cabe resaltar que los haplotipos nucleotídicos de los genes mitocondriales obtenidos en el presente estudio para *T. sordida* han presentado un gran número de posiciones variables cuando comparados con los haplotipos publicados en GenBank y procedentes de Bolivia: 40 mutaciones en el gen ND1 y 41 en el gen CO1. Este hecho podría indicar la gran variabilidad genética que hay entre las poblaciones de esta especie procedentes de Brasil y países limítrofes, ratificando lo observado por Pessoa *et al.* (2016).

En cuanto a la posición taxonómica de *T. pseudomaculata* y *T. sordida*, los árboles filogenéticos de todos los marcadores moleculares analizados en la presente Tesis (Capítulo IV) han ratificado el estatus de estos triatominos, los cuales presentan una gran proximidad genética entre ellos (compartiendo nodo con altos valores estadísticos en los diferentes árboles analizados), y muy cercano a las especies del complejo *T. brasiliensis*, lo que confirmaría la posición de *T. pseudomaculata* (que pertenece al subcomplejo Maculata) y *T. sordida* (que pertenece al subcomplejo Sordida) dentro del complejo Infestans, al igual que las especies del subcomplejo Brasiliensis. Estos resultados obtenidos ratifican los anteriores estudios filogenéticos de Schofield & Galvão (2009); Gardim *et al.* (2014) y Oliveira *et al.* (in press).

Complejo *T. brasiliensis*

Actualmente, se ha propuesto una revisión y nueva clasificación para este grupo de especies, la cual incluye las especies *T. brasiliensis*, *T. juazeirensis*, *T. sherlocki*, *T. melanica*, *T. lenti*, *T. petrocchiae* y *T. bahiensis* (Mendonça *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, in press).

A partir de los análisis de las secuencias de los diferentes marcadores moleculares y de los árboles filogenéticos obtenidos en el presente trabajo, se han analizado las posiciones taxonómicas de las especies que pertenecen a este complejo, así como la inclusión de *T. lenti* y *T. petrocchiae* (la especie *T. bahiensis* no ha sido incluida en este estudio).

Triatoma brasiliensis

Los 4 haplotipos obtenidos de la región intergénica completa de esta especie han sido idénticos a aquéllos publicados en GenBank, excepto uno nuevo ITS-2 de 1 muestra procedente de la localidad de Umari en el Estado de Ceará.

Las muestras procedentes de Caicó/Rio Grande do Norte y Cajazeiras/Paraíba han proporcionado 1 haplotipo de la región intergénica completa, que ha sido igual al publicado en GenBank T.bra-CH1A (KJ125136; Costa *et al.*, 2016) procedente del Estado de Pernambuco. Para las muestras de Santa Terezinha/Paraíba, el haplotipo

obtenido ha sido igual al T.bra-CH3A depositado en GenBank (KJ125138; Costa *et al.*, 2016) procedente del Estado de Ceará.

Cabe destacar que las muestras procedentes de Icó/Ceará y las muestras de Curaçá/Bahia han proporcionado haplotipos de la región intergénica completa idénticos al haplotipo publicado T.bra-CH1H (GenBank: KJ125145; Costa *et al.*, 2016) de *T. b. macromelasoma* procedente de Petrolina/Pernambuco, lo que podría indicar el primer reporte de este híbrido en esta localidad.

El hecho de que los diferentes haplotipos de la región intergénica completa de *T. brasiliensis* obtenidos en el presente estudio hayan sido iguales a los haplotipos de esta especie publicados en GenBank procedentes de distintas localidades, además de confirmar que los marcadores del ADN ribosomal nuclear son conservados, podría indicar que hay un flujo genético entre los 4 Estados brasileños de donde procedían las muestras analizadas (Bahia, Ceará, Paraíba y Rio Grande do Norte) y el Estado de Pernambuco.

Todos los haplotipos nucleotídicos de los genes mitocondriales de esta especie obtenidos en el presente estudio han sido nuevos y han coincidido con las siguientes distribuciones geográficas: (i) haplotipos procedentes de Bahia y Umari/Ceará; (ii) haplotipos procedentes de Icó/Ceará; (iii) haplotipos del Estado de Paraíba y (iv) haplotipos de Caicó/Rio Grande do Norte, lo que confirma que estos marcadores son más apropiados para los análisis interpopulacionales que los marcadores ribosomales nucleares (Mas-Coma & Bargues, 2009).

El análisis de las diferencias par a par entre los distintos haplotipos de los diferentes marcadores moleculares de *T. brasiliensis* obtenidos en el presente estudio, ha permitido verificar que el mayor número de diferencias se encuentra entre el haplotipo obtenido para los especímenes de Icó/Ceará y los demás haplotipos obtenidos para esta especie, con valores que van desde 1 diferencia nucleotídica en la región intergénica completa, hasta 13 diferencias en el gen CytB. Estos resultados podrían indicar que las muestras procedentes de Icó/Ceará podrían pertenecer a la subespecie *T. b. macromelasoma*, aunque serían necesarios estudios más amplios para confirmación de la presencia de este híbrido en esta localidad del Estado de Ceará.

La diversidad genética de *T. brasiliensis* encontrada en Brasil podría estar relacionada con las características geográficas de las distintas localidades del Nordeste brasileño, región donde esta especie está ampliamente distribuida y está considerado el principal vector de la enfermedad de Chagas, además de su gran capacidad de adaptación a los diferentes ecotopos (Costa *et al.*, 2013; Costa *et al.*, 2016).

Con relación a la taxonomía de esta especie, ha sido posible confirmar, mediante los análisis de los árboles filogenéticos obtenidos en el presente trabajo (Capítulo IV), su proximidad a los demás miembros del complejo *T. brasiliensis*, con valores elevados de bootstrap, además de su mayor cercanía a la especie *T. juazeirensis*.

Triatoma juazeirensis

Los haplotipos de la región intergénica completa de todas las muestras estudiadas de esta especie, procedentes de Ibipêba y Juazeiro en el Estado de Bahia, obtenidos en el presente estudio, han sido idénticos al haplotipo T.jua-CH8M publicado en GenBank (KJ125150; Costa *et al.*, 2016) y procedente de Juazeiro/Bahia.

V. DISCUSIÓN

Para el marcador 16S, se ha observado que el haplotipo obtenido (longitud de 542 pb) para las muestras procedentes de Juazeiro, han presentado un fragmento de 527 pb igual al haplotipo T.jua-16S isolate209 publicado en GenBank (KC249026; Justi *et al.*, 2014) y procedente de Uibaí/Bahia.

El análisis del gen ND1 completo, obtenido por primera vez para esta especie, ha originado 2 haplotipos nucleotídicos y 2 aminoacídicos distintos (1 correspondiente a las muestras de Ibipoba y otro a las muestras de Juazeiro), aunque las posiciones variables observadas entre ellos no hayan sido parsimónicamente informativas.

Para los genes CO1 y CytB, se han obtenido 3 y 2 haplotipos nucleotídicos diferentes, respectivamente. Para el gen CO1, las muestras procedentes de Ibipoba han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos nuevos, mientras que las muestras de Juazeiro han proporcionado 1 haplotipo nuevo. Para el gen CytB, se ha obtenido 1 haplotipo nucleotídico nuevo correspondiente a los especímenes de Juazeiro, ya que las muestras procedentes de Ibipoba habían sido previamente analizadas en un trabajo anterior (Justi *et al.*, 2014). Los haplotipos aminoacídicos de los genes CO1 y CytB obtenidos y aquéllos ya publicados, no han presentado posiciones variables entre ellos.

Estos resultados indicarían, que los marcadores del ADN ribosomal nuclear son más conservados (1 haplotipo de la región intergénica completa para todas las muestras analizadas, mientras que los marcadores mitocondriales han proporcionado varios haplotipos para las muestras procedentes de diferentes localidades geográficas en el Estado de Bahia) y que, hasta el momento, esta especie, que se encuentra solamente en este Estado de Brasil, no ha presentado cambios mutacionales no-silenciosos que modifiquen las secuencias aminoacídicas de los genes CO1 y CytB.

La posición taxonómica de esta especie dentro del complejo *T. brasiliensis* ha sido confirmada mediante todos los árboles filogenéticos analizados en el presente trabajo (Capítulo IV), además, se ha podido confirmar su ubicación más próxima genéticamente de *T. brasiliensis* con valores de bootstrap elevados.

Triatoma sherlocki

Es la incorporación más reciente al complejo *T. brasiliensis* y, además, es la más atípica de todas las especies, conforme se ha visto en el Capítulo I de la presente Tesis. Los resultados de los análisis de la región intergénica completa de esta especie han proporcionado el mismo haplotipo para todas las muestras analizadas procedentes de diferentes localidades del Estado de Bahia (único Estado donde esta especie es encontrada hasta el momento). Este haplotipo obtenido ha sido idéntico al haplotipo T.she-CH5K de Gentio do Ouro/Bahia publicado en GenBank (KJ125149; Costa *et al.*, 2016).

Para el gen 16S, se han obtenido 2 haplotipos diferentes: uno idéntico al haplotipo publicado T.she-16S isolate80 (sin información disponible de la procedencia y con una longitud de 542 pb) (GenBank: KC249068; Justi *et al.*, 2014), para las muestras procedentes de Gentio do Ouro; y otro haplotipo, con solamente un nucleótido de diferencia del haplotipo anterior, para las muestras de Santo Inácio, municipio de Gentio do Ouro/Bahia.

Para el gen ND1 completo, cuyos haplotipos han sido obtenidos por primera vez para esta especie, los análisis de las secuencias han proporcionado 3 haplotipos nucleotídicos diferentes. Los haplotipos aminoacídicos de todas las muestras de Gentio do Ouro han resultado ser iguales entre ellos.

El análisis de las secuencias obtenidas del gen CO1 de *T. sherlocki*, ha proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos y 2 haplotipos aminoacídicos diferentes, según la procedencia geográfica de las muestras: especímenes procedentes de la localidad de Bahia, cuyo dato de la localización exacta no se ha podido obtener; y especímenes procedentes de Gentio do Ouro. Los 2 haplotipos nucleotídicos obtenidos, con 4 posiciones variables entre ellos, han proporcionado 2 secuencias aminoacídicas distintas con 1 aminoácido de diferencia entre ellas.

Para el gen CytB, se han obtenido 2 haplotipos nucleotídicos y 2 haplotipos aminoacídicos nuevos, que, al igual que el gen CO1, han coincidido con las diferentes procedencias geográficas de las muestras. Entre los 2 haplotipos nucleotídicos obtenidos, se ha observado un total de 8 mutaciones transicionales, las cuales han proporcionado secuencias aminoacídicas con apenas 1 aminoácido de diferencia entre ellas.

Las diferencias nucleotídicas observadas entre los haplotipos de los diferentes genes mitocondriales obtenidos, han generado posiciones variables en las secuencias aminoacídicas, lo que podría indicar cambios adaptativos a las diferentes zonas de procedencia de las muestras (Hwang & Kim, 1999; Saccone *et al.*, 2000; Simon *et al.*, 2006).

En cuanto a la posición taxonómica de *T. sherlocki*, los análisis filogenéticos para todos los marcadores moleculares estudiados en el presente trabajo (Capítulo IV), han indicado que esta especie pertenece al complejo *T. brasiliensis* y que se posiciona como especie hermana de *T. melanica*, conforme se ha visto en trabajos anteriores (Mendonça *et al.*, 2009; 2014; Almeida *et al.*, 2012; Correia *et al.*, 2013; Gardim *et al.*, 2014; Costa *et al.*, 2016).

Morfológicamente, se ha visto como *T. sherlocki* es la especie más atípica cuando comparada con los demás miembros del complejo *T. brasiliensis*, destacándose sus alas cortas que le impiden volar, efecto que contrarresta con patas más largas que las demás especies del complejo. Estas características ayudan a la infestación activa de los domicilios, ya que pueden entrar andando desde el ambiente selvático y no volando puesto que, muchas veces los ecotopos naturales se encuentran a menos de 200 m de distancia de las casas (Almeida *et al.*, 2009).

Se pensaba que *T. sherlocki* era una especie exclusivamente selvática y endémica del estado de Bahia (Alevi *et al.*, 2013), al igual que *T. melanica*, consideradas especies hermanas (Monteiro *et al.*, 2004). Actualmente, se ha hallado la especie *T. sherlocki* dentro de algunos domicilios, lo que hace pensar que son necesarios estudios constantes acerca de su distribución geográfica y su proceso de domiciliación (Almeida *et al.*, 2009; 2012; Costa & Lorenzo, 2009; Costa *et al.*, 2014).

Triatoma melanica

Los ejemplares estudiados de *T. melanica*, todos procedentes de la localidad de Paus-Pretos en el Estado de Bahia, han generado haplotipos nucleotídicos y aminoacídicos nuevos para los diferentes marcadores moleculares analizados, excepto para el ITS-1.

Las secuencias de la región intergénica completa obtenidas en el presente trabajo para esta especie, han generado un nuevo haplotipo combinado: T.mel-CH5J, cuyo ITS-1 (haplotipo J) es idéntico al publicado en GenBank (KJ125147 de Urandí/Bahia; Costa *et al.*, 2016), y un nuevo ITS-2.

V. DISCUSIÓN

Todos los haplotipos de los genes mitocondriales obtenidos para esta especie han sido nuevos. Para el gen 16S, se ha observado que el haplotipo de *T. melanica* obtenido en el presente estudio (con una longitud de 542 pb), ha presentado un fragmento de 530 pb igual al publicado en GenBank (KC249041 y sin información disponible de la procedencia; Justi *et al.*, 2014).

Los análisis de las secuencias obtenidas de los genes ND1, CO1 y CytB de *T. melanica*, han proporcionado 1 haplotipo nucleotídico y 1 aminoacídico nuevos para cada gen, además, cabe resaltar que se han obtenido por primera vez las secuencias completas de los genes ND1 y CytB de esta especie. Los haplotipos nucleotídicos de los genes CO1 y CytB obtenidos en el presente estudio han sido comparados con los haplotipos depositados en GenBank, procedentes de Minas Gerais, y no se han observado cambios significativos en las secuencias aminoacídicas generadas.

Es la primera vez que se caracteriza genéticamente especímenes de *T. melanica* procedentes de Paus-Pretos/Bahia, localidad que se encuentra en la zona fronteriza con el Estado de Minas Gerais. Este hecho merece especial atención debido a que las poblaciones de esta especie, a pesar de estar restringidas geográficamente entre los Estados brasileños de Bahia y Minas Gerais, son más susceptibles a cambios climáticos, lo que puede llevarlas hacia la extinción o hacia un aumento del efecto de la deriva genética a la que están sometidas (Mendonça *et al.*, 2009; Costa *et al.*, 2014; Souza *et al.*, 2015).

Los análisis taxonómicos de todos los marcadores moleculares han confirmado su situación dentro del complejo *T. brasiliensis* y su proximidad filogenética a *T. sherlocki* y *T. lenti*. Con esta última, ha compartido nodo en todos los árboles analizados en el presente estudio (Capítulo IV), lo que confirmaría el estatus de especies hermanas, así como la inclusión de *T. lenti* dentro de este complejo de especies (Mendonça *et al.*, 2009; Gardim *et al.*, 2014; Mendonça *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, in press).

Triatoma lenti* y *Triatoma petrocchiae

Estas dos especies han sido muy poco estudiadas, siendo clasificadas por Schofield & Galvão (2009), como miembros del subcomplejo Brasiliensis. Actualmente, con el incremento de los diversos estudios citogenéticos, morfológicos y filogenéticos de estas dos especies (Alevi *et al.*, 2012b; 2013a; Gardim *et al.*, 2014; Justi *et al.*, 2014), no solo se ha podido confirmar sus posiciones dentro de este subcomplejo, como también ha sido posible predecir la inclusión de las dos como miembros del complejo *T. brasiliensis*, siendo *T. lenti* especie hermana de *T. melanica* (Mendonça *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, in press).

A partir de los análisis de los diferentes marcadores moleculares hechos en el presente trabajo para estos dos triatominos, se ha podido obtener por primera vez las secuencias de la región intergénica completa de ambas especies, resultando en 1 haplotipo para todas las muestras analizadas de *T. lenti* (procedentes del Estado de Bahia), y 3 haplotipos para las muestras de *T. petrocchiae* (muestras procedentes de los Estados de Paraíba y Rio Grande do Norte). Los 3 haplotipos de la región intergénica completa de *T. petrocchiae* se diferencian solo en el ITS-2 (4 diferencias nucleotídicas entre ellos), confirmando que este espaciador es más susceptible a sufrir mutaciones que el ITS-1 (Mas-Coma & BARGUES, 2009).

Para los marcadores del ADN mitocondrial, casi todos obtenidos por primera vez, se ha observado que las secuencias del 16S de *T. lenti* han generado 1 solo haplotipo para

todas las muestras analizadas. Las secuencias analizadas de *T. petrocchiae* han resultado en 4 haplotipos diferentes (con 5 posiciones variables entre ellos, de las cuales 4 de éstas han sido parsimónicamente informativas): 2 haplotipos para las muestras del Estado de Paraíba y 2 haplotipos para las muestras procedentes del Estado de Rio Grande do Norte.

Los haplotipos generados para la ND1 (gen completo) han sido obtenidos por primera vez para estas dos especies. Las secuencias analizadas de este marcador para *T. lenti*, han resultado en 2 haplotipos nucleotídicos y 2 aminoacídicos diferentes, uno para las muestras de la localidad de Bahia, cuya localización exacta no ha sido informada, y otro para las muestras de Macaúbas/Bahia. Entre los 2 haplotipos aminoacídicos se ha observado un cambio en el aminoácido 256: Isoleucina para las muestras de Macaúbas y Metionina para las otras muestras de Bahia. Para *T. petrocchiae*, se han obtenido 2 haplotipos nucleotídicos diferentes, los cuales han proporcionado 1 único haplotipo aminoacídico.

Las secuencias analizadas del gen CO1 de *T. lenti*, han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos nuevos con 2 bases nucleotídicas diferentes entre ellos, que, al ser diferencias en la tercera posición del codón (mutaciones silenciosas), no han generado posiciones variables entre las secuencias aminoacídicas. Para *T. petrocchiae*, se ha obtenido 2 haplotipos nucleotídicos diferentes para la CO1, que, al igual que para *T. lenti*, las diferencias entre los nucleótidos han sido mutaciones sinónimas y no han generado haplotipos aminoacídicos diferentes.

Los análisis del gen CytB, han generado 2 haplotipos nucleotídicos y 2 haplotipos aminoacídicos diferentes para *T. lenti* (gen completo), cuyas posiciones variables han sido, en su gran mayoría, mutaciones silenciosas, salvo para el aminoácido 15: Valina para las muestras de Macaúbas e Isoleucina para las otras muestras de Bahia. Para *T. petrocchiae*, los análisis de este gen ha proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos y 2 haplotipos aminoacídicos con 1 único aminoácido diferente entre ellos.

Todos los análisis filogenéticos han confirmado la inclusión de *T. lenti* y *T. petrocchiae* dentro del complejo *T. brasiliensis*: *T. lenti* aparece compartiendo nodo con *T. melanica* (presentando altos valores de bootstrap) en los árboles filogenéticos analizados en el presente trabajo (Capítulo IV), confirmando la relación de especies hermanas; la especie *T. petrocchiae* se ha situado, en todos los árboles obtenidos en el presente estudio, en el mismo clado monofilético que las demás especies del complejo *T. brasiliensis*, posicionándose como un grupo hermano de los demás miembros de este complejo.

T. lenti y *T. petrocchiae*, antes consideradas especies “raras” y poco frecuentes, vienen ganando importancia como vectores de la enfermedad de Chagas debido al incremento de especímenes hallados en el entorno domiciliar y su capacidad de transmitir *T. cruzi* (Carcavallo *et al.*, 1999a; Galvão *et al.*, 2003; Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2012; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014). Resaltar, además, que debido a la gran similitud morfológica entre *T. brasiliensis* y *T. petrocchiae*, y al potencial vectorial de las demás especies del complejo *T. brasiliensis* (Almeida *et al.*, 2016; Folly-Ramos *et al.*, 2016), al cual pertenecen estas dos especies, es fundamental la caracterización genética y constante monitoramiento de estas especies con el fin de identificarlas correctamente y de que no haya confusión por parte de los agentes de campañas de control.

V. DISCUSIÓN

Triatoma melanocephala, *Triatoma tibiamaculata* y *Triatoma vitticeps*

Estas tres especies han sido inicialmente clasificadas por Schofield & Galvão (2009), como miembros del subcomplejo Brasiliensis, aunque la posición taxonómica de *T. tibiamaculata* y *T. vitticeps* era dudosa. Posteriormente, diversos estudios las han clasificado fuera de este subcomplejo y más cercanas a otras especies e, incluso, a otros géneros, como es el caso de *T. tibiamaculata*, más próxima filogenéticamente a las especies del género *Panstrongylus* (Alevi *et al.*, 2012a; 2013a; 2014; Gardim *et al.*, 2014; Justi *et al.*, 2014).

Las muestras analizadas de *T. melanocephala* en el presente estudio, todas procedentes del Estado de Bahia, han generado nuevos haplotipos para los diferentes marcadores moleculares: para la región intergénica completa, obtenida por primera vez para esta especie, se ha conseguido 1 haplotipo nuevo para todas las secuencias analizadas; para el gen 16S, se han obtenido 2 haplotipos diferentes, uno correspondiente a las muestras de Jequié y otro para las muestras de Poções; las secuencias del gen ND1 analizadas (gen completo y obtenidas por primera vez en el presente trabajo) han generado 2 haplotipos nucleotídicos y 2 aminoacídicos diferentes, uno para las muestras procedentes de Jequié y el otro correspondiente a las muestras de Poções.

Los análisis del gen CO1 de *T. melanocephala*, han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos y 2 aminoacídicos nuevos, según las dos localidades ya mencionadas para el marcador ND1. Entre los 2 haplotipos nucleotídicos del gen CO1 de esta especie obtenidos en el presente estudio, se han observado un total de 7 mutaciones. Éstas han sido en su gran mayoría mutaciones silenciosas, ya que han proporcionado secuencias aminoacídicas con 1 único aminoácido de diferencia entre ellas.

Las secuencias analizadas del gen CytB de esta especie, han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos y 2 aminoacídicos nuevos. Se ha podido observar un gran número de posiciones variables entre los haplotipos nucleotídicos del gen CytB obtenidos (14 mutaciones), lo que ha proporcionado haplotipos aminoacídicos con 8 posiciones variables entre ellos.

Los análisis de los diferentes haplotipos de los genes mitocondriales obtenidos en el presente trabajo, resaltan la gran diversidad genética observada para *T. melanocephala*, ya que se han hallado un número importante de mutaciones entre haplotipos obtenidos de especímenes procedentes de localidades muy próximas de un mismo Estado brasileño.

Los resultados de las secuencias analizadas de *T. tibiamaculata* (todas las muestras procedentes de Mogi Guaçu/São Paulo), han permitido obtener haplotipos nuevos para todos los marcadores moleculares estudiados. Se ha secuenciado por primera vez la región intergénica completa de este triatomino, con 1 haplotipo para todas las muestras analizadas; los resultados para el marcador 16S han proporcionado 1 haplotipo nuevo con un fragmento de 532 pb idéntico al haplotipo T.tib-16S isolate 177 depositado en GenBank y procedente de Mogi Guaçu (KC249080; Justi *et al.*, 2014). Las secuencias del marcador ND1 (gen completo y secuenciado por primera vez) de esta especie, han generado 1 haplotipo nucleotídico y 1 aminoacídico nuevos.

Para los genes CO1 y CytB de *T. tibiamaculata*, se han obtenido 1 haplotipo nucleotídico y 1 aminoacídico nuevos para cada gen analizado. Estos haplotipos obtenidos han sido comparados con los aquéllos publicados en GenBank y procedentes de la misma localidad (Mogi Guaçu/São Paulo), y se ha observado que: el haplotipo nucleotídico del gen CO1 obtenido en el presente trabajo (con una longitud de 693 pb), ha presentado un fragmento de 415 pb igual al haplotipo T.tib-CO1 isolate 177 publicado

en GenBank (KC249389; Justi *et al.*, 2014); para el haplotipo nucleotídico del gen CytB de *T. tibiamaculata* obtenido en el presente estudio, se han podido hallar 3 posiciones variables con relación al haplotipo publicado T.tib-CytBisolate177 (KC249296; Justi *et al.*, 2014). Al analizar las secuencias aminoacídicas de los genes CO1 y CytB de *T. tibiamaculata* obtenidas en el presente trabajo, se ha verificado que no han presentado posiciones variables con relación a los haplotipos publicados en GenBank procedentes de la misma localidad.

