



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO®

**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CONKAL**

**ÉXITO REPRODUCTIVO ENTRE HAPLOGRUPO UNO Y TRES DEL
COMPLEJO *TRITOMA DIMIDIATA*, VECTOR DE LA ENFERMEDAD
DE CHAGAS.**

Que presenta:

Guadalupe Ivette Hernández Bolio

Como requisito parcial para obtener el grado de:

Licenciatura en Biología

Asesores:

Dr. Irving Jesús May Concha

Dr. Joel Israel Moo Millan

Dr. Etienne Waleckx

M. en C. Francisco Javier Nava Guizar

TESIS

Conkal, Yucatán, México.



TecNM



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CONKAL**

**ÉXITO REPRODUCTIVO ENTRE HAPLOGRUPO UNO Y TRES DEL
COMPLEJO *TRIATOMA DIMIDIATA*, VECTOR DE LA ENFERMEDAD
DE CHAGAS.**

Que presenta:

Guadalupe Ivette Hernández Bolio

Como requisito parcial para obtener el grado de:

Licenciatura en Biología

Asesores:

Dr. Irving Jesús May Concha

Dr. Joel Israel Moo Millan

Dr. Etienne Waleckx

M. en C. Francisco Javier Nava Guizar

TESIS

Conkal, Yucatán México.



TecNM

DEDICATORIAS

A Dios, por dame la fuerza, valentía y sabiduría para culminar esta meta. Porque sin él no estaría aquí.

A mis padres Manuel Mateo Hernández Villegas y Gloria Ivette Bolio López por apoyarme en la elección de esta hermosa carrera, por sus consejos, motivación, amor y por siempre confiar en mí, y estar para mí en cada paso que doy.

A mis hermanos, por siempre hacerme sentir en casa, aun estando lejos de ella; también por todas sus atenciones, su apoyo incondicional, y principalmente por todo su amor. Y a mi hermano, porque durante seis semestres se levantaba conmigo a las 6:00 a.m. para llevarme al Instituto sin tener la obligación de hacerlo.

A mi sobrino, por siempre alegrar mis días, por creer en mí y motivarme a ser mejor.

A mis amigos, por su cariño, apoyo, y por su amistad sincera que perdura hasta el día de hoy, y que desde primer día hicieron la carrera aún más divertida.

A mis compañeros de laboratorio: Doctores, Maestros y alumnos de pre-grado, por su disposición, enseñanza, apoyo y amistad.

A mis asesores, el Dr. Irving Jesús May Concha, el Dr. Etienne Waleckx, y al Dr. Joel Isarel Moo Millán, por todas sus enseñanzas, apoyo moral y por siempre motivarnos a seguir aprendiendo y a cuestionar.

AGRADECIMIENTOS

Es muy común escuchar la frase que dice «todo pasa por algo», y creo firmemente que no estaría en este punto de la vida si no hubiera aceptado el camino que Dios tenía planeado para mí; así que, principalmente estoy agradecida con Dios por ponerme en este camino y en esta carrera, por darme la sabiduría y fortaleza para continuar y mejorar tanto en lo profesional como en lo personal. Agradezco también al Tecnológico Nacional de México Campus Conkal por haberme formado y brindado las herramientas necesarias para desarrollarme profesionalmente. También al Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi” por abrirme sus puertas y regalarme dos años llenos de aprendizaje. Principalmente agradezco al Dr. Irving Jesús May Concha, al Dr. Etienne Waleckx, y al Dr. Joel Israel Moo Millán, que aparte de ser mis asesores, se convirtieron en grandes amigos y mentores. Gracias por mostrarme el mundo de la investigación y seguirnos formando académicamente. De igual manera, también agradezco su dedicación, tiempo, y la confianza depositada en mí.

Gracias a Mirely del Carmen Franco Sosa, que emprendió esta aventura conmigo desde hace dos años; gracias por tu gran apoyo y amistad. Sin ti nada hubiera sido igual.

Al equipo del laboratorio, gracias por recibirme cálidamente, por tener la disposición siempre de apoyarme y enseñarme, por sus retroalimentaciones, por brindarme la confianza de ayudarlos y principalmente gracias por su amistad.