Estos resultados podrían indicar que para esta localidad, los genes analizados de *T. tibiamaculata* no presentan una gran variabilidad, aunque serían necesarios estudios comparativos más amplios para analizar la diversidad genética de esta especie en diferentes localidades de Brasil.

Cabe destacar que los haplotipos de la región intergénica completa y de todos los genes mitocondriales obtenidos para *T. tibiamaculata*, han presentado la mayor composición en AT entre todas las especies estudiadas en la presente Tesis.

Las muestras de *T. vitticeps* analizadas en el presente trabajo, procedentes de Guarapari/Espírito Santo y Pedra Azul/Minas Gerais, han originado nuevos haplotipos para todos los marcadores moleculares estudiados. La región intergénica completa de esta especie ha sido obtenida por primera vez y ha generado 2 haplotipos distintos (con un total de 6 posiciones variables entre ellos) según las diferentes localidades, presentado las mayores longitudes (1560 y 1562 pares de bases para la región intergénica completa) entre todas las especies estudiadas.

Para el gen 16S de *T. vitticeps*, se han obtenido 2 haplotipos diferentes, según las 2 localidades de procedencia de las muestras. Entre estos 2 haplotipos se han podido observar 11 posiciones variables. Para los demás genes mitocondriales, ND1 completo (obtenido por primera vez en el presente estudio), CO1 y CytB, solo se han podido analizar los especímenes de *T. vitticeps* procedentes de 1 localidad. El análisis de las secuencias obtenidas para estos genes ha proporcionado 1 haplotipo nucleotídico y 1 aminoacídico nuevos para cada gen. El hecho de que se haya observado un número de mutaciones elevado con relación al carácter conservado del gen 16S, merece especial atención. Con la imposibilidad de analizar tales diferencias en los demás genes mitocondriales, se resalta la necesidad de un estudio que abarque poblaciones de diferentes localidades de esta especie y diferentes genes mitocondriales para un posible análisis de la variabilidad genética de este triatomo.

Los árboles filogenéticos de todos los marcadores analizados en el presente estudio (Capítulo IV), han ubicado a *T. melanocephala*, *T. tibiamaculata* y *T. vitticeps* más distantes genéticamente de las demás especies estudiadas del género *Triatoma* y más cercanas a las especies del género *Panstrongylus*, lo que confirmaría la exclusión de estas 3 especies del subcomplejo Brasiliensis (Alevi *et al.*, 2012a; 2013a; Gardim *et al.*, 2014; Justi *et al.*, 2014; Guerra *et al.*, 2016).

Hay que resaltar, además, que *T. melanocephala* y *T. vitticeps* se han localizado, en todos los árboles filogenéticos analizados, muy próximas entre ellas, compartiendo nodo común (con alto soporte estadístico). Todos los resultados obtenidos para los análisis de las distancias genéticas y árboles filogenéticos han confirmado la gran proximidad entre estos dos vectores (consideradas especies hermanas) (Gardim *et al.*, 2014).

T. tibiamaculata se ha localizado, en todos los árboles filogenéticos analizados, dentro del clado que incluye las especies del género *Panstrongylus*, confirmando los resultados de los estudios hechos por Gardim *et al.* (2014) y Justi *et al.* (2014). Además, en los

V. DISCUSIÓN

análisis de las distancias genéticas entre todas las especies del género *Triatoma* estudiadas, *T. tibiamaculata* ha presentado los valores más altos de diferencias nucleotídicas entre las demás especies.

La estrecha relación entre *T. tibiamaculata* y las especies del género *Panstrongylus* resalta la necesidad de una revisión taxonómica para posible reclasificación de esta especie. Este hecho, unido a la gran capacidad de las especies del género *Panstrongylus* de transmitir *T. cruzi*, su amplia distribución geográfica e importancia en el proceso de domiciliación, exige que se intensifique la vigilancia de *T. tibiamaculata*.

5.1.2. Género *Panstrongylus*

Este apartado se dividirá en diferentes partes de acuerdo con las diferentes especies del género *Panstrongylus* estudiadas.

Panstrongylus megistus

Los análisis de las secuencias de los diferentes marcadores moleculares de esta especie, cuya relevancia epidemiológica ya se ha comentado en el Capítulo I del presente estudio, han generado diversos haplotipos distintos según las diferentes localidades geográficas de procedencia de las muestras: Seabra/Bahia y Juquiá/São Paulo.

Para la región intergénica completa, se han obtenido 3 haplotipos diferentes según la procedencia de las muestras: las de Seabra/Bahia han generado 2 haplotipos distintos, uno similar al publicado P.meg-CH1S de São Paulo y Sergipe (Genbank: HF678472; Cavassin *et al.*, 2014), y un segundo haplotipo, el P.meg-CH10S, cuyo ITS-1 (haplotipo P.meg-HS; Cavassin *et al.*, 2014) se corresponde a muestras procedentes de São Paulo y Sergipe, y el ITS-2 (haplotipo P.meg-H10; Cavassin *et al.*, 2014), procedente de Minas Gerais. Las muestras analizadas procedentes de São Paulo han proporcionado un haplotipo idéntico al haplotipo P.meg-CH9Q de Rio Grande do Sul publicado en GenBank (HF678470; Cavassin *et al.*, 2014). Esta gran diversidad de haplotipos confirma la relación entre la variedad genética y la dispersión geográfica que caracteriza este vector (Barbosa *et al.*, 2006; Patterson *et al.*, 2009; Cavassin *et al.*, 2014).

Todos los marcadores del ADN mitocondrial analizados de *P. megistus* han originado haplotipos nucleotídicos y aminoacídicos nuevos. Para el gen 16S, se han obtenido 2 haplotipos nuevos: uno para las muestras procedentes de Seabra/Bahia y otro para las muestras de Juquiá/São Paulo, los cuales han presentado solamente 1 nucleótido de diferencia entre ellos. Para el gen ND1 completo se han obtenido 2 haplotipos nucleotídicos y 2 haplotipos aminoacídicos diferentes según los dos Estados de procedencia de las muestras, con 19 y 6 diferencias nucleotídicas y aminoacídicas, respectivamente, entre los 2 haplotipos obtenidos.

Las secuencias analizadas de los genes CO1 y CytB, al igual que para los anteriores marcadores comentados, han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos y 2 aminoacídicos distintos según la procedencia geográfica de las muestras. Entre los 2 haplotipos nucleotídicos obtenidos para el gen CO1, se han podido observar 10 posiciones variables. Estos haplotipos nucleotídicos han proporcionado 2 haplotipos aminoacídicos con 9 posiciones variables entre ellos. El gen CytB, ha presentado un gran número de posiciones nucleotídicas (16) y aminoacídicas (9) variables entre los 2 haplotipos obtenidos, según procedencia de las muestras.

En cuanto a los análisis filogenéticos, los distintos árboles obtenidos en el presente trabajo han podido confirmar la posición taxonómica de *P. megistus* en el clado al cual pertenecen las especies del género *Panstrongylus*, ubicándose en un grupo separado de las demás especies de este género estudiadas.

El gran número de diferencias observadas entre los distintos haplotipos de los diferentes marcadores moleculares de *P. megistus* obtenidos en el presente estudio, confirma su gran variabilidad genética, su capacidad de adaptación a todos los ecotopos y a diferentes biomas. Cabe resaltar, además, que esta especie está considerada actualmente como el principal vector autóctono de la enfermedad de Chagas en el centro, este y regiones del sudeste de Brasil, con la distribución más amplia en el país, lo que destaca la importancia de una constante vigilancia e incesantes estudios acerca de este vector (Patterson *et al.*, 2009; Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2012; Cavassin *et al.*, 2014).

Panstrongylus geniculatus

Esta es la especie del género *Panstrongylus* más ampliamente distribuida en las Américas y segunda especie con la mayor distribución geográfica en Brasil. A parte de su amplia distribución, este vector merece especial atención debido a su gran capacidad de invadir domicilios y colonizar diferentes regiones bioclimáticas (Patterson *et al.*, 2009; Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2012).

En el presente trabajo, los análisis de los marcadores moleculares han permitido obtener diferentes haplotipos para las muestras de esta especie de triatomino (procedentes del Estado de Bahia). Las secuencias de la región intergénica completa de este vector han proporcionado 1 haplotipo nuevo. Los marcadores del ADN mitocondrial de este vector han generado nuevos haplotipos para los genes 16S y ND1: para el 16S, se ha obtenido 1 haplotipo que ha presentado 23 posiciones variables entre éste y las dos secuencias de este gen publicadas en GenBank procedente de Costa Rica (JQ897822; Hwang & Weirauch, 2012; y AF394593; Hypsa *et al.*, 2002) para esta especie; las secuencias obtenidas para el gen ND1 completo han proporcionado 1 haplotipo nucleotídico y 1 haplotipo aminoacídico nuevos, con 67 y 14 posiciones variables con relación al haplotipo de esta especie publicado en GenBank (AM980628; Mas-Coma & Bargues, 2009) procedente de Ecuador.

A partir de los análisis de los diferentes haplotipos de *P. geniculatus* obtenidos en el presente estudio, se ha podido observar un gran número de posiciones variables entre las secuencias obtenidas en el presente trabajo y aquéllas publicadas en Genbank de otros países, indicando una gran variabilidad genética entre especímenes procedentes de Brasil y otras localidades geográficas. Este hecho destaca la necesidad de estudios genéticos y comparativos entre muestras de este triatomino de diferentes países para conclusiones más robustas acerca de la diversidad genética de esta especie.

En cuanto a la posición taxonómica de *P. geniculatus*, en todos los árboles filogenéticos analizados para este vector, se ha podido comprobar su ubicación en el clado al que pertenecen las especies del género *Panstrongylus*. Además, ha compartido nodo con *P. lutzii*, en los árboles en que ambas especies han sido estudiadas, lo que podría confirmar la proximidad genética entre estas dos especies y una mayor distancia de especies como *P. megistus* (Marcilla *et al.*, 2002; Justi *et al.*, 2014).

Por primera vez se ha secuenciado el ADN de diferentes marcadores moleculares de muestras de este triatomino procedentes de la región Nordeste de Brasil (Bahia). Este hecho, unido a la dificultad de obtención de muestras de esta especie, es de extrema

V. DISCUSIÓN

importancia para los futuros estudios genéticos, el proceso de domiciliación y las campañas de control vectorial en Brasil.

Panstrongylus lutzi

Este vector, autóctono de Brasil y con la tercera distribución más amplia del género *Panstrongylus*, está considerado como uno de los vectores secundarios más importantes en el país. Merece especial atención debido a su capacidad de invadir los domicilios volando y sus altas tasas de infección natural por *T. cruzi* (García *et al.*, 2005; Patterson *et al.*, 2009; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2012), conforme ya se ha visto en el Capítulo I del presente trabajo.

Debido a la dificultad para amplificar el ADN de esta especie, no se ha podido obtener las secuencias de algunos de los marcadores moleculares analizados en la presente Tesis.

Se ha obtenido por primera vez las secuencias del ITS-1 de este triatomino. Los análisis de este marcador han proporcionado 1 haplotipo con una longitud de 682 pb para todas las muestras procedentes de Curaçá/Bahia.

Para el gen 16S, se ha obtenido 1 haplotipo nuevo, el cual ha presentado 49 posiciones variables (la gran mayoría de los cambios han sido transiciones nucleotídicas) con relación a los otros 2 haplotipos de este gen de esta especie publicados en GenBank: 1 haplotipo cuya origen no ha sido informada (AY035449; Hypsa *et al.*, 2002) y otro procedente de Ceará (KC248969; Justi *et al.*, 2014). El hecho de que se haya observado un número de mutaciones elevado con relación al carácter conservado del gen 16S, merece especial atención. Con la imposibilidad de analizar tales diferencias en los demás genes mitocondriales, se resalta la necesidad de un estudio que abarque poblaciones de diferentes localidades de esta especie y diferentes genes mitocondriales para un posible análisis de la variabilidad genética de este triatomino.

Los análisis de los árboles filogenéticos (Capítulo IV) de los marcadores que se han podido analizar para *P. lutzi*, han ubicado a esta especie más próxima de *P. geniculatus* y en un clado separado de las demás especies de este género (con elevado soporte estadístico), lo que confirmaría los resultados observados por Justi *et al.* (2014).

Hay que resaltar la necesidad de futuros estudios sobre este vector, ya que se ha incrementado en los últimos años su presencia en el peri e intradomicilio (Vinhaes & Dias, 2000; Freitas *et al.*, 2004; Dos santos *et al.*, 2016).

Panstrongylus herreri

Conforme lo comentado anteriormente en el Capítulo I del presente trabajo, este vector (sinónimo de *P. lignarius*) presenta una gran importancia epidemiológica debido a su potencial sinantrópico y como especie conectora entre los ciclos silvestres y domésticos (Carcavallo *et al.* 1998b; Gaunt & Miles, 2000; Patterson *et al.*, 2009).

Las secuencias de los marcadores moleculares analizados de esta especie, han permitido obtener nuevos haplotipos. Para la región intergénica completa, el haplotipo generado para las muestras analizadas, todas procedentes de Belém/Pará, ha sido similar a los haplotipos ya publicados en GenBank: ITS-1 (AM949584; Mas-Coma & Bargues, 2009) e ITS-2 (AJ306550; Marcilla *et al.*, 2002), ambos correspondiente a muestras de Ecuador.

Para el gen 16S, se ha obtenido 1 haplotipo nuevo. Este haplotipo (longitud de 540 pb) ha presentado un fragmento de 280 pb idéntico al haplotipo publicado en GenBank (AF028742; Stothard *et al.*, 1997), sin información disponible de la procedencia.

Las secuencias obtenidas del gen ND1 completo de *P. herreri*, han proporcionado 1 haplotipo nucleotídico idénticos al haplotipo de esta especie publicado en GenBank: AM980627 (Mas-Coma & Bargues, 2009) procedente de Ecuador.

Los análisis de las secuencias obtenidas para el gen CO1 de este triatómido, han proporcionado 1 haplotipo nucleotídico y 1 aminoacídico nuevos. El haplotipo nucleotídico obtenido (705 pb) ha presentado 3 posiciones variables cuando comparado con el único haplotipo de este gen publicado en GenBank para esta especie, con una longitud de 1431 pb (AF449141; Gaunt & Miles, 2002). Estas 3 diferencias nucleotídicas han sido mutaciones en la segunda posición de los codones, lo que ha generado 3 diferencias aminoacídicas entre los haplotipos obtenido y publicado.

Para el gen CytB analizado para esta especie, se ha podido obtener 1 haplotipo nucleotídico y 1 aminoacídico nuevos. El haplotipo nucleotídico obtenido (777 pb) ha sido comparado con el único haplotipo publicado en GenBank para esta especie, con una longitud de 423 pb y sin información disponible de la procedencia (*P. lignarius* KX109902; Diaz *et al.*, 2016), y se han observado 10 bases nucleotídicas diferentes y 5 aminoácidos diferentes entre ellos.

Los resultados de los diferentes marcadores moleculares analizados para *P. herreri*, han permitido observar una baja variabilidad genética entre especímenes procedentes de diferentes países, como se ha podido verificar en los análisis de la región integénica completa y del gen ND1, donde los haplotipos de los especímenes procedentes del Estado de Pará/Brasil obtenidos, han sido idénticos a los publicados en GenBank procedentes de Ecuador.

En cuanto a los análisis taxonómicos de esta especie, se ha podido observar que en todos los árboles filogenéticos obtenidos (Capítulo IV), *P. herreri* se ubica como un grupo separado dentro del clado del género *Panstrongylus*.

Conforme se ha comentado anteriormente en el Capítulo I del presente trabajo, no hay muchos análisis genéticos relacionados con *P. herreri* en Brasil, resaltando la necesidad de ampliar los estudios acerca de esta especie con el objetivo de una mayor caracterización e identificación de esta especie para mayor control y vigilancia epidemiológica.

5.1.3. Género *Rhodnius*

Al igual que para los anteriores géneros, esta sección se dividirá en diferentes partes de acuerdo con las diferentes especies del género *Rhodnius* estudiadas.

Rhodnius neglectus

Especie endémica de Brasil, predominantemente silvestre y presente en palmeras de diferentes géneros, ha sido hallada colonizando domicilios en diversas ocasiones y en diferentes Estados de Brasil en los que se encuentra (Gurgel-Gonçalves & Cuba, 2007; Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2008a; Silva *et al.*, 2012; Rodrigues *et al.*, 2014; Alevi *et al.*, 2015b).

V. DISCUSIÓN

Los análisis de las secuencias obtenidas han generado nuevos haplotipos para todos los marcadores moleculares analizados de este vector.

Se ha obtenido por primera vez las secuencias del ITS-1 de este triatomino. Los análisis de este marcador han proporcionado 1 haplotipo con una longitud de 178 pb para todas las muestras procedentes de Uberaba/Minas Gerais. No ha sido posible obtener la secuencia del marcador ITS-2 debido a dificultades en la amplificación del mismo.

Las secuencias obtenidas del gen 16S de *R. neglectus*, han proporcionado 2 haplotipos nuevos para las muestras procedentes de Frutal y Uberaba en el Estado de Minas Gerais, con 12 posiciones variables entre ellos. El hecho de que los especímenes de esta especie sean de procedencias geográficas muy cercanas entre sí y se haya observado un número de mutaciones elevado con relación al carácter conservado del gen 16S, merece especial atención.

El análisis del gen ND1 completo (obtenido por primera vez para esta especie) de especímenes procedentes Frutal/Minas Gerais, ha proporcionado 1 haplotipo nucleotídico y 1 aminoácido nuevos.

Para el gen CO1, igualmente obtenido por primera vez para esta especie, las secuencias analizadas de especímenes procedentes de Uberaba/Minas Gerais han proporcionado 1 haplotipo nucleotídico y 1 aminoácido nuevos.

Las secuencias del gen CytB de *R. neglectus* de las muestras procedentes de Uberaba, han proporcionado 1 haplotipo nucleotídico y 1 haplotipo aminoácido nuevos. Este haplotipo nucleotídico obtenido (longitud de 792 pb) ha presentado 1 única diferencia (transición en base 291) con relación al haplotipo JX273156 (longitud de 663 pb) (Abad-Franch *et al.*, 2013) procedente del Estado de Tocantins. Esta mutación puntual no ha generado posiciones variables entre las secuencias aminoacídicas.

Los resultados observados para los genes 16S y CytB de esta especie y la obtención de las secuencias de los genes ND1 y CO1 por primera vez, resalta la necesidad de un estudio más amplio entre muestras de diferentes localidades geográficas de esta especie para un posible análisis de la variabilidad genética de este triatomino.

Los análisis de los árboles filogenéticos en base a los marcadores moleculares del ADN mitocondrial y en conjunto con los marcadores del ADN ribosomal nuclear (Capítulo IV), han situado a esta especie muy próxima de la especie *R. robustus* y más alejada (en un grupo distinto) de la especie *R. pictipes*, también estudiada en la presente Tesis. Este resultado confirma la posición de *R. neglectus* y *R. robustus* en un grupo de especies crípticas distinto del grupo al cual pertenece *R. pictipes*, conforme comentado anteriormente en el Capítulo I (Monteiro *et al.*, 2000; Paula *et al.*, 2007; Schofield & Galvão, 2009; Ravazi *et al.*, 2016).

Como se ha podido observar, en el presente estudio se ha conseguido obtener nuevos haplotipos de diferentes marcadores moleculares para esta especie, algunos de ellos, genes secuenciados por primera vez. Este hecho es de gran importancia ya que, al pertenecer a un grupo de especies muy similares morfológicamente, la caracterización genética es uno de los métodos fundamentales para distinguirlas y poder diseñar campañas de control vectorial adecuadas, así como estudios epidemiológicos más concretos.

Rhodnius robustus

Para esta especie de triatomino, las muestras analizadas han sido de países fronterizos a Brasil, como Perú y Venezuela, los cuales comparten la subregión del Amazonas, bioma característico de este vector (Abad-Franch & Monteiro, 2007; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014). Debido al aumento del número de casos de la enfermedad de Chagas en esta región y de la gran similitud morfológica entre *R. robustus* y *R. prolixus*, importante vector de la enfermedad en países limítrofes a Brasil (Medone *et al.*, 2015; Angulo-Silva *et al.*, 2016), se ha considerado de gran relevancia el estudio genético de estos especímenes.

El análisis de las secuencias de la región intergénica completa de las muestras procedentes de Lima/Perú y Venezuela (sin información de localidad exacta), ha proporcionado 2 haplotipos nuevos de acuerdo con el país de los que han procedido las muestras. Estos 2 haplotipos obtenidos en el presente trabajo para las muestras de Perú y Venezuela, han presentado un ITS-1 idéntico entre ellos y con 1 única posición variable con relación al haplotipo de ITS-1 de esta especie publicado en GenBank procedente de Venezuela (AM949587; Mas-Coma & Bargues, 2009); para el ITS-2, las secuencias de los 2 haplotipos obtenidos en la presente Tesis han presentado 4 posiciones variables entre ellos.

Las secuencias obtenidas para los marcadores moleculares del ADN mitocondrial de esta especie han resultado en haplotipos nuevos para el 16S, ND1 y CytB.

Para el marcador 16S, se han obtenido 2 haplotipos nuevos según el país de las muestras, presentando entre ellos 14 posiciones nucleotídicas diferentes. El haplotipo obtenido para las muestras de Lima/Perú (longitud de 500 pb) ha presentado 8 posiciones variables con relación al haplotipo de Madre de Dios/Perú (longitud de 316 pb) publicado en GenBank (EU827206; Ceretti *et al.*, 2008). Para las muestras de Venezuela (longitud de 500 pb) se han observado 3 posiciones variables con relación al haplotipo de Madre de Dios/Perú.

El análisis del gen ND1 completo de esta especie ha proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos y 2 haplotipos aminoacídicos diferentes según la procedencia de las muestras: para las muestras procedentes de Perú, se han obtenido 1 haplotipo nucleotídico y 1 aminoacídico nuevos para este marcador; las muestras procedentes de Venezuela han proporcionado un haplotipo idéntico al publicado en GenBank para esta especie (AM980633; Mas-Coma & Bargues, 2009) también procedente de Venezuela. Entre los 2 haplotipos obtenidos se han observado 65 diferencias nucleotídicas y 16 aminoacídicas.

Los haplotipos obtenidos para el gen CytB de *R. robustus* han sido diferentes de acuerdo con las localidades de procedencia de las muestras: (i) para aquéllas procedentes de Perú, las secuencias analizadas para este gen han proporcionado 1 haplotipo nucleotídico y 1 aminoacídico nuevos. Este haplotipo nucleotídico obtenido (con 795 pb) ha presentado un fragmento de 663 pb idéntico al haplotipo “clone roEC haplotipo G” publicado en GenBank (AF421341; Monteiro *et al.*, 2003; con 663 pb) de Napo/Ecuador. Esta similitud podría ser debido a la proximidad de las localidades de procedencia de las muestras, lo que indicaría un flujo genético entre ambos países (Monteiro *et al.*, 2003); (ii) para las muestras analizadas de Venezuela, se han obtenido 1 haplotipo nucleotídico y 1 aminoacídico nuevos. Este haplotipo nucleotídico obtenido (795 pb) ha presentado apenas 1 posición nucleotídica variable con relación al haplotipo “isolate roVE2e cytochrome b” (663 pb) procedente de Venezuela, publicado en GenBank (EF011719; Monteiro *et al.*, 2003). Esta diferencia aminoacídica ha sido en la tercera posición del codón lo que ha generado un haplotipo aminoacídico idéntico al publicado.

V. DISCUSIÓN

A partir de los resultados de los análisis de los diferentes marcadores moleculares de *R. robustus*, se ha podido observar un número bajo de posiciones variables entre los haplotipos obtenidos en el presente trabajo y aquéllos publicados en GenBank procedentes del mismo país o de países cercanos.

Los árboles filogenéticos obtenidos en el presente trabajo (Capítulo IV) para esta especie, han ratificado la posición taxonómica de *R. robustus* en el clado al cual pertenece el género *Rhodnius*, así como su ubicación más próxima a las otras especies del “grupo robustus”. En todos los árboles se han visto 2 grupos diferenciados, con altos valores de bootstrap, distinguiendo los 2 grupos de especies crípticas presente en este género, confirmando los estudios de Monteiro *et al.* (2000); Schofield & Galvão (2009); Justi *et al.* (2014).

Rhodnius pictipes

Rhodnius pictipes, al igual que los anteriores vectores del género *Rhodnius* comentados, pertenece a un complejo de especies crípticas, el “grupo pictipes” (Monteiro *et al.*, 2000; Abad-Franch & Monteiro, 2007; Schofield, & Galvão, 2009). Debido a esto, es muy importante la diferenciación genética de estas especies morfológicamente similares para las efectivas medidas de control y estudios epidemiológicos.

En el presente trabajo, se han obtenido nuevos haplotipos para todos los marcadores moleculares analizados de esta especie, cuyas muestras han procedido de Belém, en el Estado de Pará, y de Tocantinópolis, en el Estado de Tocantins.

Se ha obtenido por primera vez la secuencia de la región intergénica completa de este vector, cuyas secuencias analizadas han proporcionado 2 haplotipos diferentes según las 2 localidades geográficas de procedencia de los especímenes estudiados. Entre estos 2 haplotipos obtenidos en el presente estudio y el haplotipo del ITS-2 de esta especie publicado en GenBank (FJ887796; Justi *et al.*, 2010) procedente del Estado de Pará, se han podido observar 6 bases nucleotídicas diferentes entre ellos.

Para el marcador 16S, las secuencias obtenidas en el presente estudio para esta especie han proporcionado 1 haplotipo nuevo para todas las muestras analizadas. El hecho de que todas las muestras, procedentes de 2 Estados brasileños diferentes, hayan resultado en 1 solo haplotipo, es algo insólito para este marcador, el cual, en el presente estudio, ha presentado una mayor variación genotípica entre haplotipos de una misma especie. Además, comparándose el haplotipo del gen 16S obtenido (longitud de 541 pb) con el haplotipo publicado en GenBank procedente de Abaetetuba/Pará (541 pb) (KC248982; Justi *et al.*, 2014), solamente se ha observado 1 posición variable.

El gen ND1 completo ha sido obtenido por primera vez para esta especie. Las secuencias obtenidas para este gen, han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos y 2 aminoacídicos distintos según la localidad de procedencia de las muestras. Entre estos 2 haplotipos nucleotídicos obtenidos se han podido observar 3 posiciones nucleotídicas variables, las cuales han proporcionado 1 única posición variable entre los haplotipos aminoacídicos. Este resultado demuestra, una vez más, que entre las muestras de estas dos localidades hay una baja variabilidad genética.

Los análisis de las secuencias obtenidas para el gen CO1 de *R. pictipes*, al igual que para el gen ND1, han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos y 2 aminoacídicos nuevos, según la procedencia de las muestras. Entre estos haplotipos obtenidos, se han podido observar 3 posiciones nucleotídicas variables, las cuales han proporcionado haplotipos aminoacídicos con 2 posiciones variables entre ellos.

En cuanto al gen CytB, al igual que los anteriores genes analizados para esta especie, las secuencias obtenidas para esta especie han proporcionado 2 haplotipos nucleotídicos y 2 aminoácidos nuevos según los 2 Estados de procedencia de las muestras (Pará y Tocantins). Se han observado 2 posiciones variables entre los 2 haplotipos nucleotídicos obtenidos. En cuanto a los 2 haplotipos aminoácidos obtenidos, se ha observado 1 posición aminoácida variable entre ellos.

A partir de estos resultados, se podría afirmar que entre estos 2 Estados fronterizos no se han observado muchos cambios genotípicos, ya que, para los marcadores del ADN mitocondrial, que presentan altas tasas de evolución, no se han visto muchas posiciones nucleotídicas variables. Este hecho podría indicar que hay un flujo genético entre estas dos localidades.

En cuanto a los análisis filogenéticos (Capítulo IV), todos los árboles obtenidos en el presente trabajo han ubicado a este vector en el clado del género *Rhodnius*. Además, los haplotipos obtenidos de esta especie para todos los marcadores analizados, se han situado en un grupo diferente a los que se han localizado las especies *R. neglectus* y *R. robustus* (con alto soporte estadístico), lo que certificaría los 2 grupos (“grupo robustus” y “grupo pictipes”) diferenciados de especies crípticas que presenta este género, de acuerdo con Monteiro *et al.* (2000); Schofield & Galvão (2009); Justi *et al.* (2014).

5.2. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LOS TRIATOMINOS E IMPLICACIONES EN EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

5.2.1. Distribución geográfica y el proceso de domiciliación vectorial

La gran mayoría de las especies estudiadas, de los géneros *Triatoma*, *Panstrongylus* y *Rhodnius*, en el presente trabajo, de distintas distribuciones geográficas de Brasil, Perú y Venezuela, ya han presentado, por lo menos en alguna ocasión, algún indicio de invasión al entorno humano e, incluso, muchas de ellas ya han colonizado los domicilios, siendo consideradas “especies domésticas” (Waleckx *et al.*, 2015).

La presencia de triatomos en un área es un fenómeno complejo que puede estar influenciado por factores medioambientales, demográficos y socioeconómicos, así como cambios antropogénicos.

La deforestación, la fragmentación de los bosques y la ocupación humana, que podría llevar a la extinción de los animales que son reservorios de *T. cruzi*, de los cuales se alimentan los vectores de la enfermedad de Chagas, son algunos de los factores influyentes en el proceso de invasión al entorno doméstico por parte de los vectores triatomos. Estas circunstancias, unidas a los factores socioeconómicos y la atracción de los triatomos a las fuentes de luces artificiales, pueden influir en el proceso de colonización del medio domiciliar (Dias-Lima & Sherlock, 2000; Canale *et al.*, 2012; Gottdenker *et al.*, 2012; Pacheco-Tucuch *et al.*, 2012; Vinhaes *et al.*, 2014; Ribeiro *et al.*, 2015).

En este proceso de adaptación de los triatomos al entorno doméstico, se pueden observar cambios en distintos aspectos, tales como biológicos, genéticos y evolutivos. En conjunto, estas características interactúan con la finalidad de completar el proceso de domesticación definitivo, donde la pérdida de plasticidad ecológica y la capacidad de propagación del insecto deben de combinar sus efectos para producir cambios obligatorios en sus hábitos.

En el presente estudio, la gran mayoría de los vectores analizados han procedido del medio silvestre de diversos Estados de Brasil. Los resultados de los diferentes marcadores moleculares analizados para estos triatomos y los haplotipos generados, muchos de los cuales obtenidos por primera vez, han proporcionado nuevas informaciones genotípicas, así como la detección de cambios genéticos intra e interpoblacionales. Asimismo, se ha verificado algunas modificaciones nucleotídicas en los genes del ADN mitocondrial entre muestras de la misma especie de diferentes ecotopos, como se ha podido ver con los análisis de los haplotipos resultantes de *T. pseudomaculata* (silvestre e intradomicilio), *T. brasiliensis* (silvestre y peridomicilio) y *T. petrocchiae* (silvestre y peridomicilio), aunque estas variaciones no hayan afectado a la secuencia aminoacídica de las proteínas, lo que podría indicar que los vectores analizados están todavía en proceso de adaptación al entorno domiciliar o que estos especímenes son intrusivos o domiciliados (no presentan su ciclo vital completo dentro de los domicilios) (Waleckx *et al.*, 2015).

Para que la adaptación domiciliar sea definitiva, se ha visto que existen algunos pasos que podrían tener lugar durante el proceso de domiciliación de los triatomos: (i) puesto que sólo una parte de los genotipos silvestres puede tener éxito en el establecimiento de colonias domésticas duraderas, se asume que hay una cierta restricción de la variabilidad genética durante la fase temprana del proceso; (ii) la dispersión de los vectores depende del hospedador, ya que en algunos casos estos insectos podrían ser transportados por los

humanos hacia grandes distancias geográficas, fuera de sus habituales limitaciones ecológicas, un hecho de gran relevancia epidemiológica; (iii) como consecuencia del aislamiento del foco silvestre original y el efecto fundador de las nuevas áreas de colonización, se espera una pérdida de variabilidad genética; (iv) mientras el proceso de adaptación al nuevo entorno va teniendo lugar, su ciclo de vida y características fenotípicas y genotípicas se van adecuando exclusivamente al ambiente doméstico. Algunos estudios han demostrado que algunas poblaciones de triatomíneos con altos niveles de endogamia pueden presentar evidencias externas de inestabilidad en el desarrollo, tales como un aumento en la asimetría corporal (Dujardin, 1998; Schofield *et al.*, 1999; Borges *et al.*, 2000), una disminución del tamaño corporal (Dujardin *et al.*, 1997a; 1997b; 1998), así como una reducción del dimorfismo sexual (Dujardin *et al.*, 1999) (Panzera *et al.*, 2004; Costa & Lorenzo, 2009; Ribeiro *et al.*, 2015).

Cabe destacar que para que la transmisión de *T. cruzi* sea estable y capaz de producir casos endémicos de la enfermedad de Chagas con la consiguiente generación de casos crónicos sintomáticos, se requiere más que la presencia y circulación del parásito en el entorno peridoméstico. Es necesario que los mismos hábitats sean compartidos por los vectores y el hombre, ya que los triatomíneos tendrán que alimentarse y reproducirse regularmente. Para que este proceso tenga lugar, a parte de las características ya citadas en el anterior párrafo, también hay que tener en cuenta el área geográfica, los aspectos medioambientales y los aspectos antropomórficos del entorno donde se establecerán los vectores (Dias & Dias, 1968; Litvoc *et al.*, 1990; Schofield *et al.*, 1999; Lima *et al.*, 2015).

Desde un punto de vista demográfico y económico, la colonización de vastas áreas de Sudamérica, incluyendo el interior del sur, centro y noreste de Brasil, fue caracterizado por el sistema de latifundios, la desigualdad social y la pobreza extrema. Estos aspectos generan el hábitat apropiado donde el hombre y los vectores de *T. cruzi* podrían coexistir, como por ejemplo las viviendas de barro con un marco de madera, típicas de las localidades rurales y más pobres del interior de los países de Sudamérica, Centroamérica y México, cuyas paredes y grietas proporcionan refugio para los triatomíneos durante el día y la posibilidad de salir para alimentarse de los residentes por la noche (Dias & Schofield, 1999; Dias *et al.*, 2000; Abad-Franch & Monteiro, 2005; Vinhaes *et al.*, 2014).

Otro aspecto a tener en cuenta es la migración humana del medio rural al urbano y la mejoría de las viviendas en países de Sudamérica, como Brasil, lo que ha hecho que se redujera la colonización domiciliar por partes de los vectores triatomíneos. Este cambio, de extrema importancia para el control de la domiciliación de los triatomíneos, no ha sido un hecho aislado, ya que, unido a él, se ha podido observar otras modificaciones antropogénicas del medio, como la deforestación, lo que ha permitido que estos insectos buscaran otras vías de supervivencia, como la búsqueda de otras fuentes de alimentación.

La procedencia geográfica de los especímenes estudiados en la presente Tesis, ha sido mayoritariamente de localidades pequeñas del interior de diferentes Estados de la región Nordeste de Brasil. Esta área del país presenta un alta vulnerabilidad a la enfermedad de Chagas, ya que hay una interacción entre factores históricos, como el tipo de colonización, y características sociodemográficas y ecológicas, como por ejemplo la vegetación y el clima, lo que favorece el ciclo completo de la enfermedad de Chagas (Schofield *et al.*, 1999; Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2012; Vinhaes *et al.*, 2014; Lima *et al.*, 2015).

Hay que mencionar que en esta región se encuentra el Estado de Bahía, que presenta la mayor riqueza de especies de triatomíneos (23) del país, lo que podría estar relacionado con la gran variedad de biomas presentes en esta localidad, que incluye el Cerrado, la

V. DISCUSIÓN

Caatinga y la Mata Atlántica (Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2012; Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014). Además, el Nordeste brasileño es la principal área de triatominos nativos como *T. brasiliensis* y *T. pseudomaculata*, especies que presentan amplia distribución geográfica en Brasil y con gran potencial transmisor de *T. cruzi*, como ya se ha comentado en el Capítulo I del presente trabajo. Estos vectores presentan un señalado proceso de invasión de los entornos domésticos, además, ya se ha observado reinvasión de domicilios por parte de *T. brasiliensis* después de la fumigación de las viviendas con insecticidas, lo que destaca aún más la necesidad del control y vigilancia en esta zona del país.

Todos los marcadores moleculares analizados en la presente Tesis, para las diferentes especies de triatominos estudiadas (la mayoría especímenes procedentes de Bahia), han proporcionado nuevos haplotipos genéticos, muchos de los cuales obtenidos por primera vez, lo que es de extrema importancia para la identificación y diferenciación de los vectores presentes en las diferentes zonas estudiadas y los posibles casos de expansión geográfica.

La caracterización genética de las diferentes especies de triatominos de una determinada área es una cuestión muy relevante a la hora de enfocar las campañas de control vectorial, así como las delimitaciones de los estudios epidemiológicos y las distribuciones geográficas exactas de estos insectos, ya que muchos de los vectores de la enfermedad de Chagas presentan una gran similitud morfológica, resultando muchas veces imposible una correcta identificación utilizando apenas las características fenotípicas.

Un ejemplo claro de la necesidad de distinguir entre vectores fenotípicamente idénticos es lo que se puede observar entre los triatominos del género *Rhodnius*, que presenta especies consideradas crípticas, difícilmente identificadas apenas con los estudios morfológicos, siendo indispensables los análisis de los diferentes marcadores moleculares para una precisa descripción y delimitación de la distribución geográfica (Monteiro *et al.*, 2000; 2003; Abad-Franch & Monteiro, 2007; Pavan & Monteiro, 2007; Schofield, & Galvão, 2009; Pavan *et al.*, 2013).

Otro aspecto a tener en cuenta, relacionado con la determinación exacta de las especies de una localidad, es la importancia de delimitar los vectores presentes en un área y los diferentes ecotopos en los que podrían establecerse. La correcta identificación de aquéllos encontrados dentro de los domicilios, así como de los triatominos hallados en el peridomicilio y los respectivos animales de los cuales se alimentan, es una particularidad extremadamente importante para los estudios epidemiológicos y de domiciliación vectorial.

Cabe resaltar, además, que la caracterización molecular de los vectores triatominos es un factor imprescindible a la hora de identificar los posibles híbridos encontrados en determinadas áreas geográficas de solapamiento de especies, como puede ser el caso de las especies del complejo *T. brasiliensis*. Se ha observado que algunas especies de este complejo podrían formar híbridos de forma natural, como es el caso de *T. b. macromelasoma* presente en el Estado brasileño de Pernambuco, zona de solapamiento que se encuentra entre el área de distribución de *T. b. brasiliensis*, al norte, y de *T. juazeirensis*, al sur, conforme Figura 30. A partir de los análisis de marcadores moleculares, en conjunto con los fenotipos cromáticos intermedios observados y los cruces experimentales viables, se ha podido concluir que *T. b. macromelasoma* podría ser un híbrido resultante del cruce entre las otras dos especies citadas anteriormente (Costa *et al.*, 2002; 2013; 2014; 2016).

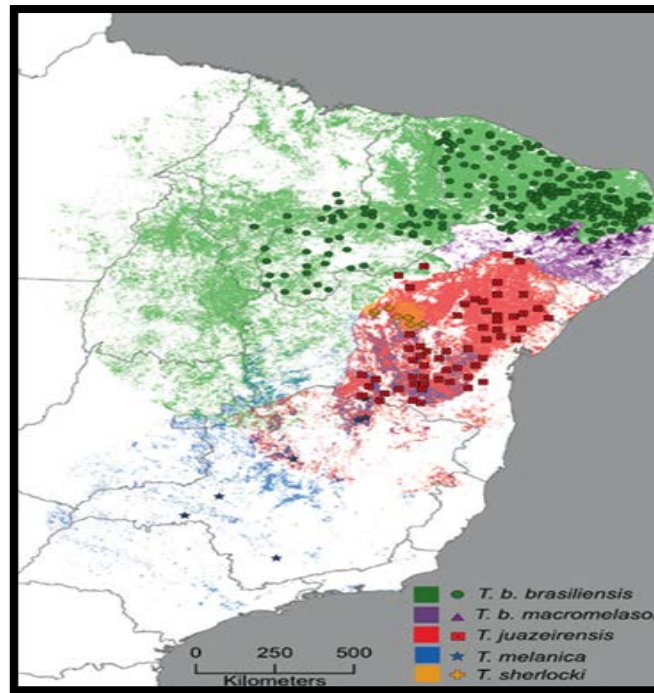


Figura 30. Zonas de distribución de especies del complejo *T. brasiliensis* en Brasil, donde se puede observar las posibles zonas de solapamiento (adaptada de Costa *et al.*, 2014).

Otra cuestión muy importante que hay que resaltar, es la situación epidemiológica en la Región Amazónica, donde se ha observado un incremento en el número de casos humanos de la enfermedad de Chagas durante los últimos años. Esta región está considerada la subregión más grande del área biogeográfica Neotropical, abarcando 13 provincias biogeográficas y más de 40 ecoregiones (Morrone, 2006), y está formada por diversos países como Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Guyana, Guyana Francesa, Perú, Surinam y Venezuela. Aunque actualmente esta parasitosis haya emergido de forma señalada en esta región, ya había sido identificada como una zoonosis presente en esta zona desde hace años por el propio Carlos Chagas, quien pudo aislar *T. cruzi* de monos de la especie *Saimiri scirius* en el Estado brasileño de Pará (Chagas, 1924).

Posteriormente, muchos reservorios animales han sido identificados en esta región (Deane, 1964), así como diversas especies de triatominos. Alrededor de 16 especies de vectores ya habían sido señaladas en esta área hasta el principio de la década de los 90, de las cuales, 10 naturalmente infectadas con *T. cruzi* (Coura *et al.*, 1994). Como no se habían descrito casos de domiciliación de vectores en esta región, y los casos de transmisión de la enfermedad eran esporádicos, durante un largo período de tiempo esta parasitosis fue considerada apenas una zoonosis en esta zona.

Durante los años 1968 a 2000 se reportaron 205 casos humanos de la enfermedad de Chagas en la Región Amazónica brasileña, con 178 casos agudos, de los cuales 9 mortales, y 27 casos crónicos (Valente *et al.*, 2000). A partir de ahí, la vigilancia se ha ido incrementando y diversos estudios han sido llevados a cabo en esta región, los cuales fueron detectando nuevos casos de la enfermedad, la gran mayoría de transmisión oral, y una alta seroprevalencia en esta zona, indicando, además, los riesgos de transmisión y endemidad de la enfermedad de Chagas en esta región (Teixeira *et al.*, 2001; Coura *et al.*, 2002; 2013; 2014; Aguilar *et al.*, 2007; Coura & Junqueira, 2012; 2015; Monteiro *et al.*, 2012). Estos riesgos parecen estar relacionados con la deforestación, el proceso de

V. DISCUSIÓN

migración de la población, la agricultura y la rápida colonización del ecotopo natural de los vectores por parte de los humanos, así como la búsqueda de nuevas fuentes de alimentación por parte de los triatomíneos en la época de lluvias (Teixeira *et al.*, 2001; Coura & Junqueira, 2015).

Los casos de domiciliación de vectores en la Región Amazónica de Brasil son escasos, donde, hasta el momento, se ha reportado la presencia de *P. geniculatus* en el peridomicilio asociado a cerdos en la Isla de Marajó, en el Estado de Pará (Valente *et al.*, 1998), y se ha localizado *T. maculata* en gallineros en una zona rural del Estado de Roraima con invasiones ocasionales a los domicilios (Luitgard-Moura *et al.*, 2005). La transmisión de *T. cruzi* a los humanos en la Cuenca del Amazonas ha estado casi siempre asociada a especies de triatomíneos presentes en el medio silvestre que ocasionalmente invaden el entorno humano, como *R. pictipes* y *P. herreri*, por ejemplo, que son capaces de volar de palmeras hacia los domicilios (Teixeira *et al.*, 2001; Abad-Franch & Monteiro, 2007; Fé *et al.*, 2009), además de la posible atracción de los vectores hacia las fuentes de luces artificiales (Castro *et al.*, 2010).

Hay que mencionar, además, los diversos casos de transmisión oral que se han observado en esta región, los cuales han sufrido un gran incremento en los últimos años. Desde que en 1969 Shaw y colaboradores describieron el primer caso de la enfermedad de Chagas en la ciudad de Belém, localizada en el Estado brasileño de Pará, centenas de casos agudos de la enfermedad debidos a la transmisión oral con alimentos contaminados con las heces de los triatomíneos, han sido descritos en la Región Amazónica, la cual, al día de hoy, está considerada una zona endémica de Tripanosomiasis Americana (Valente *et al.*, 1999; 2009; Coura & Junqueira, 2015).

Debido a todas las características de esta zona geográfica mencionadas anteriormente, es de extrema relevancia el control y vigilancia de todos los vectores presentes en esta región. Ha sido con esta finalidad que se ha estudiado en el presente trabajo la especie *R. robustus*, vector mayoritariamente distribuido en la Región Amazónica, de países como Perú y Venezuela, los cuales han sido caracterizados genéticamente y cuyos resultados han generado nuevos haplotipos para los diferentes genes analizados, lo que podrá facilitar los futuros estudios epidemiológicos y campañas de control vectorial.

5.2.2. Implicaciones en el control de la enfermedad

El control epidemiológico efectivo de la enfermedad de Chagas consiste en el continuo seguimiento acerca de los siguientes parámetros: la aparición de los nuevos casos de la enfermedad, la vigilancia de los pacientes ya infectados, los cambios medio ambientales, la vigilancia sobre los mecanismos de transmisión de la enfermedad, especialmente el control vectorial, y el proceso de domiciliación de los triatomíneos (Coura, 2013).

La situación actual de escasez de tratamiento y vacunas para la enfermedad de Chagas hacen que la primera línea de defensa frente a esta parasitosis sean las campañas de control vectorial, llevadas a cabo mediante la fumigación de las casas y medio peridomiciliar con insecticidas piretroides, que han demostrado ser más efectivas cuanto más dirigidas vayan hacia el vector (Mougabure-Cueto & Picollo, 2015). Esto resalta la necesidad de determinar con exactitud las especies de triatomíneos de las diferentes áreas endémicas.

Conforme ya mencionado en apartados anteriores del presente trabajo, los estudios a nivel molecular con marcadores de ADN constituyen una herramienta fundamental a la hora de enfocar y planificar los programas de control vectorial en la lucha contra la

enfermedad de Chagas, ya que permite la correcta identificación de los vectores y su procedencia geográfica, así como las relaciones filogenéticas y posible formación de híbridos. El conocimiento de las características genéticas de los vectores, tanto de manera individual como a nivel poblacional, permitirá una actuación más rápida y efectiva ante diferentes situaciones, como por ejemplo la reinfestación en una zona tras un tratamiento con insecticidas y las posibles resistencias a éstos, posibilitando el diseño de nuevas estrategias de control en función de estas características (Costa & Lorenzo, 2009; Dias, 2015).

Actualmente, el control vectorial de los triatominos se enfrenta a distintos retos, los cuales se centran en tres aspectos principales: (i) establecer en qué regiones existe reinvasión de las viviendas por parte de los insectos silvestres y cuáles ya están adaptados al medio domiciliar; (ii) mejorar el diseño de las estrategias de intervención y (iii) el desarrollo de métodos de identificación sencillos para la diferenciación de especies crípticas de triatominos (Miles *et al.*, 2003; Coura, 2007; 2013).

En todos los aspectos citados anteriormente, la información que los marcadores moleculares proporcionan ha demostrado ser una herramienta de gran utilidad. En los casos: (i) de la necesidad de detectar la reinvasión y adaptación de los triatominos a los domicilios; y (ii) del diseño de estrategias de control óptimas, los marcadores moleculares son piezas claves, ya que permiten establecer el origen de los insectos que están vinculados al proceso de reinvasión y domiciliación, así como los posibles cambios genéticos relacionados con la adaptación al ambiente doméstico (Dujardin, 1998; Abad-Franch & Monteiro, 2005; Mas-Coma & Bargues, 2009).

Se ha podido observar que la especie *T. brasiliensis*, vector predominante del Nordeste de Brasil, presenta, hasta el momento, una gran capacidad de reinfestación de domicilios después del rociamiento con insecticidas. Se ha constatado que alrededor de seis meses después del tratamiento químico las viviendas vuelven a estar reinfestadas, lo que señala la necesidad de nuevas estrategias de control y pone de manifiesto la aplicabilidad de los marcadores moleculares en cuanto a la capacidad de hallar los posibles cambios genético sufridos por este vector con la finalidad de resistir a los controles químicos (Almeida *et al.*, 2008; Costa & Lorenzo, 2009). El hecho de que *T. brasiliensis* sea capaz de reinfestar las casas tras el tratamiento desde ecotopos peridomésticos y selváticos, pone de manifiesto la necesidad de idear nuevas medidas de control relacionadas con este triatomino. Además, como pertenece a un complejo de especies, las cuales son unidades evolutivas distintas, las campañas de control deberían centrarse por un lado en *T. b. brasiliensis*, ya que es la especie del complejo más encontrada dentro de los domicilios y, por otro lado, en las demás especies, encontradas mayoritariamente en el medio silvestre y peridomiciliar.