Gracias infinitas a mi familia por su apoyo incondicional, por creer en mí y por estar para mí en todo momento. Este logro no sería posible sin ustedes.

Finalmente, y no menos importante, me agradezco por siempre creer en mí y en mis capacidades, y por siempre salir adelante sin importar las adversidades.

RESUMEN

La enfermedad de Chagas es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, el cual es transmitido principalmente por las excretas de chinches hematófagas. En México, *Triatoma dimidiata* es uno de los principales vectores, y presenta tres haplogrupos (hg): hg1, hg2 y hg3. En la Península de Yucatán viven en simpatría dos haplogrupos (hg1 y hg2 recientemente sinonimizado con hg3), así como híbridos de estos. Sin embargo, hasta el momento hay poca información sobre el éxito reproductivo entre éstos, y su posible impacto en los ciclos de transmisión. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el éxito reproductivo entre los haplogrupos presentes en la Península de Yucatán. El comportamiento de cópula fue evaluado en una arena experimental. Los ensayos fueron realizados con insectos vírgenes con los cuales se formaron los siguientes grupos: macho hg1 con hembra hg1; macho hg 1 con hembra hg3; macho hg3 con hembra hg1. Se hicieron 10 parejas por cada grupo. Las variables que se midieron fueron: tiempo de cópula, tiempo de pre-oviposición, fecundidad y fertilidad de los huevos. Los resultados no mostraron diferencias significativas en los parámetros evaluados. Sin embargo, se observaron huevos fértiles en las cruas de los haplogrupos 1 y 3 demostrando que el éxito reproductivo entre los haplogrupos presentes en el estado son viables. Además, el presente trabajo aporta nuevos conocimientos relacionados con la biología y la etología del vector en Yucatán.

Palabras clave: Enfermedad de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, *Triatoma dimidiata*, haplogrupos, éxito reproductivo.

ABSTRACT

Chagas disease is caused by the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*, and is mainly transmitted by the excretions of blood-sucking bugs. In Mexico, *Triatoma dimidiata* is one of the main vectors, and three haplogroups (hg) are present: hg1, hg2 and hg3. In the Yucatan Peninsula, two haplogroups are living in sympatry (hg1 and hg2 recently synonymized with hg3), as well as hybrids of these. However, there is little information on reproductive success among these, and its possible impact on transmission cycles. Therefore, the aim of this work was to evaluate reproductive success among the haplogroups present in the Yucatan Peninsula. Copulation behavior was evaluated in an experimental arena. The tests were performed with virgin insects and the following experimental groups were formed: hg1 male with hg1 female; hg1 male with hg3 female; hg3 male with hg1 female. Ten pairs of each combination were made. The variables measured were: copulation time, pre-oviposition time, fecundity and egg fertility. No significant differences were observed in the parameters evaluated. However, fertile eggs were observed in the crosses of haplogroups 1 and 3, demonstrated that the reproductive success among the haplogroups present in the state is viable. In addition, the present work provides new knowledge related to the biology and ethology of the vector.

Key words: Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, *Triatoma dimidiata*, haplogroups, reproductive success.

ÍNDICE DE CONTENIDO

DIRECCIÓN DEL PROYECTO DE TITULACIÓN. CONFORMACIÓN DEL JURADO DEL ACTO PROTOCOLARIO	¡Error! Marcador no definido.
DEDICATORIAS	2
AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN.....	4
ABSTRACT	5
ÍNDICE DE FIGURAS.....	7
ÍNDICE DE TABLAS	7
INTRODUCCIÓN	9
OBJETIVOS.....	11
Objetivo general	11
Objetivos específicos.....	11
FUNDAMENTO TEÓRICO.....	12
Generalidades de la enfermedad de Chagas	12
Generalidades de <i>Trypanosoma cruzi</i>	12
Reservorios y hospederos de <i>Trypanosoma cruzi</i>	14
Vectores del parásito.	15
<i>Triatoma dimidiata</i>	16
Taxonomía, morfología y ciclo de vida.....	16
Hábitos alimenticios de <i>T. dimidiata</i>	18
Distribución geográfica y hábitat de <i>T. dimidiata</i>	19
Haplogrupos de <i>T. dimidiata</i> en Yucatán.	20
Comportamiento sexual en triatominos.....	23
Eficiencia reproductiva de <i>T. dimidiata</i>	24
Estudios de hibridación.	26
DESARROLLO DEL PROYECTO.....	28
Insectos Triatominos.....	28
Estado nutricional de los insectos.....	28
Bioensayos.....	29
Grupos experimentales	29