Otras especies que merecen especial atención en cuanto a detección de reinvasión de viviendas y diseño de estrategias de control óptimas son *T. sordida*, *P. megistus* y *P. geniculatus*. Al igual que *T. brasiliensis*, *T. sordida* también ya ha presentado procesos de reinfestaciones de domicilios después del tratamiento con insecticidas (Diotaiuti *et al.*, 1998; Pessoa *et al.*, 2015), lo que resalta la necesidad de controles exhaustivos, ya que este vector es uno de los que presenta amplia distribución en Brasil. Las otras dos especies, *P. megistus* y *P. geniculatus*, con las dos mayores distribuciones geográficas en Brasil, presentan una gran capacidad de dispersión y un gran potencial de invadir el ambiente domiciliar (Valente *et al.*, 1998; Valente, 1999; Barbosa *et al.*, 2001; Patterson *et al.*, 2009). La peculiar facilidad de adaptación a diferentes zonas y ecotopos que presentan estos vectores ha sido verificada a partir de diversos estudios con marcadores moleculares, los cuales han podido demostrar la posible zona de origen de dispersión de

V. DISCUSIÓN

P. megistus, así como su gran variedad genética, confirmada en el presente trabajo, además de la capacidad de adaptación a diferentes ecotopos que presentan estas dos especies de triatomíneos (Forattini, 1980; Barbosa *et al.*, 2006; Vendrami *et al.*, 2014; Cavassin *et al.*, 2014). Estos hechos resaltan la importancia de la constante vigilancia y de específicas medidas de control relacionadas con estos vectores.

En el frente restante: (iii) el desarrollo de métodos de identificación sencillos para la diferenciación de especies crípticas de triatomíneos, los marcadores moleculares constituyen la herramienta principal de la que se dispone hasta el presente momento. En el presente estudio, conforme ya mencionado anteriormente, los resultados obtenidos a partir del análisis de diferentes marcadores moleculares, ha identificado a especímenes procedentes del Estado de Ceará como *T. b. macromelasoma*, las cuales habían sido inicialmente clasificados como *T. b. brasiliensis*. Aunque para certificar la presencia de estos híbridos o posible nueva subespecie en esta localidad geográfica, harían falta estudios más amplios. Este hecho pone de manifiesto la necesidad de medidas de control más estrechas con relación a las especies que pertenecen al complejo *T. brasiliensis*, el cual presenta especies muy similares morfológicamente, así como posibles formaciones de híbridos, como es el caso de *T. b. macromelasoma* (Costa *et al.*, 2016). La detección mediante técnicas moleculares de poblaciones de híbridos, advierte de la necesidad de estudiar sus características biológicas, hábitats (posibilidad de domiciliación) y susceptibilidad de transmitir *T. cruzi*, ya que su papel como vectores puede ser diferente al de las especies parentales (Abad-Franch & Monteiro, 2005; Martínez-Hernández *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2016).

La identificación de especies crípticas mediante el análisis de secuencias de diferentes genes, también ha sido de extrema importancia en el género *Rhodnius* (Monteiro *et al.*, 2000; Paula *et al.*, 2007; Schofield & Galvão, 2009; Ravazi *et al.*, 2016), donde la similitud entre especies es muy característica y la identificación exacta de los diferentes vectores pertenecientes a este grupo es fundamental para los estudios epidemiológicos y de control vectorial, principalmente en la Región Amazónica, donde estas especies están ampliamente distribuidas y se ha incrementado el número de casos de la enfermedad en los últimos años. La diferenciación de especies crípticas también ha sido de gran relevancia entre los vectores del subcomplejo *T. sordida* (Panzera *et al.*, 2015).

En los últimos años, se ha observado un cambio en los hábitats de algunas especies de vectores, apareciendo la transmisión en zonas urbanas desfavorecidas y ya no únicamente en zonas rurales. Concretamente, se ha detectado la presencia de *T. tibiamaculata* en algunos barrios y áreas suburbanas de la ciudad de Salvador, en el Estado brasileño de Bahia (Santana *et al.*, 2011; Ribeiro *et al.*, 2015); la presencia de *P. geniculatus*, *T. nigromaculata*, *T. maculata* y *R. prolixus* en zonas metropolitanas de Caracas, Venezuela (Carrasco *et al.*, 2014); *R. neglectus* en áreas urbanas de Araçatuba, São Paulo (Rodrigues *et al.*, 2014), y *P. geniculatus* y *R. robustus* en áreas urbanas de Cochabamba, Bolivia (Rojas-Cortez *et al.*, 2016). Ante estas nuevas situaciones epidemiológicas, las herramientas moleculares permiten una rápida identificación de las poblaciones que están reproduciendo la invasión, lo que facilitará la evaluación del riesgo epidemiológico y el establecimiento de unas pautas de control apropiadas.

Otro aspecto a tener en cuenta con relación a las estrategias de control, son los vectores peridomésticos, puesto que sirven de “puente” entre distintos ecotopos, lo que también resalta la necesidad de campañas de control vectorial enfocadas hacia las especies distribuidas en este entorno (Waleckx *et al.*, 2015), como se puede observar con la gran mayoría de las especies estudiadas, las cuales pueden localizarse en el entorno peridomiciliar asociadas a diferentes animales, conforme se ha comentado en el Capítulo

I del presente trabajo. Varios aspectos deben ser mencionados a la hora de aplicar las medidas de control de las especies presentes en este ecotopo: (i) *T. sordida*, actualmente el triatomino más encontrado en entorno peridoméstico en Brasil (Galvão & Gurgel-Gonçalves, 2014), merece especial atención debido a su amplia distribución geográfica en el país y capacidad de invadir las viviendas, lo que deja claro su gran potencial como transmisor de *T. cruzi* en los distintos ecotopos y la necesidad de campañas de vigilancia específicas; (ii) las especies que tienen como hábitat principal las palmeras, las cuales presentan un gran riesgo en cuanto a transmisores de la enfermedad, ya que estas plantas suelen estar en el peridomicilio sirviendo de enlace entre los demás ecotopos, conforme se ha visto con diferentes especies del género *Rhodnius* (Justi *et al.*, 2010): estos triatominos son capaces de volar desde palmeras en el peridomicilio hacia las viviendas, como se ha visto en el Estado de São Paulo con la especie *R. neglectus*, que ha colonizado palmeras en áreas urbanas del municipio de Araçatuba y desde donde volaba hacia las viviendas (Rodrigues *et al.*, 2014). La especie *P. herreri* también está localizada predominantemente en el medio peridomiciliario y ya ha sido hallada volando de palmeras a los domicilios en la Región Amazónica (Teixeira *et al.*, 2001). Todas las especies citadas anteriormente en este párrafo han sido estudiadas en el presente trabajo, donde se han obtenido diferentes haplotipos para los diferentes marcadores moleculares analizados, muchos de los cuales secuenciados por primera vez. Este hecho es de extrema importancia para la constante vigilancia de las especies que son capaces de servir de conexión entre los diferentes ecotopos, para las futuras campañas de control en los países endémicos de la enfermedad, así como para estudios posteriores de posibles resistencias a insecticidas y adaptación al medio domiciliario.

Otra característica significativa que hay que mencionar en cuanto al control vectorial, es la emergencia de especies anteriormente consideradas estrictamente silvestres o halladas puntualmente en el ambiente peridomiciliario. Aunque en algunos casos estos triatominos presenten una limitada dispersión geográfica y aunque no sean potenciales vectores de la enfermedad de Chagas, necesitan estar bajo vigilancia, como se puede observar con la especie *P. lutzii*. Este triatomino está considerado uno de los vectores secundarios más importantes en Brasil, ya que es capaz de invadir los domicilios volando, está asociado a un gran número de hospedadores y presenta altas tasas de infección por *T. cruzi* (Carcavallo *et al.*, 1998b; Dias-Lima *et al.*, 2003; Caranha *et al.*, 2006). Anteriormente, estaba considerado un vector predominantemente silvestre, sin embargo, su presencia en el peri e intradomicilio se va registrando de manera progresiva, principalmente en el Nordeste de Brasil (Freitas *et al.*, 2004; Barbosa-Silva *et al.*, 2016). Es una especie que ha sido muy poco estudiada, y que su incremento en el medio doméstico resalta la importancia de una continua vigilancia y de más estudios respecto a sus características biológicas y genéticas. En el presente trabajo, se ha podido analizar diferentes genes de este triatomino y obtener nuevos haplotipos para diferentes marcadores moleculares, lo que podrá facilitar el conocimiento de la dispersión y adaptación de este vector.

Las exitosas campañas de control de *T. infestans* como vector de la enfermedad de Chagas en Brasil y el hecho de que en 2006 el país haya sido declarado libre de la transmisión de *T. cruzi* por este triatomino, ha generado una nueva situación epidemiológica en el país. Se ha observado que algunas especies, antes consideradas secundarias, han ganado más importancia al ocupar el nicho ecológico que ha dejado *T. infestans* al ser “eliminado” (Dias, 2009; 2015). Esta situación se ha dado con *P. megistus* (Patterson *et al.*, 2009) y las especies del complejo *T. brasiliensis* (Costa & Lorenzo, 2009; Folly-Ramos *et al.*, 2016) en Brasil, con *M. spinolai* en Chile (Cattan *et al.*, 2002) y con *T. guasayana* en Argentina (Vazquez-Prokopec *et al.*, 2005), de modo que se

V. DISCUSIÓN

resalta, una vez más, que especies antes consideradas secundarias pueden pasar a tener papeles importantes en la transmisión de la enfermedad, por lo que no debe descuidarse la vigilancia de las zonas tratadas ni el estudio de estos vectores.

Otro aspecto importante a destacar, es la necesidad de vigilancia y nuevos estudios acerca de las especies que han sido reclasificadas y agrupadas dentro del complejo *T. brasiliensis*, como *T. lenti*, *T. petrocchiaie* y *T. bahiensis* (Mendonça *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, in press). Estos triatominos merecen especial atención en cuanto a vigilancia y control, ya que, algunas de ellas, presentan una grand similitud morfológica, como por ejemplo entre *T. lenti* y *T. bahiensis* (Mendonça *et al.*, 2016) y entre *T. brasiliensis* y *T. petrocchiaie*, estas dos últimas, inicialmente sinonimizadas (Lent & Wygodzinsky, 1979; Almeida *et al.*, 2016). Además, las especies de este complejo pueden localizarse en zonas de solapamiento, como ya se ha podido observar la presencia de *T. brasiliensis* y *T. petrocchiaie* en una misma roca (Almeida *et al.*, 2016). A parte de coincidir en algunas zonas de distribución, cabe destacar la posibilidad de formar híbridos y de invadir domicilios, habiendo sido halladas, recientemente, ninfas de estadio 5 de *T. petrocchiaie* dentro de viviendas (Lilioso, 2015). Excepto *T. bahiensis*, todas las demás especies del complejo han sido estudiadas en la presente Tesis y se han podido obtener diferentes haplotipos para los distintos marcadores moleculares analizados, lo que facilitará los futuros estudios genéticos, la identificación de posibles hibridaciones y los posibles cambios de adaptación domiciliar acerca de estos vectores.

Otras tres especies estudiadas en el presente trabajo y que merecen especial atención en cuanto al control son *T. tibiamaculata*, *T. melanocephala* y *T. vitticeps*. Anteriormente, estaban consideradas miembros del subcomplejo Brasiliensis (Schofield & Galvão, 2009), aunque esta clasificación era incierta para *T. tibiamaculata* y *T. vitticeps*. Al día de hoy, ya se ha podido comprobar, mediante diversos estudios, que estas tres especies no pertenecen a este subcomplejo, e, incluso, que *T. tibiamaculata* se ubica más próxima filogenéticamente a especies del género *Panstrongylus* (Justi *et al.*, 2014; Gardim *et al.*, 2014; Oliveira *et al.*, in press), lo que también ha sido certificado en el presente trabajo. El hecho de que se haya comprobado la proximidad filogenética entre estas dos especies resalta la importancia del constante monitoreo de *T. tibiamaculata*, ya que *P. megistus* está considerada, actualmente, como la especie más ampliamente distribuida en Brasil y uno de los principales vectores reponsables de la transmisión de *T. cruzi*. Cabe mencionar, asimismo, que, conforme ya mencionado anteriormente, *T. tibiamaculata* ya ha sido hallada infectada por *T. cruzi* en áreas urbanas del Estado de Bahia (Santana *et al.*, 2011; Ribeiro *et al.*, 2015), siendo también el responsable en 2008, junto a *T. vitticeps*, de los diversos casos de transmisión oral de la enfermedad de Chagas en el Estado brasileño de Santa Catarina (Steindel *et al.*, 2008). Estos incidentes demuestran la capacidad de este triatomo de adaptarse a diferentes ecotopos, así como de servir de conexión entre el medio silvestre, domiciliar y urbano, destacando la necesidad de su constante vigilancia y correcta identificación.

En cuanto a las especies *T. melanocephala* y *T. vitticeps*, anteriormente sinonimizadas (Lent & Wygodzinsky, 1979) debido a su gran parecido morfológico, han sido posteriormente diferenciadas y consideradas especies hermanas (Severi-Aguiar *et al.*, 2006; Alevi *et al.*, 2013a; 2014), lo que se ha podido comprobar en el presente estudio. Estos vectores están presentes mayoritariamente en el medio peridomiciliar, aunque ya han sido hallados dentro de domicilios y presentando altas tasas de infección por *T. cruzi* (Santos *et al.*, 2005; 2006; Leite *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2015). Debido al dinámico escenario epidemiológico de domiciliación de los vectores triatominos, es extremadamente importante la vigilancia y control de estas especies, ya

que son potenciales transmisores de la enfermedad y pueden servir de puente entre los diferentes ecotopos, los cuales pueden, en un futuro, involucrarse en el proceso de adaptación a los domicilios.

Para finalizar, cabe destacar los siguientes puntos con relación al control de la enfermedad de Chagas: (i) que desde los años 60, diversas estrategias de control vectorial han sido probadas, como el uso de hormonas juveniles, el empleo de insectos patógenos para los triatominos y el uso de trampas impregnadas con insecticida, por ejemplo. Sin embargo, la fumigación del peri e intradomicilio con insecticidas sigue siendo el enfoque más eficiente y eficaz hasta el momento (Dias & Schofield, 1999; WHO, 2002; Coura & Dias, 2009; Dias, 2015); (ii) un importante aspecto a tener en cuenta, es la aparición de focos de resistencia a insecticidas, que requiere del estudio genético de los vectores para detectar factores de resistencia. Se ha observado una mayor tendencia a la aparición de resistencias en poblaciones en proceso de domiciliación y con elevada variabilidad genética (Mougabure-Cueto & Picollo, 2015); (iii) otro gran problema, es la situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en países no endémicos, resultado de la migración de los pacientes con la enfermedad de países endémicos a países no endémicos, como es el caso de los Estados Unidos, Canadá, países Europeos y Asiáticos y Australia. El gran riesgo en estos casos es la falta de diagnóstico y control de los donantes de sangre, que generalmente no se hace en países no endémicos de la enfermedad, además de la necesidad del control de los bancos de sangre y atención médica para los migrantes infectados con la enfermedad de Chagas (Coura & Viñas, 2010; Coura, 2013); (iv) resaltar, además, la necesidad del control de las vías de transmisión no vectorial de la enfermedad, como la transfusión de sangre, trasplante de órganos, vía congénita y la vía oral (a través de alimentos contaminados con las heces de los vectores), cuyos números de casos han ascendido en los últimos años, principalmente en la Región Amazónica, conforme ya comentado en el anterior apartado de este Capítulo (Teixeira *et al.*, 2001; Coura *et al.*, 2002; 2013; 2014; Aguilar *et al.*, 2007; Coura & Junqueira, 2012; Monteiro *et al.*, 2012; Coura & Junqueira, 2015).

En resumen, otras características epidemiológicas pueden ser observadas al día de hoy, ya que a medida que la transmisión vectorial en los países endémicos ha sido controlada, principalmente por la aplicación de insecticidas en el medio domiciliar, otros mecanismos de transmisión han pasado a tener mayor importancia, como por ejemplo, la transmisión por vía oral y las transmisiones por vía transfusional en los países no endémicos. Además, hay que resaltar dos aspectos actuales de gran importancia, la resistencia a los insecticidas y el proceso de reinvasión y domiciliación por parte de algunos vectores.

Estas nuevas circunstancias vienen a demostrar que la vigilancia frente a la enfermedad de Chagas debe de ser constante y que su control puede ser posible a través de medidas tales como:

- la eliminación de los vectores domésticos y seguimiento de las reinfestaciones y colonización de los domicilios por parte de algunas especies de vectores;
- incesantes estudios acerca de los rasgos genéticos, biológicos y comportamentales de los triatominos;
- el control de los donantes de sangre en todo el mundo;
- el tratamiento y seguimiento de pacientes en fase aguda y crónica de la enfermedad;

V. DISCUSIÓN

- la educación de la población de las zonas endémicas de la enfermedad, con el objetivo de evitar la transmisión de *T. cruzi* por vía oral y supervisar la presencia de triatomíneos en las zonas del peri e intradomicilio;
- y, obviamente, acciones políticas que fomenten la mejoría social de las poblaciones presentes en las zonas endémicas más susceptibles de contraer la enfermedad de Chagas.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

Según lo anteriormente expuesto y en base a los resultados y discusión del presente trabajo se pueden alcanzar las siguientes conclusiones:

- Es la primera vez que se lleva a cabo un haplotipaje molecular individualizado para cada espécimen de triatomo mediante la caracterización de marcadores del ADN ribosomal nuclear y del ADN mitocondrial combinados de los principales vectores de la enfermedad de Chagas en Brasil y algunos países limítrofes.
- Se ratifica la utilidad de los marcadores moleculares del ADN ribosomal nuclear como herramienta para diferenciar entre distintos géneros y para estudios interespecíficos.
- Los genes mitocondriales presentan valores de variabilidad mucho mayores que los marcadores del ADN ribosomal nuclear, lo que les confiere una mayor resolución a la hora de diferenciar entre poblaciones de una misma especie o subespecie.
- Las secuencias obtenidas para el marcador ITS-2 han sido más cortas que las del ITS-1 para todas las especies de los géneros *Triatoma* y *Panstrongylus* estudiadas.
- Para las especies del género *Rhodnius*, en cambio, las secuencias del marcador ITS-2 han sido mucho más largas que las del ITS-1.
- El ITS-1 de las especies del género *Rhodnius* ha presentado secuencias de corta longitud, con valores que varían entre 178 pb para la especie *R. neglectus*, y 237 pb para *R. pictipes*.
- Se ha obtenido la secuencia de la región intergénica completa para todos los especímenes estudiados (excepto para las especies *P. lutzii* y *R. neglectus*), con valores comprendidos entre 1056 pb, para *R. robustus*, y 1562 pb, para *T. vitticeps*, con una longitud media de 1319 pb.
- Para el gen 16S, se han obtenido fragmentos con una longitud media de 537 pb, con valores comprendidos entre 500 pb, para la especie *R. robustus*, y 546 pb para la especie *R. neglectus*. Cabe mencionar que, para la gran mayoría de las especies estudiadas, se ha secuenciado la mayor longitud del gen 16S.
- El gen ND1 ha sido secuenciado al completo para todas las especies analizadas, excepto para *P. lutzii*. Además, los haplotipos nucleotídicos y aminoacídicos generados por este marcador han sido obtenidos por primera vez en la presente Tesis para todas los triatomos estudiados, excepto para *P. herreri* y *R. robustus* procedente de Venezuela, que han sido idénticos a los haplotipos ya publicados en GenBank.
- Para el gen CO1, se han obtenido fragmentos de longitudes comprendidas entre 648 pb (para la especie *T. sordida*), y 706 pb (para la especie *T. pseudomaculata*), con una media de 698 pb. Este hecho ha permitido generar nuevos haplotipos nucleotídicos y aminoacídicos para casi la totalidad de los triatomos estudiados (excepto para *P. geniculatus*, *P. lutzii* y *R. robustus*).

VI. CONCLUSIONES

- El gen CytB completo ha sido obtenido por primera vez para las especies *T. sordida*, *T. melanica* y *T. lenti*, con una longitud de 1134 pb. Para las demás especies estudiadas, se han obtenido fragmentos con longitudes comprendidas entre 717 pb (para la especie *T. vitticeps*) y 1083 pb (para la especie *T. pseudomaculata*), con una media de 815 pb, proporcionando nuevos haplotipos para este marcador.
- Para los genes que se han obtenido la secuencia completa, en este caso el ND1 y CytB, se ha observado que el primero presenta una longitud más corta (924 pb para los géneros *Triatoma* y *Panstrongylus*, y 939 pb para el género *Rhodnius*) que el gen CytB (1134 pb, obtenido solo para especies del género *Triatoma*).
- La combinación en un estudio multigénico de varios marcadores ribosomales nucleares y varios marcadores mitocondriales, ha permitido detectar la mayor variabilidad genética posible entre diferentes especies de triatominos, con un total de: 30 haplotipos de la región intergénica completa; 33 haplotipos del gen 16S; 29 haplotipos nucleotídicos y 26 haplotipos aminoacídicos del gen ND1 completo; 28 haplotipos nucleotídicos y 21 haplotipos aminoacídicos del gen CO1; y 30 haplotipos nucleotídicos y 28 haplotipos aminoacídicos del gen CytB.
- Entre los vectores de una misma especie procedentes de ecotopos peridomiciliar e intradomiciliar analizados: *T. pseudomaculata* (silvestre e intradomicilio), *T. brasiliensis* (silvestre y peridomicilio) y *T. petrocchiai* (silvestre y peridomicilio), no se han encontrado, con los marcadores utilizados, cambios genéticos significativos que confirmen un fenómeno de adaptación al medio doméstico.
- Los análisis de las secuencias obtenidas de los especímenes de *T. pseudomaculata* estudiados, han proporcionado nuevos haplotipos nucleotídicos y aminoacídicos para todos los marcadores moleculares analizados. Resaltando, además, que la región intergénica completa y el gen ND1 completo han sido secuenciados por primera vez para esta especie en el presente estudio.
- Para la especie *T. sordida*, se han podido obtener haplotipos nucleotídicos y aminoacídicos nuevos para todos los marcadores moleculares analizados. Cabe destacar que, en el presente trabajo, se han secuenciado por primera vez el gen ND1 y el gen CytB completos de este vector.
- *T. pseudomaculata* y *T. sordida* son especies muy próximas genéticamente, lo que ha podido ser confirmado en los árboles filogenéticos analizados y en los análisis de las distancias genéticas llevados a cabo para los distintos marcadores moleculares.
- Para los especímenes estudiados de *T. brasiliensis*, con el mayor número de poblaciones analizadas en este estudio, se ha podido obtener haplotipos nuevos para todos los marcadores moleculares, con la única excepción de la región intergénica completa, cuyos haplotipos han sido iguales a los publicados en GenBank. Para el gen CytB de esta especie, se ha obtenido la mayor longitud secuenciada hasta el presente momento.

- Las muestras de *T. brasiliensis* procedentes del Estado de Bahia, han presentado haplotipos idénticos a las muestras del Estado de Ceará, lo que podría indicar un flujo génico entre estos Estados.
- Los análisis de los distintos haplotipos obtenidos para las muestras de *T. brasiliensis* procedentes de Icó/Ceará, así como los análisis de las distancias genéticas, han proporcionado resultados que diferencian claramente a esta población de las demás poblaciones de la especie *T. brasiliensis* estudiadas. Este hecho podría identificar a estos especímenes como alguna subespecie o híbrido, indicando que son necesarios estudios más amplios para tal confirmación.
- Los haplotipos obtenidos para las especies *T. juazeirensis* y *T. sherlocki* han sido diferentes según la localidad de procedencia de las muestras (todas del Estado de Bahia) para todos los marcadores del ADN mitocondrial estudiados. Además, cabe resaltar que el gen ND1 completo ha sido obtenido por primera vez para estas especies, y que la longitud de los haplotipos generados para los genes CO1 y CytB han sido las más largas ya secuenciadas hasta el momento.
- Se ha podido confirmar que *T. juazeirensis* y *T. brasiliensis* son especies genéticamente muy próximas, las cuales han compartido nodo común en todos los árboles filogenéticos obtenidos.
- Las muestras de la especie *T. melanica* analizadas han generado nuevos haplotipos nucleotídicos y aminoacídicos para todos los marcadores del ADN mitocondrial estudiados, además, los genes ND1 y CytB han sido secuenciados al completo por primera vez para esta especie.
- Se obtiene por primera vez un estudio genético de especímenes de *T. melanica* procedente de Paus-Pretos/Bahia.
- En este trabajo se ha hecho la mayor caracterización genética para las especies *T. lenti* y *T. petrocchiaie*, obteniéndose nuevos haplotipos nucleotídicos y aminoacídicos para todos los marcadores moleculares analizados. Además, se ha obtenido por primera vez el gen ND1 completo para las dos especies y el gen CytB completo para *T. lenti*. Este hecho es de gran relevancia, ya que actualmente han sido clasificadas como especies del complejo *T. brasiliensis*, lo que ha podido ser comprobado en este estudio mediante todos los análisis filogenéticos.
- Para las especies *T. melanocephala*, *T. tibiamaculata* y *T. vitticeps*, al igual que los triatomos anteriormente citados, se han obtenido haplotipos nucleotídicos y aminoacídicos nuevos para todos los marcadores analizados, y por primera vez, se ha secuenciado la región intergénica completa y el gen ND1 completo para estas 3 especies.
- La especie *T. tibiamaculata* ha presentado el mayor porcentaje de A y T entre todos los haplotipos de todos los marcadores moleculares analizados para las especies del género *Triatoma*. Asimismo, hay que destacar que esta especie se ha ubicado en el clado del género *Panstrongylus* en todos los árboles filogenéticos analizados.

VI. CONCLUSIONES

- En los análisis de las distancias genéticas de todas las especies y para todas los marcadores moleculares analizados, se ha podido observar que *T. tibiamaculata* es la especie más alejada de las demás especies del género *Triatoma*.
- A partir de los resultados observados para *T. tibiamaculata*, se propone una revisión de su posición taxónomica para posible reclasificación de esta especie.
- Para *T. vitticeps*, se ha podido obtener haplotipos nuevos para todos los marcadores moleculares analizados. El hecho de que se haya observado un gran número de mutaciones entre los haplotipos de la región intergénica completa y del gen 16S obtenidos para las muestras de esta especie procedentes de 2 Estados fronterizos de Brasil, y ante la imposibilidad de analizar tales diferencias en los demás genes mitocondriales, se concluye que es necesario un estudio que abarque poblaciones de diferentes localidades de esta especie y diferentes genes mitocondriales para un posible análisis de la variabilidad genética de este triatomino.
- Las especies *T. melanocephala* y *T. vitticeps* se localizan muy próximas filogenéticamente, compartiendo un nodo común en todos los árboles analizados. Además, se encuentran más alejadas de las demás especies del género *Triatoma*.
- Mediante los análisis filogenéticos llevados a cabo en este estudio, se ha podido confirmar la exclusión de *T. melanocephala*, *T. tibiamaculata* y *T. vitticeps* del denominado subcomplejo Brasiliensis.
- A partir de los resultados que los distintos marcadores moleculares han proporcionado y de los análisis filogenéticos obtenidos en el presente trabajo, se propone la unificación entre los taxones “complejo *T. brasiliensis*” y “subcomplejo Brasiliensis”, que, independiente de la nomenclatura final, está formado por las siguientes especies: *T. b. brasiliensis*, *T. b. macromelasoma*, *T. juazeirensis*, *T. sherlocki*, *T. melanica*, *T. lenti*, *T. petrocchiaae* y *T. bahiensis*.
- Los análisis filogenéticos llevados a cabo en el presente trabajo, sitúan en un mismo grupo a las especies *T. lenti*, *T. melanica* y *T. sherlocki*. Además, se confirma la posición de *T. lenti* como especie hermana de *T. melanica*.
- *T. petrocchiaae* es la especie más alejada entre todos los miembros del complejo *T. brasiliensis*, ubicándose en un grupo separado de las demás especies de este complejo en todos los análisis filogenéticos llevados a cabo en el presente estudio.
- Para las especies del género *Panstrongylus* estudiadas, se han obtenido nuevos haplotipos nucleotídicos y aminoacídicos para la mayoría de los genes mitocondriales analizados, excepto para la ND1 de *P. herreri*.
- *P. megistus* ha presentado la mayor variabilidad genética entre las especies del género *Panstrongylus* estudiadas.
- Una vez más se ha demostrado la gran importancia de la caracterización genética de los vectores del género *Rhodnius*, ya que la gran mayoría están considerados

especies crípticas, siendo de extrema importancia las identificaciones exactas de estos triatominos.

- Se ha podido obtener nuevos haplotipos para la gran mayoría de las especies analizadas del género *Rhodnius*. Además, mediante los análisis filogenéticos se ha podido confirmar la división de los vectores de este género en dos grupos: “el grupo robustus” y el “grupo pictipes”, conforme ya mencionado en estudios anteriores.
- Se ha realizado por primera vez la caracterización genética y los análisis filogenéticos de diferentes especies de triatominos combinando 3 marcadores del ADN ribosomal nuclear y cuatro genes mitocondriales.
- Hasta el momento, no se ha detectado la existencia de secuencias pseudogénicas en el ADN ribosomal (5.8S + ITS-2) entre las especies de triatominos de Brasil estudiadas, aunque cabe resaltar que son necesarios estudios más amplios (con un mayor número de muestras) y específicos (con diseño de cebadores adecuados para cada género) para obtener conclusiones más contundentes.
- Debido al gran aumento del número de casos de la enfermedad de Chagas en la Región Amazónica, la caracterización genética de especies del género *Rhodnius*, los cuales están distribuidos mayoritariamente en esta zona, es de extrema importancia para el adecuado control vectorial y estudios epidemiológicos.
- La información aportada por los marcadores moleculares constituye una herramienta fundamental para el correcto desarrollo de las campañas de control y vigilancia. Son la herramienta clave para la identificación de especies crípticas y permiten identificar el origen de los insectos en nuevas colonizaciones y reinvasiones domiciliarias, así como los posibles cambios adaptativos para las resistencias a los insecticidas, lo que constituye una información clave para la correcta planificación de las acciones de control vectorial.
- La presencia de un gran número de especies de triatominos en el entorno doméstico, muchas de las cuales colonizando las viviendas, además del fenómeno de resistencia a los insecticidas y de la reinfestación de domicilios después del tratamiento químico de fumigación, resalta la necesidad de una mayor vigilancia en este ecotopo, así como de más estudios moleculares para la identificación de los posibles cambios genéticos generados en los casos citados.
- En resumen, el hecho de que muchos triatominos presenten una gran similitud morfológica, así como las necesarias revisiones taxonómicas de estos vectores, resaltan la importancia que los estudios moleculares presentan, ya que son fundamentales para la exacta diferenciación entre especies y para los posteriores análisis de las relaciones filogenéticas, con los objetivos principales de fomentar campañas de control efectivas y la constante vigilancia del proceso de domiciliación llevado a cabo por diferentes especies. Ha sido con este propósito, que se ha llevado a cabo el presente estudio, donde se ha podido analizar distintos marcadores moleculares del ADN ribosomal nuclear y del ADN mitocondrial de los principales vectores de la enfermedad de Chagas en Brasil y países limítrofes,

VI. CONCLUSIONES

y obtener diferentes haplotipos, muchos de los cuales han sido genes secuenciados por primera vez.

CAPÍTULO VII. BIBLIOGRAFÍA

- Abad-Franch F. & Monteiro F. A., 2005 - Molecular research and the control of Chagas disease vectors. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, 77: 437-454.
- Abad-Franch F. & Monteiro F. A., 2007 - Biogeography and evolution of Amazonian triatomines (Heteroptera: Reduviidae): implications for Chagas disease surveillance in humid forest ecoregions. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 102: 57-69.
- Abad-Franch F., Monteiro F. A., Jaramillo O. N., Gurgel-Gonçalves R., Dias F. B. & Diotaiuti L., 2009 - Ecology, evolution, and the long-term surveillance of vector-borne Chagas disease: a multi-scale appraisal of the tribe Rhodniini (Triatominae). *Acta Tropica*, 110: 159-177.
- Abad-Franch F., Pavan M. G., Jaramillo-O N., Palomeque F. S., Dale C., Chaverra D. & Monteiro F. A., 2013 - *Rhodnius barretti*, a new species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) from western Amazonia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 108: 92-99.
- Abad-Franch F., Diotaiuti L., Gurgel-Gonçalves R. & Gurtler R. E., 2014 - On bugs and bias: improving Chagas disease control assessment. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 109: 125-130.
- Abascal F., Zardoya R. & Telford M. J., 2010 - TranslatorX: multiple alignment of nucleotide sequences guided by amino acid translations. *Nucleic Acids Research*, 38: W7-W13.
- Afonso A. M., Ebell M. H. & Tarleton R. L., 2012 - A systematic review of high quality diagnostic tests for Chagas disease. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6: e1881.
- Aguilar H. M., Abad-Franch F., Dias J. C., Junqueira A. C. & Coura J. R., 2007 - Chagas disease in the Amazon Region. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 102: 47-55.
- Albajar-Viñas P. & Dias J. C., 2014 - Advancing the treatment for Chagas' disease. *New England Journal of Medicine*, 370: 1942-1943.
- Alevi K. C., Mendonça P. P., Pereira N. P., Rosa J. A. & Azeredo-Oliveira M. T., 2012a - Karyotype of *Triatoma melanocephala* Neiva and Pinto (1923). Does this species fit in the Brasiliensis subcomplex? *Infection, Genetics and Evolution*, 12: 1652-1653.
- Alevi K. C., Mendonça P. P., Succi M., Pereira N. P., Rosa J. A. & Azeredo-Oliveira, M.T., 2012b - Karyotype and spermatogenesis in *Triatoma lenti* (Hemiptera: Triatominae), a potential Chagas vector. *Genetics and Molecular Research*, 11: 4278-4284.
- Alevi K. C., Mendonça P. P., Pereira N. P., Fernandes A. L., Rosa J.A. & Azeredo-Oliveira M. T., 2013a - Analysis of spermiogenesis like a tool in the study of the triatomines of the Brasiliensis subcomplex. *Comptes Rendus Biologies*, 336: 46-50.
- Alevi K. C., Mendonça P. P., Pereira N. P., Guerra A. L., Facina C. H., da Rosa J. A. & de Azeredo Oliveira M. T., 2013b - Distribution of constitutive heterochromatin in two species of triatomines: *Triatoma lenti* Sherlock and Serafim (1967) and *Triatoma sherlocki* Papa, Jurberg, Carvalho, Cerqueira & Barata (2002). *Infection Genetics and Evolution*, 13: 301-303.
- Alevi K. C., Rosa J. A. & Azeredo-Oliveira M. T., 2014 - Distribution of constitutive heterochromatin in *Triatoma melanocephala* (Hemiptera, Triatominae). *Genetics and Molecular Research*, 13: 7899-7903.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Alevi K. C., Ravazi A., Franco-Bernardes M. F., Rosa J. A. & Azeredo-Oliveira M. T., 2015a - Chromosomal evolution in the pallescens group (Hemiptera, Triatominae). *Genetics and Molecular Research*, 14: 12654-12659.
- Alevi K. C., Rodas L. A., Tartarotti E., Azeredo-Oliveira M. T. & Guirado M. M., 2015b - Entoepidemiology of Chagas disease in the Western region of the State of São Paulo from 2004 to 2008, and cytogenetic analysis in *Rhodnius neglectus* (Hemiptera, Triatominae). *Genetics and Molecular Research*, 14: 5775-5784.
- Almeida C. E., Pacheco R. S., Haag K., Dupas S., Dotson E. M. & Costa J., 2008 - Inferring from the CytB gene the *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) genetic structure and domiciliary infestation in the state of Paraíba, Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 78: 791-802.
- Almeida C. E., Folly-Ramos E., Peterson A. T., Lima-Neiva V., Gumiel M., Duarte R., Lima M. M., Locks M., Beltrão M. & Costa J., 2009 - Could the bug *Triatoma sherlocki* be vectoring Chagas disease in small mining communities in Bahia, Brazil? *Medical and Veterinary Entomology*, 23: 410-417.
- Almeida C. E., Oliveira H. L., Correia N., Dornak L. L., Gumiel M., Neiva V. L., Harry M., Mendonça V. J., Costa J. & Galvao C., 2012 - Dispersion capacity of *Triatoma sherlocki*, *Triatoma juazeirensis* and laboratory-bred hybrids. *Acta Tropica*, 122: 71-79.
- Almeida C. E., Faucher L., Lavina M., Costa J. & Harry M., 2016 - Molecular individual-based approach on *Triatoma brasiliensis*: inferences on triatomine foci, *Trypanosoma cruzi* natural infection prevalence, parasite diversity and feeding sources. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10: e0004447.
- Angulo-Silva V. M., Castellanos-Domínguez Y. Z., Flórez-Martínez M., Esteban - Adarme L., Pérez-Mancipe W., Farfán-García A. E., & Luna-Marín K. P., 2016 - Human Trypanosomiasis in the Eastern Plains of Colombia: New Transmission Scenario. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 94: 348-351.
- Araújo A., Jansen A. M., Reinhard K. & Ferreira L. F., 2009 - Paleoparasitology of Chagas disease - a review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104: 9-16.
- Assis G. F., Azeredo B. V., Carbajal de la Fuente A. L., Diotaiuti L. & de Lana M., 2007 - Domiciliation of *Triatoma pseudomaculata* (Corrêa e Espínola 1964) in the Jequitinhonha Valley, State of Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 40: 391-396.
- Assis G. F., Azeredo B. V., Gorla D., Diotaiuti L. & de Lana M., 2009 - Entomological surveillance of Chagas disease in Berilo municipality, Jequitinhonha Valley, State of Minas Gerais, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42: 615-621.
- Aufderheide A. C., Salo W., Madden M., Streitz J., Buikstra J., Guhl F., Arriaza B., Renier C., Wittmers L. E. Jr., Fornaciari G. & Allison M., 2004 - A 9,000-year record of Chagas' disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*, 101: 2034-2039.
- Baker J. R., Miles M. A., Godfrey D. G. & Barrett T. V., 1978 - Biochemical characterization of some species of *Trypanosoma* (*Schizotrypanosoma*) from bats (Microchiroptera). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 27: 483-491.

- Ballard J. W. & Rand D. M., 2005 - The population biology of mitochondrial DNA and its phylogenetic implications. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36: 621-642.
- Balvín O., Roth S. & Vilimova J., 2015 - Molecular evidence places the swallow bug genus *Oeciacus* Stål within the bat and bed bug genus *Cimex* Linnaeus (Heteroptera: Cimicidae). *Systematic Entomology*, 40: 652-665.
- Bandelt H. J., Forster P. & Röhl A., 1999 - Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 37-48.
- Barbosa S. E., Soares R. P., Pires H. H. & Diotaiuti L., 2001 - Experimental evidence for a demographic cline in *Panstrongylus megistus* populations. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 773-775.
- Barbosa S. E., Dujardin J. P., Soares R. P., Pires H. H., Margonari C. M., Romanha A. J., Panzera F., Linardi P. M., Duque-de-Melo M., Pimenta P. F., Pereira M. H. & Diotaiuti L., 2003 - Interpopulation variability among *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Reduviidae) from Brazil. *Journal of Medical Entomology*, 40: 411-420.
- Barbosa S. E., Belisário C. J., Souza R. C. M., Paula A. S., Linardi P. M., Romanha A. J. & Diotaiuti L., 2006 - Biogeography of Brazilian populations of *Panstrongylus megistus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) based on molecular marker and paleo-vegetational data. *Acta Tropica*, 99: 144-154.
- Barbosa-Silva A. N., Câmara A. C., Martins K., Nunes D. F., Oliveira P. I., Azevedo P. R., Chiari E. & Galvão L. M., 2016 - Characteristics of Triatomine infestation and natural *Trypanosoma cruzi* infection in the State of Rio Grande do Norte, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 49: 57-67.
- Bargues M. D. & Mas-Coma S., 1997 - Phylogenetic analysis of lymnaeid snails based on 18s rDNA sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 14: 569-577.
- Bargues M. D., Marcilla A., Ramsey J. M., Dujardin J. P., Schofield C. J. & 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: 567-73.
- Bargues M. D., Klisiowicz D. R., Panzera F., Noireau F., Marcilla A., Perez R., Rojas M. G., O'Connor J. E., Gonzalez-Candelas F., Galvão C., Jurberg J., Carcavallo R. U., Dujardin J. P. & Mas-Coma S., 2006 - Origin and phylogeography of the Chagas disease main vector *Triatoma infestans* based on nuclear rDNA sequences and genome size. *Infection, Genetics and Evolution*, 6: 46-62.
- Bargues M. D., Klisiowicz D. R. & Mas-Coma S., 2007 - The ITS-1 of the ribosomal DNA as a new molecular marker in Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). *Actualización de la Trypanosomiasis Americana*. Universidad de Asunción (Paraguay), pp. 111-119.
- Bargues M. D., Klisiowicz D. R., Gonzalez 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: e233.
- Bargues M. D., Schofield C. J. & Dujardin J. P., 2010 - Classification and Phylogeny of the Triatominae. In: Telleria J. & Tibayrenc M., Eds. *American trypanosomiasis: Chagas disease one hundred years of research*. Elsevier (Burlington), pp. 117-147.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Bargues M. D., Zuriaga M. A. & Mas-Coma S., 2014 - Nuclear rDNA pseudogenes in Chagas disease vectors: evolutionary implications of a new 5.8S+ITS-2 paralogous sequence marker in triatomines of North, Central and northern South America. *Infection, Genetics and Evolution*, 21: 134-156.
- Bargues M. D., Schofield C. J. & Dujardin J. P., 2016 - Classification and Phylogeny of the Triatominae. In: Telleria J. & Tibayrenc M., Eds. *American trypanosomiasis: Chagas disease one hundred years of research*. Elsevier (Burlington), pp: in press.
- Bérenger J. M. & Pluot-Sigwalt D., 2002 - *Rhodnius amazonicus* Almeida, Santos & Sposina, 1973, bona species, close to *R. pictipes* Stål, 1872 (Heteroptera, Reduviidae, Triatominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97: 73-77.
- Bezerra C. M., Cavalcanti L. P., de Souza R. de C., Barbosa S. E., Xavier S. C., Jansen A. M., Ramalho R. D. & Diotaiuti L., 2014 - Domestic, peridomestic and wild hosts in the transmission of *Trypanosoma cruzi* in the Caatinga area colonised by *Triatoma brasiliensis*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 109: 887-898.
- Blair D., Agatsuma T., Watanabe T., Okamoto M. & Ito A., 1997 - Geographical genetic structure within the human lung fluke, *Paragonimus westermani*, detected from DNA sequences. *Parasitology*, 115: 411-417.
- Borges E. C., Dujardin J. P., Schofield C. J., Romanha A. J. & Diotaiuti L., 2000 - Genetic variability of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae) populations. *Journal of Medical Entomology*, 37: 872-877.
- Borges E. C., Dujardin J. P., Schofield C. J., Romanha A. J. & Diotaiuti L., 2005 - Dynamics between sylvatic, peridomestic and domestic populations of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae) in Ceará State, Northeastern Brazil. *Acta Tropica*, 93: 119-126.
- Buckler IV E. S., Ippolito A. & Holtsford T. P., 1997 - The evolution of ribosomal DNA: divergent paralogues and phylogenetic implications. *Genetics*, 145: 821-832.
- Calleros L., Panzera F., Bargues M. D., Monteiro F. A., Klisiowicz D. R., Zuriaga M. A., Mas-Coma S. & Pérez R., 2010 - Systematics of *Mepraia* (Hemiptera-Reduviidae): cytogenetic and molecular variation. *Infection, Genetics and Evolution*, 10: 221-228.
- Campos R., Torres-Pérez F., Botto-Mahan C., Coronado X. & Solari, A., 2013 - High phylogeographic structure in sylvatic vectors of Chagas disease of the genus *Mepraia* (Hemiptera: Reduviidae). *Infection, Genetics and Evolution*, 19: 280-286.
- Canale G. R., Peres C. A., Guidorizzi C. E., Gatto C. A. & Kierulff M. C., 2012 - Pervasive defaunation of forest remnants in a tropical biodiversity hotspot. *PLoS One*, 7: e41671.
- Caranha L., Lorosa E. S., Rocha D. S., Jurberg J. & Galvão C., 2006 - Estudo das fontes alimentares de *Panstrongylus lutzii* (Neiva and Pinto 1923) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) no Estado do Ceará. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 39: 347-351.
- Carbajal de la Fuente A. L., Minoli S. A., Lopes C. M., Noireau F., Lazzari C. R. & Lorenzo M. G., 2007 - Flight dispersal of the Chagas disease vectors *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma pseudomaculata* in northeastern Brazil. *Acta Tropica*, 101: 115-119.
- Carbajal de la Fuente A. L., Porcasi X., Noireau F., Diotaiuti L. & Gorla D. E., 2009 - The association between the geographic distribution of *Triatoma pseudomaculata* and *Triatoma wygodzinskyi* (Hemiptera: Reduviidae) with environmental variables

- recorded by remote sensors. *Infection, Genetics and Evolution*, 9: 54-61.
- Carcavallo R. U. & Martinez A., 1985 - Biología, Ecología y Distribución Geográfica de los Triatomíneos Americanos. In: Carcavallo R. U., Rabinovich J. E. & Tonn R. J., Eds. *Factores Biológicos y Ecológicos en la Enfermedad de Chagas*, vol. II. Organización Panamericana de la Salud (Buenos Aires), pp. 149-208.
- Carcavallo R. U., Rocha D. S., Galíndez-Girón I., Sherlock I., Galvão C., Martinez A., Tonn R. J. & Cortón E., 1998a - Feeding sources and patterns. In: Carcavallo R. U., Galíndez Girón I., Jurberg J. & Lent H. Eds. *Atlas of Chagas' Disease Vectors in the Americas*, vol. II. Fiocruz (Rio de Janeiro), pp. 537-560.
- Carcavallo R. U., Rodríguez M. E., Salvatella R., Curto de Casas S. I., Sherlock I.S., Galvão C., Rocha D. S., Galíndez Girón I., Arocha M. A. O., Martinez A., Da Rosa I. Á., Canale D. M., Farr T. H. & Barata J. M., 1998b - Habitats and related fauna. In: Carcavallo R. U., Galíndez Girón I., Jurberg J. & Lent H. Eds. *Atlas of Chagas' Disease Vectors in the Americas*, vol. II. Fiocruz (Rio de Janeiro), pp. 561-600.
- Carcavallo R. U., Curto de Casas S. I., Sherlock I. A., Galíndez Girón I., Jurberg J. & Galvão, C., 1999a - Geographic distribution and alti latitudinal dispersion. In: Carcavallo R. U., Galíndez Girón I., Jurberg J. & Lent H., Eds. *Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas*, vol. III. Fiocruz (Rio de Janeiro), pp. 747-792.
- Carcavallo R. U., Jurberg J. & Lent H., 1999b - Phylogeny of the Triatominae. In: Carcavallo R. U., Galíndez Girón I., Jurberg J. & Lent H., Eds. *Atlas of Chagas' disease vectors in the Americas*, vol III. Fiocruz (Rio de Janeiro), pp. 925-980.
- Carcavallo R. U., Jurberg J., Lent H., Galvão C., Steindel M. & Pinto C. J. C., 2001- Nova espécie do complexo oliveirai (nova denominação para o complexo matogrossensis) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 71-79.
- Carcavallo R. U., Jurberg J., Rocha D. S., Galvao C., Noireau F. & Lent H., 2002 - *Triatoma vanda* sp.n. of the oliveirai complex from the State of Mato Grosso, Brazil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97: 649-654.
- Carrasco H. J., Torrellas A., Garcia C., Segovia M. & Feliciangeli M. D., 2005 - Risk of *Trypanosoma cruzi* I (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) transmission by *Panstrongylus geniculatus* (Hemiptera: Reduviidae) in Caracas (Metropolitan District) and neighboring States. Venezuela. *International Journal for Parasitology*, 35: 1379-1384.
- Carrasco H. J., Segovia M., Londoño J. C., Ortegoza J., Rodríguez M. & Martínez C. E., 2014 - *Panstrongylus geniculatus* and four other species of triatomine bug involved in the *Trypanosoma cruzi* enzootic cycle: high risk factors for Chagas' disease transmission in the Metropolitan District of Caracas, Venezuela. *Parasites & Vectors*, 7: 602.
- Castro M. C., Barrett T. V., Santos W. S., Abad-Franch F. & Rafael J. A., 2010 - Attraction of Chagas disease vectors (Triatominae) to artificial light sources in the canopy of primary Amazon rainforest. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 105: 1061-1064.
- Cattan P. E., Pinochet A., Botto-Mahan C., Acuna M. I. & Canals M., 2002 - Abundance of *Mepraia spinolai* in a Periurban zone of Chile. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97: 285-287.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Cavassin F. B., Kuehn C. C., Kopp R. L., Thomaz-Soccol V., Da Rosa J. A., Luz E., Mascuma S. & Barges M. D., 2014 - Genetic variability and geographical diversity of the main Chagas' disease vector *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Triatominae) in Brazil based on ribosomal DNA intergenic sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 51: 616-628.
- Ceretti Jr. W., Vendrami D. P., Gil J. M., Barata J. M. S. & Marrelli M. T., 2008 - Taxonomic and systematic analysis among triatomine bug species (Hemiptera, Reduviidae) from colonies of the Special Health Service of Araraquara (SESA), inferred from 16S rDNA mitochondrial sequences. *Revista Brasileira de Entomologia*, 52: 455- 462.
- Chagas C., 1909 - Nova Tripanozomíaze humana. Estudos sôbre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1: 159-218.
- Chagas C., 1911 - Nova entidade mórbida do homem. Resumo geral de estudos etiológicos e clínicos. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 3: 219-275.
- Chagas C., 1913 - Revisão do cyclo evolutivo do *Trypanosoma cruzi*. *Brazil Medico*, 27: 255 pp.
- Chagas C., 1924 - Infection naturelle des singes du Pará (*Crysotrix sciureus*) par *Trypanosoma cruzi*. *Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie et des Ses Finales*, 90: 873-876.
- Chagas Filho C., 1968 - Histórico sobre a doença de Chagas. In: Cançado J. R., Ed. *Doença de Chagas*. Editora de Cultura Médica (Rio de Janeiro), pp. 5-21.
- Chappuis F., Mauris A., Holst M., Albajar-Vinas P., Jannin J., Luquetti A. O. & Jackson Y., 2010 - Validation of a rapid immunochromatographic assay for diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection among Latin-American migrants in Geneva, Switzerland. *Journal of Clinical Microbiology*, 48: 2948-2952.
- Ciaravolo R. M., Domingos M. F., Wanderley D. M. V., Gerbi J. L., Chieffi P. P., Peres A. B. & Umezawa E. S., 1997 - Doença de Chagas aguda no Estado de São Paulo: aspectos epidemiológicos. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 39: 171-174.
- Cordovez J. M. & Guhl F., 2015 - The impact of landscape transformation on the reinfestation rates of *Rhodnius prolixus* in the Orinoco Region, Colombia. *Acta Tropica*, 151: 73-79.
- Correia N., Almeida C. E., Lima-Neiva V., Gumiel M., Dornak L. L., Lima M. M., Medeiros L. M., Mendonça V. J., da Rosa J. A. & Costa J., 2013 - Cross-mating experiments detect reproductive compatibility between *Triatoma sherlocki* and other members of the *Triatoma brasiliensis* species complex. *Acta Tropica*, 128: 162-167.
- Costa J., Orthrud M. A., Marchon-Silva V., Almeida C. E., Freitas-Sibajev M. G. & Panzera F., 1997a - Morphological studies on the *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) genital structures and eggs of different chromatic forms. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 493-498.
- Costa J., Freitas-Sibajev M. G., Marchon-Silva V., Pires M. Q. & Pacheco R. S., 1997b - Isoenzymes detect variation in populations of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 459-464.

- Costa J., de Almeida J. R., Britto C., Duarte R., Marchon-Silva V. & Pacheco R. S., 1998 - Ecotopes, natural infection and trophic resources of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93: 7-13.
- Costa J., 1999.- The synanthropic process of Chagas disease vectors in Brazil with special attention to *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera: Reduviidae, Triatominae) population, genetical, ecological, and epidemiological aspects. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94: 239-241.
- Costa J., Peterson A. T. & Beard C. B., 2002 - Ecologic niche modeling and differentiation of populations of *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911, the most important Chagas' disease vector in Northeastern Brazil (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 67: 516-520.
- Costa J., Almeida C. E., Dotson E. M., Lins A., Vinhaes M., Silveira A. C. & Beard C. B., 2003a - The epidemiologic importance of *Triatoma brasiliensis* as a Chagas disease vector in Brazil: a revision of domiciliary captures during 1993-1999. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98: 443-449.
- Costa J., Almeida C.E., Dujardin J.P. & Beard C.B., 2003b - Crossing experiments detect genetic incompatibility among populations of *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98, 637- 639.
- Costa J., Argolo A. M. & Felix M., 2006 - Redescription of *Triatoma melanica* Neiva & Lent, 1941, new status (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Zootaxa*, 1385: 47-52.
- Costa J. & Felix M., 2007 - *Triatoma juazeirensis* sp. nov. from the state of Bahia, Northeastern Brazil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 102: 87-90.
- Costa J. & Lorenzo M., 2009 - Biology, diversity and strategies for the monitoring and control of triatomines-Chagas disease vectors. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104: 46-51.
- Costa J., Correia N. C., Neiva V. L., Gonçalves T. C. & Felix M., 2013 - Revalidation and redescription of *Triatoma brasiliensis macromelasoma* Galvão, 1956 and an identification key for the *Triatoma brasiliensis* complex (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 108: 785-789.
- Costa J., Dornak L. L., Almeida C. E. & Peterson A. T., 2014 - Distributional potential of the *Triatoma brasiliensis* species complex at present and under scenarios of future climate conditions. *Parasites & Vectors*, 7: 238.
- Costa J., Barges M. D., Neiva V. L., Lawrence G. G., Gumiel M., Oliveira G., Cabello P., Lima M. M., Dotson E., Provance D. W., Almeida C. E., Mateo L., Mas-Coma S. & Dujardin J. P., 2016 - Phenotypic variability confirmed by nuclear ribosomal DNA suggests a possible natural hybrid zone of *Triatoma brasiliensis* species complex. *Infection, Genetics and Evolution*, 37: 77-87.
- Coura J. R., Junqueira A. C., Giordano C. M. & Funatsu R. K., 1994 - Chagas' disease in the Brazilian Amazon. I - A short review. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 36: 363-368.
- Coura J. R., Junqueira A. C., Fernandes O., Valente S. A. & Miles M. A., 2002 - Emerging Chagas disease in Amazonian Brazil. *Trends in Parasitology*, 18: 171-176.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Coura J. R., 2007 - Chagas disease: what is known and what is needed-a background article. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 102:113-122.
- Coura J. R. & Dias J. C., 2009 - Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease: 100 years after its discovery. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104: 31- 40.
- Coura J. R. & Viñas P. A., 2010 - Chagas disease: a new worldwide challenge. *Nature*, 465: S6-S7.
- Coura J. R. & Borges-Pereira J., 2011 - Chronic phase of Chagas disease: why should it be treated? A comprehensive review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 106: 641-645.
- Coura J. R. & Junqueira A. C., 2012 - Risks of endemicity, morbidity and control perspectives of Chagas disease in the Amazon Region. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 107: 145-154.
- Coura J. R., 2013 - Chagas disease: control, elimination and eradication. Is it possible? *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 108: 962-967.
- Coura J. R., Viñas P. A., Brum-Soares L. M., Sousa A. S. D. & Xavier S. S., 2013 - Morbidity of Chagas heart disease in the microregion of Rio Negro, Amazonian Brazil: a case-control study. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 108: 1009-1013.
- Coura J. R., Viñas P. A. & Junqueira A. C., 2014 - Ecoepidemiology, short history and control of Chagas disease in the endemic countries and the new challenge for non-endemic countries. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 109: 856-862.
- Coura J. R., 2015 - The main sceneries of Chagas disease transmission. The vectors, blood and oral transmissions - a comprehensive review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110: 277-282.
- Coura J. R. & Junqueira A. C., 2015 - Ecological diversity of *Trypanosoma cruzi* transmission in the Amazon basin. The main sceneries in the Brazilian Amazon. *Acta Tropica*, 151: 51-57.
- Crossa R. P., Hernandez M., Caraccio M. N., Rose V., Valente S. A., Valente V. d. C., Mejia J. M., Angulo V. M., Ramirez C. M., Roldan J., Vargas F., Wolff M. & Panzera F., 2002 - Chromosomal evolution trends of the genus *Panstrongylus* (Hemiptera, Reduviidae), vectors of Chagas disease. *Infection, Genetics and Evolution*, 2: 47-56.
- Curto de Casas S. I., Carcavallo R. U., Galíndez G. I. & Burgos J. J., 1999 - Bioclimatic factors and zones of life. In: Carcavallo R. U., Galíndez G. I., Jurberg J. & Lent H., Eds. *Atlas of Chagas' Disease Vectors in the Americas, vol. III*. Fiocruz (Rio de Janeiro), pp. 793-838.
- Da Silva M., Junqueira A. C., Campaner M., Rodrigues A. C., Crisante G., Ramirez L. E., Cabalero Z. C., Monteiro F. A., Coura J. R., Añez N. & Teixeira M. M., 2007 - Comparative phylogeography of *Trypanosoma rangeli* and *Rhodnius* (Hemiptera: Reduviidae) supports a long coexistence of parasite lineages and their sympatric vectors. *Molecular Ecology*, 16: 3361-3373.
- De Noya B. A., Díaz-Bello Z., Colmenares C., Ruiz-Guevara R., Mauriello L., Muñoz-Calderón A. & Noya O. Update on oral Chagas disease outbreaks in Venezuela: epidemiological, clinical and diagnostic approaches. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110: 377-386.
- De Souza R. C., Diotaiuti L., Lorenzo M. G. & Gorla D. E., 2010 - Analysis of the

- geographical distribution of *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) based on data of species occurrence in Minas Gerais, Brazil. *Infection, Genetics and Evolution*, 10: 720-726.
- De Souza R. C., Campolina-Silva G. H., Bezerra C. M., Diotaiuti L. & Gorla D. E., 2015 - Does *Triatoma brasiliensis* occupy the same environmental niche space as *Triatoma melanica*? *Parasites & Vectors*, 8: 361.
- De Souza W., 2002 - Basic cell biology of *Trypanosoma cruzi*. *Current Pharmaceutical Design*, 8: 269-285.
- Deane L. M., 1964 - Trypanosomidae in Mammals of the Amazon Region. 3. Hematoscopy and Xenodiagnosis of Wild Animals of the Environs of Belém, Pará. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 6: 225-232.
- Dias E. & Pellegrino J., 1948 - Alguns ensaios com o “Gamexanne” no combate aos transmissores da doença de Chagas. *Brazil Medico*, 62: 185-190.
- Dias E. & Dias J. C., 1968 - Monthly variations of the incidence of the evolution forms of *Triatoma infestans* and *Panstrongylus megistus* in the community of Bambui, State of Minas Gerais (II: 1951-1964). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 66: 2089-2226.
- Dias F. B., Quartier M., Diotaiuti L., Mejía G., Harry M., Lima A. C., Davidson R., Mertens F., Lucotte M. & Romaña C. A., 2014 - Ecology of *Rhodnius robustus* Larrousse, 1927 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) in *Attalea* palm trees of the Tapajós River Region (Pará State, Brazilian Amazon). *Parasites & Vectors*, 7: 154.
- Dias J. C. & Schofield C. J., 1999 - The evolution of Chagas disease (American trypanosomiasis) control after 90 years since Carlos Chagas discovery. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94: 103-121.
- Dias J. C., Machado E. M., Fernandes A. L. & Vinhaes M. C., 2000 - General situation and perspectives of Chagas disease in Northeastern Region, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 16: 13-34.
- Dias J. C., Silveira A. C. & Schofield C. J., 2002 - The impact of Chagas disease control in Latin America: a review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97: 603-612.
- Dias J. C., 2006 - The treatment of Chagas disease (South American trypanosomiasis). *Annals of Internal Medicine*, 144: 772-774.
- Dias J. C., 2009 - Elimination of Chagas disease transmission: perspectives. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104: 41-45.
- Dias J. C., 2015 - Evolution of Chagas disease screening programs and control programs: historical perspective. *Global Heart*, 10: 193-202.
- Dias-Lima A. G. & Sherlock I. A., 2000 - Sylvatic vectors invading houses and the risk of emergence of cases of Chagas disease in Salvador, State of Bahia, Northeast Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95: 611-613.
- Dias-Lima A., Menezes D., Sherlock I. & Noireau F., 2003 - Wild habitat and related fauna of *Panstrongylus lutzi* (Reduviidae. Triatominae). *Journal of Medical Entomology*, 40: 989-990.
- Diotaiuti L. & Dias J. C., 1984 - Occurrence and biology of *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 in palm trees of suburban areas of Belo Horizonte, Minas Gerais. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 79: 293-301.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Diotaiuti L., Azeredo B. V., Busek S. C. & Fernandes A. J., 1998 - Control of *Triatoma sordida* in rural peri-domestic environment of the Porteirinha municipality, Minas Gerais, Brazil. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 3: 21-25.
- Diotaiuti L., 2009 - Triatomines vectors of *Trypanosoma cruzi* infections. In: Teixeira A., Vinaud M. & Castro A. M., Eds. *Emerging Chagas Disease*. Science Publishers (Bentham), pp. 24-39.
- Dorn P. L., Nicholas M., Axen H., Smith N., Richards B. R., Charabati J., Suarez J., Woods A., Pessoa R., Monroy C., Kilpatrick C. W. & 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.
- Dos Santos S. M., Lopes C. M., Dujardin J. P., Panzera F., Pérez R., de la Fuente A. C., Pacheco R. S. & Noireau F., 2007 - Evolutionary relationships based on genetic and phenetic characters between *Triatoma maculata*, *Triatoma pseudomaculata* and morphologically related species (Reduviidae: Triatominae). *Infection, Genetics and Evolution*, 7: 469-475.
- Dos Santos S. M., Pompolo Sd., Gonçalves T. C., de Freitas S. P., Rangel E. F. & Dos Santos-Mallet J. R., 2016 - New sex-determination system in the genus *Panstrongylus* (Hemiptera: Reduviidae) revealed by chromosomal analysis of *Panstrongylus lutzi*. *Parasites & Vectors*, 9: 295.
- Dotson E. M. & Beard C. B., 2001 - Sequence and organization of the mitochondrial genome of the Chagas disease vector, *Triatoma dimidiata*. *Insect Molecular Biology*, 10: 205-215.
- Dujardin J. P., Bermudez H., Casini C., Schofield C. J. & Tibayrenc M., 1997a - Metric differences between silvatic and domestic *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae) in Bolivia. *Journal of Medical Entomology*, 34: 544-551.
- Dujardin J. P., Bermudez H. & Schofield C. J., 1997b - The use of morphometrics in entomological surveillance of sylvatic foci of *Triatoma infestans* in Bolivia. *Acta Tropica*, 66: 145-153.
- Dujardin J. P., 1998 - Population genetics and the natural history of domestication in Triatominae. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93: 34-36.
- Dujardin J. P., Steindel M., Chavez T., Machane M. & Schofield C. J., 1999 - Changes in the sexual dimorphism of Triatominae in the transition from natural to artificial habitats. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94: 565-569.
- Dujardin J. P., Schofield C. J. & Panzera F., 2002 - *Los vectores de la enfermedad de Chagas*. Académie Royale des Sciences d'Outre-Mer (Bruxelles).
- Espínola H. N., 1971 - Reproductive isolation between *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 and *Triatoma petrocchia* Pinto & Barreto, 1925 (Hemiptera Reduviidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 31: 277-281.
- Fé N. F., Magalhães L. K., Fé F. A., Arakian S. K., Monteiro W. M. & Barbosa M. G., 2009a - Occurrences of triatomines in wild and domestic environments in the municipality of Manaus, State of Amazonas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42: 642-646.
- Fé N. F., França M. S. & Carvalho-Costa F. A., 2009b - Reassessing the entomological

- investigation around the first autochthonous case of Chagas disease in Western Brazilian Amazon. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104: 121-123.
- Feliciangeli M. D., Dujardin J. P., Bastrenta B., Mazzarri M., Villegas J., Flores M. & Muñoz M., 2002 - Is *Rhodnius robustus* (Hemiptera: Reduviidae) responsible for Chagas disease transmission in Western Venezuela? *Tropical Medicine and International Health*, 7: 280-287.
- Felsenstein J., 1985 - Confidence limits on phylogenies: an approach using bootstrap. *Evolution*, 39: 783-791.
- Fernández C. J., de Rosas A. R. P. & García B. A., 2013 - Variation in mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 5 and NADH dehydrogenase subunit 4 genes in the Chagas disease vector *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 88: 893-896.
- Folly-Ramos E., Dornak L. L., Orsolon G., Goncalves T. C., Lilio M., Costa J., & Almeida C. E., 2016 - Vector capacity of members of *Triatoma brasiliensis* species complex: The need to extend Chagas disease surveillance to *Triatoma melanica*. *Journal of Vector Ecology*, 41: 48-54.
- Forattini O. P., Ferreira O. A., da Rocha e Silva E. O. & Rabello E. X., 1974 - Ecological aspects of South American trypanosomiasis. VI. Persistence *Triatoma sordida* after environmental alterations and its possible relation to the dispersion of the species. *Revista de Saúde Pública*, 8: 265-282.
- Forattini O. P., Ferreira O. A., Rocha e Silva E. O. & Rabello E. X., 1977 - Aspectos ecológicos da Tripanossomíase Americana. VIII - Domiciliação de *Panstrongylus megistus* e sua presença extradomiciliar. *Revista de Saúde Pública*, 11: 73-86.
- Forattini O. P., 1980 - Biogeografia, origem e distribuição da domiciliação de triatomíneos no Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 14: 265-299.
- Francisco A. F., Lewis M. D., Jayawardhana S., Taylor M. C., Chatelain E. & Kelly J. M., 2015 - Limited ability of posaconazole to cure both acute and chronic *Trypanosoma cruzi* infections revealed by highly sensitive in vivo imaging. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59: 4653-4661.
- Frati F., Simon C., Sullivan J. & Swofford D. L., 1997 - Evolution of the mitochondrial cytochrome oxidase II gene in *Collembola*. *Journal of Molecular Evolution*, 44: 145-158.
- Freitas S. P., Freitas A. L. & Gonçalves T. C., 2004 - Ocorrência de *Panstrongylus lutzi* no peridomicílio, Estado do Ceará, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 38: 578-580.
- Freitas S. P., Lorosa E. S., Rodrigues D. C., Freitas A. L. & Gonçalves T. C., 2005 - Feeding patterns of *Triatoma pseudomaculata* in the state of Ceará, Brazil. *Revista de Saúde Pública*, 39: 27-32.
- Galvão C., Carcavallo R. U., Rocha D. S. & Jurberg 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. & Gurgel-Gonçalves R., 2014 - Vetores conhecidos no Brasil. In: Galvão C., org. *Vetores da doença de Chagas no Brasil*. Sociedade Brasileira de Zoologia (Curitiba), pp. 88-170.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Galvão C. & Paula A. S., 2014 - Sistemática e evolução dos vetores. In: Galvão C., org. *Vetores da doença de Chagas no Brasil*. Sociedade Brasileira de Zoologia (Curitiba), pp. 26-32.
- García A. L., Carrasco H. J., Schofield C. J., Stothard J. R., Frame I. A., Valente S. A. & Miles M. A., 1998 - Random amplification of polymorphic DNA as a tool for taxonomic studies of triatomine bugs (Hemiptera: Reduviidae). *Journal of Medical Entomology*, 35: 38-45.
- García B. A. & Powell J. R., 1998 - Phylogeny of species of *Triatoma* (Hemiptera: Reduviidae) based on mitochondrial DNA sequences. *Journal of Medical Entomology*, 35: 232-238.
- García B. A., Morayma E. N. & Powell J. R., 2001 - Mitochondrial DNA sequences of triatomines (Hemiptera: Reduviidae): phylogenetic relationships. *Journal of Medical Entomology*, 38: 675-683.
- García B. A., Manfredi C., Fichera L. & Segura E. L., 2003 - Variation in mitochondrial 12S and 16S ribosomal DNA sequences in natural populations of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *The American Journal of Human Genetics*, 68: 692-694.
- García M. H., Souza L., Souza R. C., Paula A. S., Borges E. C., Barbosa S. E., Schofield C. J. & Diotaiuti L., 2005 - Occurrence and variability of *Panstrongylus lutzi* in the State of Ceará, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 38: 410-415.
- Gardim S., Almeida C. E., Takiya D. M., Oliveira J., Araújo R. F., Cicarelli R. M. & da Rosa J. A., 2014 - Multiple mitochondrial genes of some sylvatic Brazilian *Triatoma*: non-monophyly of the *T. brasiliensis* subcomplex and the need for a generic revision in the Triatomini. *Infection, Genetics and Evolution*, 23: 74-79.
- Gaunt M. W. & Miles M. A., 2000 - The ecotopes and evolution of triatomine bugs (Triatominae) and their associated trypanosomes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95: 557-565.
- Gaunt M. W. & Miles M. A., 2002 - An insect molecular clock dates the origin of the insects and accords with palaeontological and biogeographic landmarks. *Molecular Biology and Evolution*, 19: 748-761.
- Gerbi S. A., 1985 - Evolution of ribosomal DNA. *Molecular Evolutionary Genetics*. MacIntyre R. J., Ed. Plenum Publishing (New York), pp. 419-517.
- Glez-Peña D., Gómez-Blanco D., Reboiro-Jato M., Fdez-Riverola F. & Posada D., 2010 - ALTER: program-oriented conversion of DNA and protein alignments. *Nucleic Acids Research*, 38: W14-W18.
- Gomes Y. M., Lorena V. M. & Luquetti A. O., 2009 - Diagnosis of Chagas disease: what has been achieved? What remains to be done with regard to diagnosis and follow up studies? *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104: 115-121.
- Gómez-Palacio A., Arboleda S., Dumonteil E. & Peterson A. T., 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. & Noireau F., 2010 - Geographic Distribution of Triatominae Vectors in America.

- In: Telleria J. & Tibayrenc M., Eds. *American trypanosomiasis: Chagas disease one hundred years of research*. Elsevier (Burlington), pp. 209-231.
- Gottdenker N. L., Chaves L. F., Calzada J. E., Saldaña A. & Carroll C. R., 2012 - Host life history strategy, species diversity and habitat influence *Trypanosoma cruzi* vector infection in changing landscapes. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6: e1884.
- Guerra A. L., Alevi K. C., Banho C. A., Oliveira J., Rosa J. A. & Azeredo-Oliveira M. T., 2016 - Insights into a hotspot in the Brasiliensis subcomplex (Hemiptera, Triatominae) by analysis of D2 domain of the nuclear gene 28S. *Genetics and Molecular Research*, 15: 7449.
- Guhl F. & Vallejo G. A., 1999 - Interruption of Chagas disease transmission in the Andean countries: Colombia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94: 413-415.
- Guhl F., 2007 - Chagas disease in Andean countries. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 102: 29-38.
- Gumiel M., da Mota F. F., Rizzo V. de S., Sarquis O., de Castro D. P., Lima M. M., Garcia E. de S, Carels N. & Azambuja P., 2015 - Characterization of the microbiota in the guts of *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma pseudomaculata* infected by *Trypanosoma cruzi* in natural conditions using culture independent methods. *Parasites & Vectors*, 8: 245.
- Gurgel-Gonçalves R., Ramalho E. D., Duarte M. A., Palma A. R., Abad-Franch F., Carranza J. C. & Cuba C. A. C., 2004 - Enzootic transmission of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Federal District of Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 46: 323-330.
- Gurgel-Gonçalves R. & Cuba C. A. C., 2007 - Population structure of *Rhodnius neglectus* Lent and *Psammolestes tertius* Lent & Jurberg (Hemiptera, Reduviidae) in bird nests (Furnariidae) on *Mauritia flexuosa* palm trees in Federal District of Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 24: 157-163.
- Gurgel-Gonçalves R., Abad-Franch F., Ferreira J. B. C., Santana D. B. & Cuba C. A. C., 2008a - Is *Rhodnius prolixus* (Triatominae) invading houses in central Brazil? *Acta Tropica*, 107: 90-98.
- Gurgel-Gonçalves R., Pereira F. C. A., Lima I. P. & Cavalcante R. R., 2008b - Distribuição geográfica, infestação domiciliar e infecção natural de triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae) no Estado do Piauí, Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 1: 57-64.
- Gurgel-Gonçalves R. & Cuba C. A. C., 2009 - Predicting the potential geographical distribution of *Rhodnius neglectus* (Hemiptera, Reduviidae) based on ecological niche modeling. *Journal of Medical Entomology*, 46: 952-960.
- Gurgel-Gonçalves R., Galvão C., Costa J. & Peterson A. T., 2012 - Geographic distribution of chagas disease vectors in Brazil based on ecological niche modeling. *Journal of Tropical Medicine*, 2012: 705326.
- Hamilton P. B., Teixeira M. M. G. & Stevens J. R., 2012 - The evolution of *Trypanosoma cruzi*: the 'bat seeding' hypothesis. *Trends Parasitology*, 28: 136-141.
- Harpke D. & Peterson A., 2006 - Non-concerted ITS evolution in *Mammillaria* (Cactaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 41: 579-593.
- Harry M., Dupont L., Quartier M., Diotaiuti L., Walter A. & Roaman C., 2009 - New perspectives for population genetics of Chagas disease vectors in the Northeastern

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Brazil: Isolation of polymorphic microsatellite markers in *Triatoma brasiliensis*. *Infection, Genetics and Evolution*, 9: 633-637.
- Hasslocher-Moreno A. M., do Brasil P. E., de Sousa A. S., Xavier S. S., Chambela M.C. & Sperandio da Silva G. M., 2012 - Safety of benznidazole use in the treatment of chronic Chagas' disease. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67: 1261-1266.
- Hillis D. M. & Dixon M. T., 1991 - Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *The Quarterly Review of Biology*, 66: 411-453.
- Hotez P. J., Bottazzi M. E., Franco-Paredes C., Ault S. K. & Periago M. R., 2008 - The neglected tropical diseases of Latin America and the Caribbean: a review of disease burden and distribution and a roadmap for control and elimination. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2: e300.
- Hwang U. W. & Kim W., 1999 - General properties and phylogenetic utilities of nuclear ribosomal DNA and mitochondrial DNA commonly used in molecular systematics. *The Korean Journal of Parasitology*, 37: 215-228.
- Hwang W. S. & Weirauch C., 2012 - Evolutionary history of assassin bugs (Insecta: Hemiptera: Reduviidae): insights from divergence dating and ancestral state reconstruction. *PLoS One*, 7: e45523.
- Hypsa V., Tietz D. F., Zrzavý J., Rego R. O., Galvão C. & 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.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2016. Available from: <http://www.ibge.gov.br/>.
- Jackson Y., Alirol E., Getaz L., Wolff H., Combescure C. & Chappuis F., 2010 Tolerance and safety of nifurtimox in patients with chronic chagas disease. *Clinical Infectious Disease*, 51: e69-75.
- Jorgensen R. A. & Cluster P. D., 1988 - Modes and tempos in the evolution of nuclear ribosomal DNA: new characters for evolutionary studies and new markers for genetic and population studies. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 75: 1238-1247.
- Jurberg J., Rocha D. S. & Galvão C., 2009 - *Rhodnius zeledoni* sp. nov. afim de *Rhodnius paraensis* Sherlock, Guitton & Miles, 1977 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Biota Neotropica*, 9: 123-128.
- Justi S. A., Noireau F., Cortez M. R. & Monteiro F. A., 2010 - Infestation of peridomestic *Attalea phalerata* palms by *Rhodnius stali*, a vector of *Trypanosoma cruzi* in the Alto Beni, Bolivia. *European Journal of Tropical Medicine and International Health*, 15: 727-732.
- Justi S. A., Russo C. A., Mallet J. R., Obara M. T. & Galvão C., 2014 - Molecular phylogeny of Triatomini (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Parasites & Vectors*, 7: 149.
- Katoh K., Misawa K., Kuma K. I. & Miyata T., 2002 - MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*, 30: 3059-3066.
- Kimura M., 1980 - A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular*

Evolution, 16: 111-120.

- Kolokotronis S. O., Foxx J., Rosenfeld J. A., Brugler M. R., Reeves D., Benoit J. B., Booth W., Robinson G., Steffen M., Palli S. R., Schal C., Richards S., Sorkin L. N., Amato G., Mason C. E., Siddall M. E. & De Salle R., 2016 - The mitogenome of the bed bug *Cimex lectularius* (Hemiptera: Cimicidae). *Mitochondrial DNA Part B*, 1: 425-427.
- Lanfear R., Calcott B., Ho S. Y. & Guindon S., 2012 - Partition Finder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution*, 29: 1695-1701.
- Larkin M., Blackshields G., Brown N., Chenna R., McGettigan P., McWilliam H., Valentin F., Wallace I. M., Wilm A., Lopez R., Thompson J. D., Gibson T. J. & Higgins D. G., 2007 - Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23: 2947-2948.
- Leite G. R., Santos C. B. & Falqueto A., 2011 - Influence of the landscape on dispersal of sylvatic triatomines to anthropic habitats in the Atlantic Forest. *Journal of Biogeography*, 38: 651-663.
- Lent H. & Wygodzinsky P., 1979 - Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 163: 123-520.
- Levine N. D., Corliss J. O., Cox F. E., Deroux G., Grain J., Honigberg B. M., Leedale G. F., Loeblich 3rd A. R., Lom J., Lynn D., Merinfeld E. G., Page F. C., Poljansky G., Sprague V., Vavra J. & Wallace F. G., 1980 - A newly revised classification of the protozoa. *Journal of Protozoology*, 27: 37-58.
- Liao D., 1999 - Concerted evolution: molecular mechanism and biological implications. *The American Journal of Human Genetics*, 64: 24-30.
- Lilioso M., 2015 - Ecoepidemiologia de *Triatoma brasiliensis* nos estados da Paraíba e Rio Grande do Norte: indicadores entomológicos e estruturas ecotípica e composicional etária. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Monitoramento Ambiental) - Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, Brasil.
- Lima M. M., Carvalho-Costa F. A., Toma H. K., Borges-Pereira J., de Oliveira T. G. & Sarquis O., 2015 - Chagas disease and housing improvement in northeastern Brazil: a cross-sectional survey. *Parasitology Research*, 114: 1687-1692.
- Litvoc J., Goldbaum M. & da Silva G. R., 1990 - Determinantes do processo de infestação domiciliar por *Panstrongylus megistus*: o papel da habitação e do desmatamento. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 32: 443-449.
- Lutgards-Moura J. F., Vargas A. B., Almeida C. E., Magno-Esperança G., Agapito-Souza R., Folly-Ramos E., Costa J., Tsouris P. & Rosa-Freitas M. G., 2005 - A *Triatoma maculata* (Hemiptera Reduviidae) population from Roraima, Amazon Region, Brazil, has some bionomic characteristics of potential Chagas disease vector. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 47: 131-137.
- Lyman D. F., Monteiro F. A., Escalante A. A., Cordon-Rosales C., Wesson D. M., Dujardin J. P. & Beard C. B., 1999 - Mitochondrial DNA sequence variation among triatomine vectors of Chagas' disease. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 60: 377-386.
- Maeda M. H., Knox M. B. & Gurgel-Gonçalves R., 2012 - Occurrence of synanthropic

VII. BIBLIOGRAFÍA

- triatomines (Hemiptera: Reduviidae) in the Federal District of Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 45: 71-76.
- Marcilla A., Bargues M. D., Ramsey J. M., Magallon-Gastelum E., Salazar-Schettino P. M., Abad-Franch F., Dujardin J. P., Schofield C. J. & Mas-Coma S., 2001 - The ITS-2 of the nuclear rDNA as a molecular marker for populations, species, and phylogenetic relationships in Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), vectors of Chagas disease. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 18: 136-142.
- Marcilla A., Bargues M. D., Abad-Franch F., Panzera F., Carcavallo R. U., Noireau F., Galvão C., Jurberg J., Miles M. A., Dujardin J. P. & Mas-Coma S., 2002 - Nuclear rDNA ITS-2 sequences reveal polyphyly of *Panstrongylus* species (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), vectors of *Trypanosoma cruzi*. *Infection, Genetics and Evolution*, 1: 225-235.
- Marsden P. D., 1983 - The transmission of *Trypanosoma cruzi* to man and its control. In: Croll N. A. & Cross J. H., Eds. *Human Ecology and Infectious Diseases*. Academic Press (London).
- Martinez F. H., Villalobos G. C., Cevallos A. M., de la Torre P. D., Laclette J. P., Alexandre-Aguilar R. & 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: 279-287.
- Martínez-Hernández F., Martínez-Ibarra J. A., Catalá S., Villalobos G., De La Torre P., Laclette J. P., Alexandre-Aguilar R. & 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: 74-82.
- Mas-Coma S. & 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: 112-36.
- Medone P., Ceccarelli S., Parham P. E., Figuera A. & Rabinovich J. E., 2015 - The impact of climate change on the geographical distribution of two vectors of Chagas disease: implications for the force of infection. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 370: 20130560.
- Mendonça V. J., da Silva M. T., De Araújo R. F., Júnior J. M., Júnior M. B., Almeida C. E., Costa J., Graminha M. A., Cicarelli R. M. & da Rosa J. A., 2009 - Phylogeny of *Triatoma sherlocki* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) inferred from two mitochondrial genes suggest its location within the *Triatoma brasiliensis* complex. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 81: 858-864.
- Mendonça V. J., Alevi K. C., Medeiros L. M., Nascimento J. D., de Azeredo-Oliveira M. T. & da Rosa J. A., 2014 - Cytogenetic and morphologic approaches of hybrids from experimental crosses between *Triatoma lenti* Sherlock & Serafim, 1967 and *T. sherlocki* Papa *et al.*, 2002 (Hemiptera: Reduviidae). *Infection, Genetics and Evolution* 26: 123-131.
- Mendonça V. J., Alevi K. C., Pinotti H., Gurgel-Goncalves R., Pita S., Guerra A. L., Panzera F., De Araújo R. F., Azeredo-Oliveira M. T. & da 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.

- Mesquita R. D., Vionette-Amaral R. J., Lowenberger C., Rivera-Pomar R., Monteiro F. A., Minx P., ... & Torres A. Q., 2015 - Genome of *Rhodnius prolixus*, an insect vector of Chagas disease, reveals unique adaptations to hematophagy and parasite infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112: 14936-14941.
- Miles M. A., Arias J. R. & Souza A. A., 1983 - Chagas' disease in the Amazon Basin. Periurban palms as habitats of *Rhodnius robustus* and *Rhodnius pictipes* - Triatomine vectors of Chagas' disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 78: 391-398.
- Miles M. A., Feliciangeli M. D. & de Arias A. R., 2003 - American trypanosomiasis (Chagas' disease) and the role of molecular epidemiology in guiding control strategies. *British Medical Journal*, 326: 1444-1448.
- Molina I., Salvador F. & Sánchez-Montalvá A., 2015 - The use of posaconazole against Chagas disease. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 28: 397-407.
- Monsalve Y., Panzera F., Herrera L., Triana-Chávez O. & Gómez-Palacio A., 2016 - Population differentiation of the Chagas disease vector *Triatoma maculata* (Erichson, 1848) from Colombia and Venezuela. *Journal of Vector Ecology*, 41: 72-79.
- Monteiro F. A., Wesson D. M., Dotson E. M., Schofield C. J. & Beard C. B., 2000 - Phylogeny and molecular taxonomy of the Rhodniini derived from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 62: 460-465.
- Monteiro F. A., Escalante A. A & Beard C. B., 2001 - Molecular tools and triatomine systematics: a public health perspective. *Trends in Parasitology*, 17: 344-347.
- Monteiro F. A., Barrett T. V., Fitzpatrick S., Cordon-Rosales C., Feliciangeli D. & Beard C. B., 2003 - Molecular phylogeography of the Amazonian Chagas disease vectors *Rhodnius prolixus* and *R. robustus*. *Molecular Ecology Resources*, 12: 997-1006.
- Monteiro F. A., Donnelly M. J., Beard C. B. & Costa J., 2004 - Nested clade and phylogeographic analyses of the Chagas disease vector *Triatoma brasiliensis* in Northeast Brazil. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32: 46-56.
- Monteiro F. A., Jurberg J. & Lazoski C., 2009 - Very low levels of genetic variation in natural peridomestic populations of the Chagas disease vector *Triatoma sordida* (Hemiptera: Reduviidae) in Southeastern Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 81: 223-227.
- Monteiro W. M., Magalhães L. K., de Sá A. R., Gomes M. L., Toledo M. J., Borges L., Pires I., Guerra J. A., Silveira H. & Barbosa M., 2012 - *Trypanosoma cruzi* IV causing outbreaks of acute Chagas disease and infections by different haplotypes in the Western Brazilian Amazonia. *PLoS One*, 7: e41284.
- Morgan J. A. T. & Blair D., 1998 - Relative merits of nuclear ribosomal internal transcribed spacers and mitochondrial CO1 and ND1 genes for distinguishing among *Echinostoma* species. *Parasitology*, 116: 289-297.
- Morrone J., 2006. Biogeographic areas and transition zones of Latin America and the Caribbean islands based on panbiogeographic and cladistic analyses of the entomofauna. *Annual Review of Entomology*, 51: 467-494.
- Mougabure-Cueto G. & Picollo M. I., 2015 - Insecticide resistance in vector Chagas

VII. BIBLIOGRAFÍA

- disease: evolution, mechanisms and management. *Acta Tropica*, 149: 70-85.
- Murcia L., Carrilero B., Muñoz M. J., Iborra M. A. & Segovia M., 2010 - Usefulness of PCR for monitoring benzimidazole response in patients with chronic Chagas' disease: a prospective study in a non-disease-endemic country. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65: 1759-1764.
- Navajas M., Gutierrez J. & Lagnel J., 1996 - Mitochondrial cytochrome oxidase I in tetranychid mites: a comparison between molecular phylogeny and changes of morphological and life history traits. *Bulletin of Entomological Research*, 86: 407-417.
- Nei M. & Kumar S., 2000 - *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press (New York), 333 pp.
- Noireau F., Brenière F., Cardozo L., Bosseno M. F., Vargas F., Peredo C. & Medinacelli M., 1996 - Current spread of *Triatoma infestans* at the expense of *Triatoma sordida* in Bolivia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 91: 271-272.
- Noireau F., Gutierrez T., Zegarra M., Flores R., Brenière F., Cardozo L. & Dujardin J. P., 1998 - Cryptic speciation in *Triatoma sordida* (Hemiptera: Reduviidae) from the Bolivian Chaco. *Tropical Medicine & International Health*, 3: 364-372.
- Noireau F., Gutierrez T., Flores R., Breniere F., Bosseno M. F. & Wisnivesky-Colli C., 1999 - Ecogenetics of *Triatoma sordida* and *Triatoma guasayana* (Hemiptera: Reduviidae) in the Bolivian Chaco. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94: 451-457.
- Noireau F., Diosque P. & Jansen A. M., 2009 - *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. *Veterinary Research*, 40: 26.
- Noireau F. & Dujardin J. P., 2010 - Biology of Triatominae. In: Telleria J. & Tibayrenc M., Eds. *American trypanosomiasis: Chagas disease one hundred years of research*. Elsevier (Burlington), pp. 149-168.
- Oliveira A. W. & Silva I. G., 2007 - Distribuição geográfica e indicadores entomológicos de triatomíneos sinantrópicos capturados no Estado de Goiás. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 40: 204-208.
- Oliveira J., Marcet P., Takiya D. M., Mendonça V., Belintan T., Bargues M. D., Mateo L., Chagas V., Folly-Ramos E., Cordeiro-Estrela P., Gurgel-Gonçalves R., Costa J., da Rosa J. A. & Almeida C. E., 2016 - Combined phylogenetic and morphometric information to delimit and unify the *Triatoma brasiliensis* species complex and the Brasiliensis subcomplex. Submitted to *Acta Tropica*.
- Oliveira J., Mendonça V. J., De Araújo R. F., Nascimento E. G. & da Rosa J. A., 2015 - Biological, morphological and morphometric studies of *Triatoma melanocephala* Neiva & Pinto, 1923 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Zootaxa*, 4012: 514-524.
- Oscherov E. B., Damborsky M. P., Bar M. E. & Gorla D. E., 2004 - Competition between vectors of Chagas disease, *Triatoma infestans* and *T. sordida*: effects on fecundity and mortality. *Medical and Veterinary Entomology*, 18: 323-328.
- Osimani J., Verissimo S. & Bayce Carbonell P., 1950 - La profilaxis de la enfermedad de Chagas en el Uruguay por medio del gamexano. Experiencias realizadas y plan de lucha contra el *T. infestans*. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 29: 1125-1134.
- Pacheco R. S., Almeida C. E., Klisiowicz D. R., Costa J., Pires M. Q., Panzera F., Bar M. E.,

- Mas-Coma S. & Bargues M. D., 2007 - Genetic variability of *Triatoma rubrovaria* (Reduviidae: Triatominae) from Brazil, Argentina and Uruguay as revealed by two different molecular markers. *Parasite*, 14: 231-237.
- Pacheco-Tucuch F. S., Ramirez-Sierra M. J., Gourbière S. & Dumonteil E., 2012 - Public street lights increase house infestation by the Chagas disease vector *Triatoma dimidiata*. *PLoS One*, 7: e36207.
- Panzer F., Dujardin J. P., Nicolini P., Caraccio M. N., Rose V., Tellez T., Bermúdez H., Bargues M. D., Mas-Coma S., O'Connor J. E. & Pérez R., 2004 - Genomic changes of Chagas disease vector, South America. *Emerging Infectious Diseases*, 10: 438-446.
- Panzer F., Pita S., Nattero J., Panzer Y., Galvão C., Chavez T., Rojas De Arias A., Cardozo Téllez L. & Noireau F., 2015 - Cryptic speciation in the *Triatoma sordida* subcomplex (Hemiptera: Reduviidae) revealed by chromosomal markers. *Parasites & Vectors*, 8: 495.
- Papa A. R., Jurberg J., Carcavallo R. U., Cerqueira R. L. & Barata J. M. S., 2002 - *Triatoma sherlocki* sp. n. coletada na Bahia, Brasil (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Entomología y Vectores*, 9: 133-146.
- Patterson J. S., Barbosa S. E. & Feliciangeli M. D., 2009 - On the genus *Panstrongylus* Berg 1879: evolution, ecology and epidemiological significance. *Acta Tropica*, 110: 187-199.
- Paula A. S., Diotaiuti L. & Galvão C., 2007 - Systematics and biogeography of *Rhodniini* (Heteroptera: Reduviidae: Triatominae) based on 16S mitochondrial rDNA sequences. *Journal of Biogeography*, 34: 699-712.
- Pavan M. G. & Monteiro F. A., 2007 - A multiplex PCR assay that separates *Rhodnius prolixus* from members of the *Rhodnius robustus* cryptic species complex (Hemiptera: Reduviidae). *Tropical Medicine and International Health*, 12: 751-758.
- Pavan M. G., 2009 - Filogeografia de *Rhodnius pictipes* (Hemiptera: Reduviidae) na região amazônica. Dissertação de Mestrado. Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Brasil.
- Pavan M. G., Mesquita R. D., Lawrence G. G., Lazoski C., Dotson E. M., Abubucker S., Mitreva M., Randall-Maher J. & Monteiro F. A., 2013 - A nuclear single-nucleotide polymorphism (SNP) potentially useful for the separation of *Rhodnius prolixus* from members of the *Rhodnius robustus* cryptic species complex (Hemiptera: Reduviidae). *Infection, Genetics and Evolution*, 14: 426-433.
- Péneau J., Nguyen A., Flores-Ferrer A., Blanchet D. & Gourbière S., 2016 - Amazonian Triatomine biodiversity and the transmission of Chagas disease in French Guiana: In medio stat sanitas. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10: e0004427.
- Pérez-Molina J. A., Perez A. M., Norman F. F., Monge-Maillo B. & López-Vélez R., 2015 - Old and new challenges in Chagas disease. *The Lancet Infectious Diseases*, 15: 1347-1356.
- Pessoa G. C., Obara M. T., Rezende J. C., de Mello B. V., Ferraz M. L. & Diotaiuti L., 2015 - Deltamethrin toxicological profile of peridomestic *Triatoma sordida* in the North of Minas Gerais, Brazil. *Parasites & Vectors*, 8: 263-269.
- Pessoa G. C., Sousa T. N., Sonoda I. V. & Diotaiuti L., 2016 - Assessing the mitochondrial DNA diversity of the Chagas disease vector *Triatoma sordida* (Hemiptera: Reduviidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 111: 322-329.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Picollo M. I., Vassena C., Santo Orihuela P., Barrios S., Zaidemberg M. & Zerba E., 2005 - High resistance to pyrethroid insecticides associated with ineffective field treatments in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Northern Argentina. *Journal of Medical Entomology*, 42: 637-642.
- Pinazo M. J., Muñoz J., Posada E., López-Chejade P., Gállego M., Ayala E., del Cacho E., Soy D. & Gascon J., 2010 - Tolerance of benznidazole in treatment of Chagas' disease in adults. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54: 4896-4899.
- Pinazo M. J. & Gascon J., 2015 - The importance of the multidisciplinary approach to deal with the new epidemiological scenario of Chagas disease (global health). *Acta Tropica*, 151: 16-20.
- Poinar G. Jr., 2005 - *Triatoma dominicana* sp. n. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), and *Trypanosoma antiquus* sp. n. (Stercoraria: Trypanosomatidae), the first fossil evidence of a triatomine-trypanosomatid vector association. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 5: 72-81.
- Poinar G. Jr., 2013 - *Panstrongylus hispaniolae* sp. n. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), a new fossil triatomine in Dominican amber, with evidence of gut flagellates. *Palaeodiversity*, 6: 1-8.
- Ponce C., 2007 - Current situation of Chagas disease in Central America. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 102: 41-44.
- Rabinovich J. E. & Feliciangeli M. D., 2015 - Vital statistics of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions: IV. *Panstrongylus geniculatus*. *Journal of Medical Entomology*, 52: 797-805.
- Ramirez-Sierra M. J. & Dumonteil E., 2016 - Infection rate by *Trypanosoma cruzi* and biased vertebrate host selection in the *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) species complex. *Journal of Medical Entomology*, 53: 20-25.
- Rand D. M., Haney R. A. & Fry A. J., 2004 - Cytonuclear coevolution: the genomics of cooperation. *Trends in Ecology & Evolution*, 19: 645-653.
- Rassi A. Jr., Rassi A. & Marin-Neto J. A., 2010 - Chagas disease. *Lancet*, 375: 1388-1402.
- Ravazi A., Oliveira J., Rosa J. A., Azeredo-Oliveira M. T. & Alevi K. C., 2016 - Spermotaxonomy of the tribe Rhodniini (Hemiptera, Triatominae). *Genetics and Molecular Research*, 15: 7366.
- Reithinger R., Tarleton R. L., Urbina J. A., Kitron U. & Gürtler R. E., 2009 - Eliminating Chagas disease: challenges and a roadmap. *British Medical Journal*, 338: b1283.
- Ribeiro G. Jr., Gurgel-Gonçalves R., Reis R. B., Santos C. G., Amorim A., Andrade S. G. & Reis M. G., 2015 - Frequent house invasion of *Trypanosoma cruzi*-infected triatomines in a suburban area of Brazil. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9: e0003678.
- Riera C., Verges M., Iniesta L., Fisa R., Gállego M., Tebar S. & Portús M., 2012 - Identification of a western blot pattern for the specific diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection in human sera. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 86: 412-426.
- Rodrigues V. L., Condino M. L. F., Santos F. C., Silva R. A. & Baitelo D., 2003 - Fauna triatomínica dos municípios do litoral norte do Estado de São Paulo, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36: 60.

- Rodrigues V. L., Ferraz Filho A. N. & Silva E. O. R., 2007 - *Triatoma tibiamaculata* (Pinto, 1926): life table for nymphs, duration of adult forms and oviposition of females. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 40: 443-446.
- Rodrigues V. L., Pauliquevis Jr. C., da Silva R. A., Wanderley D. M., Guirardo M. M., Rodas L. A., Casanova C., Pachioni M. L., Souza W. A., Costa A. J., Baitelo D. & Tonietti V. L., 2014 - Colonization of palm trees by *Rhodnius neglectus* and household and invasion in an urban area, Araçatuba, São Paulo State, Brazil. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 56: 213-218.
- Rojas de Arias A., Abad-Franch F., Acosta N., López E., González N., Zerba E., Tarelli G. & Masuh H., 2012 - Post-control surveillance of *Triatoma infestans* and *Triatoma sordida* with chemically-baited sticky traps. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6: e1822.
- Rojas-Cortez M., Pinazo M. J., Garcia L., Arteaga M., Uriona L., Gamboa S., Mejía C., Lozano D., Gascon J., Torrico F. & Monteiro F. A., 2016 - *Trypanosoma cruzi*-infected *Panstrongylus geniculatus* and *Rhodnius robustus* adults invade households in the Tropics of Cochabamba region of Bolivia. *Parasites & Vectors*, 9: 1.
- Romaña C., 1935 - Dos casos agudos más de enfermedad de Chagas en el Norte Santafesino. *MEPRA*, 21: 14-18.
- Romaña C. & Aballos J. W., 1948 - Acción del "Gamexanne" sobre los triatomídeos. Control domiciliario. *Anales del Instituto de Medicina Regional de Tucumán*, 2: 95-106.
- Rothhammer F., Allison M. J., Núñez L., Standen V. & Arriaza B., 1985 - Chagas' disease in pre-Columbian South America. *American Journal of Physical Anthropology*, 68: 495-498.
- Saccone C., Gissi C., Lanave C., Larizza A., Pesole G. & Reyes A., 2000 - Evolution of the mitochondrial genetic system: an overview. *Gene*, 261: 153-159.
- Sainz A. C., Mauro L. V., Morayma A. C. & Garcia B. A., 2004 - Phylogeny of triatomine vectors of *Trypanosoma cruzi* suggested by mitochondrial DNA sequence. *Genetica*, 121: 229-240.
- Saitou N. & Nei M., 1987 - The Neighbour-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4: 406-425.
- Salvatella R., Rodríguez M. E. F., Curto De Casas S. I., Barata J. M. S. & Carcavallo R. U., 1998 - Habitaciones e locais peridomiciliares. In: Carcavallo R. U., Galíndez-Girón I., Jurberg J. & Lent H., Eds. *Atlas dos vetores da doença de Chagas nas Américas*. Fiocruz (Rio de Janeiro), pp. 601-619.
- Santana K. S., Bavia M. E., Lima A. D., Guimarães I. C., Soares E. S., Silva M. M., Mendonça J. & Martin M. S., 2011 - Spatial distribution of triatomines (Reduviidae: Triatominae) in urban areas of the city of Salvador, Bahia, Brazil. *Geospatial Health*, 5: 199-203.
- Santos C. B., Leite G. R., Sessa P. A., Ferreira A. L., Ferreira G. E. M. & Falqueto A., 2004 - Potencial vetorial de *Triatoma vitticeps* Stal, 1859 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) na transmissão do *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 (Kinetoplastidae, Trypanosomatidae) no Estado do Espírito Santo, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 37: 86.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Santos C. B., Ferreira A. L., Leite G. R., Ferreira G. E., Rodrigues A. A. & Falqueto A., 2005. - Peridomestic colonies of *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) infected with *Trypanosoma cruzi* in rural areas of the state of Espírito Santo, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100: 471-473.
- Santos C. B., Leite G. R., Ferreira G. E. & Ferreira A. L., 2006 - Natural infection of *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) with flagellates morphologically similar to *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) in Espírito Santo State. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 39: 89-91.
- Sasidharan R. & Gerstein M., 2008 - Genomics: protein fossils live on as RNA. *Nature*, 453: 729-731.
- Schaefer C. W., 2003 - Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): systematic questions and some others. *Neotropical Entomology*, 32: 1-10.
- Schijman A. G., Bisio M. & Orellana L., 2011 - International study to evaluate PCR methods for detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood samples from Chagas disease patients. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5: e931.
- Schofield C. J. & Dias J. C. P., 1999 - The Southern Cone Initiative against Chagas disease. *Advances in Parasitology*, 42: 1-27.
- Schofield C. J., Diotaiuti L. & Dujardin J. P., 1999 - The process of domestication in Triatominae. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94: 375-378.
- Schofield C. J., 2000 - *Trypanosoma cruzi* - The vector-parasite paradox. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95: 535-544.
- Schofield C. J. & Galvão C., 2009 - Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. *Acta Tropica*, 110: 88-100.
- Severi-Aguiar G. D., Lourenço L. B., Bicudo H. E. & Azeredo-Oliveira M. T., 2006 - Meiosis aspects and nucleolar activity in *Triatoma vitticeps* (Triatominae, Heteroptera). *Genetica*, 126: 141-151.
- Shaw J., Lainson R. & Fraiha H., 1969 - Considerações sobre a epidemiologia dos primeiros casos autóctones de doença de Chagas registrados em Belém, Pará, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 3: 153-157.
- Sherlock I. A. & Guitton N., 1974 - Fauna Triatominae do estado da Bahia, Brasil. II notas sobre ecótopos silvestres e o gênero *Psammolestes*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 72: 91-101.
- Sherlock I. A. & Guitton N., 1980 - Triatomine fauna of the State of Bahia, Brazil. IV. *Triatoma melanocephala* Neiva and Pinto, 1923. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 75: 23-31.
- Silva M. B., Barreto A. V., Silva H. A., Galvão C., Rocha D., Jurberg J. & Gurgel-Gonçalves R., 2012 - Synanthropic triatomines (Hemiptera, Reduviidae) in the state of Pernambuco, Brazil: geographical distribution and natural *Trypanosoma* infection rates between 2006 and 2007. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 45: 60-65.
- Silva R. A., Bonifácio P. R. & Wanderley D. M. V., 1999 - Doença de Chagas no estado de São Paulo: comparação entre pesquisa ativa de triatomíneos em domicílios e notificação de sua presença pela população em área sob vigilância entomológica.

Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 32: 653-659.

- Silveira A. C., Feitosa V. R. & Borges R., 1984 - Distribution of Triatominae captured in a domestic environment, 1975/83, Brazil. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 36: 15-312.
- Silveira A. C., 2011 - O inquérito triatomínico (1975-1983). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 44: 26-32.
- Simon C., Buckley T. R., Frati F., Stewart J. B. & Beckenbach A. T., 2006 - Incorporating molecular evolution into phylogenetic analysis, and a new compilation of conserved polymerase chain reaction primers for animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 37: 545-579.
- Soares R. P., Barbosa S. E., Dujardin J. P., Schofield C. J., Siqueira A. M. & Diotaiuti L., 1999 - Characterization of *Rhodnius neglectus* from two regions of Brazil using isoenzymes, genitalia morphology and morphometry. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94: 161-166.
- Soares R. P., Sant'Anna M. R., Gontijo N. F., Romanha A. J., Diotaiuti L. & Pereira M. H., 2000 - Identification of morphologically similar *Rhodnius* species (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) by electrophoresis of salivary heme proteins. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 62: 157-161.
- Stamatakis A., 2006 - RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, 22: 2688-2690.
- Steindel M., Pacheco L. K., Scholl D., Soares M., Moraes M. H., Eger I., Kosmann C., Sincero T. C., Stoco P. H., Murta S. M., Carvalho-Pinto C. J. & Grisard E. C., 2008 - Characterization of *Trypanosoma cruzi* isolated from humans, vectors and animal reservoirs following an outbreak of acute human Chagas disease in Santa Catarina state, Brazil. *Diagnostic, Microbiology and Infectious Diseases*, 60: 25-32.
- Stothard J. R., Yamamoto Y., Cherchi A., Garcia A. L., Valente S. A. S., Schofield C. J., & Miles M. A., 1998 - A preliminary survey of mitochondrial sequence variation in Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) using polymerase chain reaction-based single strand conformational polymorphism (SSCP) analysis and direct sequencing. *Bulletin of Entomological Research*, 88: 553-560.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A. & Kumar S., 2013 - MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729.
- Tanowitz H. B., Kirchhoff L. V., Simon D., Morris S. A., Weiss L. M. & Wittner M., 1992 - Chagas' disease. *Clinical Microbiology Reviews*, 5: 400-419.
- Tatto E., Padilha E. M. & Fernandes S. B., 2007 - Doença de Chagas Aguda. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e tratamento - Guia de consulta rápida para profissionais de saúde. *Revista de Patologia Tropical*, 36: 1-32.
- Teixeira A. R. L., Monteiro P. S., Rebelo J. M., Argañaraz H. R., Vieira D., Lauria-Pires L., Nascimento R., Vexenat C. A., Silvia A. R., Ault S. K. & Costa J. M., 2001 - Emerging Chagas Disease: trophic network and cycle of transmission of *Trypanosoma cruzi* from palm trees in the Amazon. *Emerging Infectious Diseases*, 7: 100-112.
- Usinger R. L., Wygodzinsky P. & Ryckman R. E., 1966 - The biosystematics of Triatominae. *Annual Review of Entomology*, 11: 309-330.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Valente S. A., Valente V. C. & Fraiha Neto H., 1999 - Considerations on the epidemiology and transmission of Chagas disease in the Brazilian Amazon. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94: 395-398.
- Valente S. A., Valente V. C., Pinto A. Y. N. & Fraiha Neto H., 2000 - Microepidemia familiar e transmissão oral da doença de Chagas na Amazônia brasileira. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95: 69-72.
- Valente S. A., da Costa Valente V., das Neves Pinto A. Y., de Jesus Barbosa César M., dos Santos M. P., Miranda C. O., Cuervo P. & Fernandes O., 2009 - Analysis of an acute Chagas disease outbreak in the Brazilian Amazon: human cases, triatomines, reservoir mammals and parasites. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 103: 291-297.
- Valente V. C., Valente S. A., Noireau F., Carrasco H. J. & Miles M. A., 1998 - Chagas disease in the Amazon basin: Association of *Panstrongylus geniculatus* (Hemiptera: Reduviidae) with domestic pigs (Hemiptera: Reduviidae). *Journal of Medical Entomology*, 35: 99-103.
- Valente V. C., 1999 - Potential for domestication of *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) in the municipality of Muaná, Marajó Island, State of Pará, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94: 399-400.
- Van der Sande C. A., Kwa M., van Nues R. W., van Heerikhuizen H., Raué H. A. & Planta R. J., 1992 - Functional analysis of internal transcribed spacer 2 of *Saccharomyces cerevisiae* ribosomal DNA. *Journal of Molecular Biology*, 223: 899-910.
- Vazquez-Prokopec G. M., Cecere M. C., Canale D. M., Gürtler R. E. & Kitron U., 2005 - Spatiotemporal patterns of reinfestation by *Triatoma guasayana* (Hemiptera: Reduviidae) in a rural community of northwestern Argentina. *Journal of Medical Entomology*, 42: 571-581.
- Vinhaes M. C. & Dias J. C. P., 2000 - Doença de Chagas no Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 16: 13-34.
- Vinhaes M. C., de Oliveira S. V., Reis P. O., de Lacerda Sousa A. C., Silva R. A., Obara M. T., Bezerra C. M., da Costa V. M., Alves R. V. & Gurgel-Gonçalves R., 2014 - Assessing the vulnerability of Brazilian municipalities to the vectorial transmission of *Trypanosoma cruzi* using multi-criteria decision analysis. *Acta Tropica*, 137: 105-110.
- Waleckx E., Gourbière S. & Dumonteil E., 2015 - Intrusive versus domiciliated triatomines and the challenge of adapting vector control practices against Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110: 324-338.
- Weirauch C. & 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.
- Weirauch C., 2008 - Cladistic analysis of Reduviidae (Heteroptera: Cimicomorpha) based on morphological characters. *Systematic Entomology*, 33: 229-274.
- WHO, 2002 - *Control of Chagas Disease. Second Report of the WHO Expert Committee. WHO Technical Report Series 905*. World Health Organization. (Geneva, Switzerland) (http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42443/1/WHO_TRS_905.pdf).
- WHO, 2015 - *Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Third WHO report on neglected tropical diseases*. World Health Organization. (Geneva,

- Switzerland) (<http://apps.who.int/iris/handle/10665/152781>).
- Wolff M. & Castillo D., 2000 - Evidencias de domesticación y aspectos biológicos de *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811) (Hemiptera: Reduviidae). *Acta Entomológica Chilena*, 24: 77-83.
- Zeledón R., 1972 - Los vectores de la enfermedad de Chagas en América. *Simposio Internacional de Enfermedad de Chagas*, Buenos Aires, p. 327.
- Zheng D. & Gerstein M. B., 2007 - The ambiguous boundary between genes and pseudogenes: the dead rise up or do they? *Trends in Genetics*, 23: 219-224.
- Zheng X., Cai D., Yao L. & Teng Y., 2008 - Non-concerted ITS evolution, early origin and phylogenetic utility of ITS pseudogenes in *Pyrus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48: 892-903.
- Zingales B., Andrade S. G., Briones M. R., Campbell D. A., Chiari E., Fernandes O., Guhl F., Lages-Silva E., Macedo A. M., Machado C. R., Miles M. A., Romanha A. J., Sturm N. R., Tibayrenc M. & Schijman A. G., 2009 - A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104: 1051-1054.
- Zingales B., Miles M. A., Campbell D. A., Tibayrenc M., Macedo A. M., Teixeira M. M., Schijman A. G., Llewellyn M. S., Lages-Silva E., Machado C. R., Andrade S. G. & Sturm N. R., 2012 - The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infection, Genetics and Evolution*, 12: 240-253.
- Zuriaga M. A., Mas-Coma S. & Bargues M. D., 2015 - A nuclear ribosomal DNA pseudogene in triatomines opens a new research field of fundamental and applied implications in Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110: 353-362.

APÉNDICE

Tablas de haplotipos

Tabla de haplotipos nucleotídicos obtenidos en la presente Tesis

Especie	Procedencia geográfica	ITS-1	ITS-2	Intergénica completa	16S	ND1	CO1	CytB
<i>Triatoma pseudomaculata</i>	Seabra (Bahia)	T.pse-HA	T.pse-H1	T.pse-CH1A	T.pse-16Sa	T.pse-ND1a	T.pse-CO1a	T.pse-CytBa
	Cajazeiras (Paraíba)	T.pse-HB	T.pse-H1	T.pse-CH1B	T.pse-16Sb	-	T.pse-CO1b	-
<i>T. sordida</i>	Seabra (Bahia)	T.sor-HA	T.sor-H1	T.sor-CH1A	T.sor-16Sa	T.sor-ND1a	T.sor-CO1a	T.sor-CytBa
<i>T. brasiliensis</i>	Curacá (Bahia)	T.bra-HH	T.bra-H1	T.bra-CH1H	T.bra-16Sa	T.bra-ND1a	T.bra-CO1a	T.bra-CytBa
	Icó (Ceará)	T.bra-HH	T.bra-H1	T.bra-CH1H	T.bra-16Sb	T.bra-ND1b	T.bra-CO1b	T.bra-CytBb
	Umari (Ceará)	T.bra-HA	T.bra-H1	T.bra-CH1A	T.bra-16Sa	T.bra-ND1a	T.bra-CO1a	T.bra-CytBa
		T.bra-HA	T.bra-H4	T.bra-CH4A				
	Cajazeiras (Paraíba)	T.bra-HA	T.bra-H1	T.bra-CH1A	T.bra-16Sc	T.bra-ND1d T.bra-ND1e	T.bra-CO1c	T.bra-CytBc
	Santa Terezinha (Paraíba)	T.bra-HA	T.bra-H3	T.bra-CH3A	T.bra-16Sc	T.bra-ND1c	T.bra-CO1d	T.bra-CytBd
	Caicó (Rio Grande do Norte)	T.bra-HA	T.bra-H1	T.bra-CH1A	T.bra-16Sd	T.bra-ND1c	T.bra-CO1d T.bra-CO1e	T.bra-CytBe
<i>T. juazeirensis</i>	Ibipeba (Bahia)	T.jua-HM	T.jua-H8	T.jua-CH8M	T.jua-16Sa	T.jua-ND1a	T.jua-CO1a	T.jua-isolate209
					T.jua-16Sb		T.jua-CO1b	
Juazeiro (Bahia)	T.jua-HM	T.jua-H8	T.jua-CH8M	T.jua-16Sc	T.jua-ND1b	T.jua-CO1c	T.jua-CytBa	
<i>T. sherlocki</i>	Bahia	T.she-HK	T.she-H5	T.she-CH5K	T.she-16Sa	T.she-ND1a	T.she-CO1a	T.she-CytBa
	Gentio do Ouro (Bahia)	T.she-HK	T.she-H5	T.she-CH5K	T.she-16Sa	T.she-ND1b	T.she-CO1b	T.she-CytBpartial
		Santo Inácio	T.she-HK	T.she-H5	T.she-CH5K	T.she-16Sb	T.she-ND1c	T.she-CO1b
<i>T. melanica</i>	Paus-Pretos (Bahia)	T.mel-HJ	T.mel-H5	T.mel-CH5J	T.mel-16Sa	T.mel-ND1a	T.mel-CO1a	T.mel-CytBa
<i>T. lenti</i>	Bahia	T.len-HA	T.len-H1	T.len-CH1A	T.len-16Sa	T.len-ND1a	T.len-CO1a	T.len-CytBa

APÉNDICE. Tabla de haplotipos nucleotídicos

	Macaúbas (Bahia)	T.len- HA	T.len- H1	T.len-CH1A	T.len-16Sa	T.len- ND1b	T.len- CO1b	T.len- CytBb
<i>T. petrocchiaie</i>	Cajazeiras (Parafba)	T.pet- HA	T.pet- H1	T.pet-CH1A	T.pet-16Sa	-	T.pet- CO1a	-
	Santa Terezinha (Parafba)	T.pet- HA	T.pet- H1	T.pet-CH1A	T.pet-16Sb	-	-	-
	Caicó (Rio Grande do Norte)	T.pet- HA	T.pet- H2	T.pet-CH2A	T.pet-16Sc	T.pet- ND1a	T.pet- CO1a	T.pet- CytBa
	Currais Novos (Rio Grande do Norte)	T.pet- HA	T.pet- H3	T.pet-CH3A	T.pet-16Sd	T.pet- ND1b	T.pet- CO1b	T.pet- CytBb
<i>T. melanocephala</i>	Poções (Bahia)	T.mno- HA	T.mno- H1	T.mno-CH1A	T.mno- 16Sa	T.mno- ND1a	T.mno- CO1a	T.mno- CytBa
	Jequié (Bahia)	T.mno- HB	T.mno- H1	T.mno-CH1B	T.mno- 16Sb	T.mno- ND1b	T.mno- CO1b	T.mno- CytBb
<i>T. tibiamaculata</i>	Mogi Guaçu (São Paulo)	T.tib- HA	T.tib- H1	T.tib-CH1A	T.tib-16Sa	T.tib- ND1a	T.tib- CO1a	T.tib- CytBa
<i>T. vitticeps</i>	Guarapari (Espírito Santo)	T.vit- HA	T.vit- H1	T.vit-CH1A	T.vit-16Sa	T.vit- ND1a	-	T.vit- CytBa
	Pedra Azul (Minas Gerais)	T.vit- HB	T.vit- H2	T.vit-CH2B	T.vit-16Sb	-	T.vit- CO1a	-
<i>Panstrongylus megistus</i>	Seabra (Bahia)	P.meg- HS	P.meg- H1	P.meg-CH1S	P.meg-16Sa	P.meg- ND1a	P.meg- CO1a	P.meg- CytBa
		P.meg- HS	P.meg- H10	P.meg-CH10S				
	Juquiá (São Paulo)	P.meg- HQ	P.meg- H9	P.meg-CH9Q	P.meg-16Sb	P.meg- ND1b	P.meg- CO1b	P.meg- CytBb
<i>P. geniculatus</i>	Seabra (Bahia)	P.gen- HA	P.gen- H1	P.gen-CH1A	P.gen-16Sa	P.gen- ND1a	-	-
<i>P. lutzi</i>	Curaçá (Bahia)	P.lut- HA	-	-	P.lut-16Sa	-	-	-
<i>P. herreri</i>	Belém (Pará)	P.her- HA	P.her- H1	P.her-CH1A	P.her-16Sa	P.her- ND1a	P.her- CO1a	P.her- CytBa
<i>Rhodnius neglectus</i>	Frutal (Minas Gerais)	-	-	-	R.neg-16Sa	R.neg- ND1a	-	-
	Uberaba (Minas Gerais)	R.neg- HA	-	-	R.neg-16Sb	-	R.neg- CO1a	R.neg- CytBa
<i>R. robustus</i>	Lima (Perú)	R.rob- HA	R.rob- H1	R.rob-CH1A	R.rob-16Sa	-	-	R.rob- CytBa
	Venezuela	R.rob- HA	R.rob- H2	R.rob-CH2A	R.rob-16Sb	R.rob- ND1a*	-	R.rob- CytBb
<i>R. pictipes</i>	Belém (Pará)	R.pic- HA	R.pic- H1	R.pic-CH1A	R.pic-16Sa	R.pic- ND1a	R.pic- CO1a	R.pic- CytBa
	Tocantinópolis (Tocantins)	R.pic- HB	R.pic- H2	R.pic-CH2B	R.pic-16Sa	R.pic- ND1b	R.pic- CO1b	R.pic- CytBb

(-) No disponible

Tabla de haplotipos aminoacídicos obtenidos en la presente Tesis

Especie	Procedencia geográfica	ND1	CO1	CytB
<i>Triatoma pseudomaculata</i>	Seabra (Bahia)	T.pse-ND1A	T.pse-CO1A	T.pse-CytBA
	Cajazeiras (Paraíba)	-	T.pse-CO1B	-
<i>T. sordida</i>	Seabra (Bahia)	T.sor-ND1A	T.sor-CO1A	T.sor-CytBA
<i>T. brasiliensis</i>	Curaçá (Bahia)	T.bra-ND1A	T.bra-CO1A	T.bra-CytBA
	Icó (Ceará)	T.bra-ND1B	T.bra-CO1B	T.bra-CytBB
	Umari (Ceará)	T.bra-ND1A	T.bra-CO1A	T.bra-CytBA
	Cajazeiras (Paraíba)	T.bra-ND1C T.bra-ND1D	T.bra-CO1A	T.bra-CytBC
	Santa Terezinha (Paraíba)	T.bra-ND1C	T.bra-CO1A	T.bra-CytBD
	Caicó (Rio Grande do Norte)	T.bra-ND1C	T.bra-CO1A	T.bra-CytBE
	<i>T. juazeirensis</i>	Ibipeba (Bahia)	T.jua-ND1A	T.jua-CO1A
Juazeiro (Bahia)		T.jua-ND1B	T.jua-CO1A	T.jua-CytBA
<i>T. sherlocki</i>	Bahia	T.she-ND1A	T.she-CO1A	T.she-CytBA
	Gentio do Ouro (Bahia)	T.she-ND1B	T.she-CO1B	T.she-CytBC
	Santo Inácio			T.she-CytBB
<i>T. melanica</i>	Paus-Pretos (Bahia)	T.mel-ND1A	T.mel-CO1A	T.mel-CytBA
<i>T. lenti</i>	Bahia	T.len-ND1A	T.len-CO1A	T.len-CytBA
	Macaúbas (Bahia)	T.len-ND1B	T.len-CO1A	T.len-CytBB
<i>T. petrocchiai</i>	Cajazeiras (Paraíba)	-	T.pet-CO1A	-

APÉNDICE. Tabla de haplotipos aminoacídicos

<i>T. melanocephala</i>	Caicó (Rio Grande do Norte)	T.pet-ND1A	T.pet-CO1A	T.pet-CytBA
	Currais Novos (Rio Grande do Norte)	T.pet-ND1A	T.pet-CO1A	T.pet-CytBB
	Poções (Bahia)	T.mno-ND1A	T.mno-CO1A	T.mno-CytBA
	Jequié (Bahia)	T.mno-ND1B	T.mno-CO1B	T.mno-CytBB
<i>T. tibiamaculata</i>	Mogi Guaçu (São Paulo)	T.tib-ND1A	T.tib-CO1A	T.tib-CytBA
<i>T. vitticeps</i>	Guarapari (Espírito Santo)	T.vit-ND1A	-	T.vit-CytBA
	Pedra Azul (Minas Gerais)	-	T.vit-CO1A	-
<i>Panstrongylus megistus</i>	Seabra (Bahia)	P.meg-ND1A	P.meg-CO1A	P.meg-CytBA
	Juquiá (São Paulo)	P.meg-ND1B	P.meg-CO1B	P.meg-CytBB
<i>P. geniculatus</i>	Seabra (Bahia)	P.gen-ND1A	-	-
<i>P. herreri</i>	Belém (Pará)	P.her-ND1A	P.her-CO1A	P.her-CytBA
<i>Rhodnius neglectus</i>	Frutal (Minas Gerais)	R.neg-ND1A	-	-
	Uberaba (Minas Gerais)	-	R.neg-CO1A	R.neg-CytBA
<i>R. robustus</i>	Lima (Perú)	-	-	R.rob-CytBA
	Venezuela	R.rob-ND1A	-	R.rob-CytBB
<i>R. pictipes</i>	Belém (Pará)	R.pic-ND1A	R.pic-CO1A	R.pic-CytBA
	Tocantinópolis (Tocantins)	R.pic-ND1B	R.pic-CO1B	R.pic-CytBB

(-) No disponible