Análisis de datos	30
RESULTADOS Y DISCUSIONES	31
Tiempo promedio de cópula	31
Fecundidad.....	34
Fertilidad.....	36
Tiempo de preoviposición	38
Ingesta de sangre	39
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	41
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
ANEXOS.....	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estados morfológicos de <i>T. cruzi</i> en el vector.....	13
Figura 2. Morfología de <i>Triatoma dimidiata</i>	17
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Triatoma dimidiata</i>	18
Figura 4. Cópula en adultos de <i>Triatoma dimidiata</i>	24
Figura 5. Comparación del tiempo promedio de cópula en <i>Triatoma dimidiata</i>	34
Figura 6. Comparación de la fecundidad en <i>Triatoma dimidiata</i>	36
Figura 7. Comparación de la fertilidad en <i>Triatoma dimidiata</i>	38
Figura 8. Comparación del tiempo promedio de oviposición en días de <i>Triatoma dimidiata</i> . ..	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Triatoma dimidiata</i> .	16
Tabla 2. Clasificación de grupos y subgrupos de <i>Triatoma dimidiata</i> según distintos autores.	22
Tabla 3. Parejas que tuvieron éxito reproductivo.	37

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Alimentación de la colonia de <i>T. dimidiata</i> con palomas	56
Anexo 2. Alimentación de insectos de quinto estadio ninfal de <i>T. dimidiata</i>	56
Anexo 3. Emergencia y separación de adultos de <i>T. dimidiata</i> de acuerdo al haplogrupo y sexo.	56
Anexo 4. Ensayos de cópula en adultos de <i>T. dimidiata</i>	57

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, el cual, es transmitido principalmente de manera vectorial. Se estima que en el mundo existen de seis a siete millones de personas infectadas con el parásito (OMS, 2023). En México, la enfermedad está presente en todo el territorio y se estima que alrededor de cuatro millones de personas podrían estar infectadas (Arnal *et al.*, 2019). Actualmente, no hay vacunas o fármacos efectivos y seguros. Por lo tanto, el control vectorial es la principal estrategia para disminuir la transmisión del parásito (OMS, 2023). Sin embargo, para desarrollar estrategias más precisas de control y monitoreo en el área local es necesario conocer la ecología y la biología de los insectos vectores (Waleckx *et al.*, 2015).

En México, existen alrededor de 30 especies de insectos Triatominos capaces de transmitir al parásito (Ramsey *et al.*, 2015), siendo la especie *Triatoma dimidiata* el vector de mayor importancia epidemiológica debido a su distribución y relación con la transmisión del parásito *T. cruzi* (Dorn, 2007). Aunque su clasificación en la sistemática no está bien definida, se ha comprobado que *T. dimidiata* es un complejo de especies conformado por el haplogrupo 1, haplogrupo 2 y haplogrupo 3.

En los triatominos, el éxito para invadir y colonizar nuevos ambientes no depende solo de la disponibilidad de alimento, sino de la capacidad reproductiva de cada especie. Por lo tanto, la reproducción sexual en los insectos es un comportamiento altamente significativo en su ciclo biológico, ya que de este depende su éxito en la reproducción y preservación de la especie. Sin embargo, se ha observado en triatominos que aparte de las cruas parentales, el fenómeno de hibridación es común entre las especies (Herrera-Aguilar *et al.*, 2009; Meraz *et al.*, 2019;

Martínez-Ibarra *et al.*, 2023). Diversos estudios han demostrado que estos híbridos poseen mejoras en parámetros biológicos como: menor tiempo del ciclo de vida, mayor porcentaje de eclosión, mejor estado físico y mayor frecuencia de defecación (Díaz *et al.*, 2017; Martínez-Ibarra *et al.*, 2017; 2020). Estas modificaciones podrían estar implicadas en un aumento en la transmisión de *T. cruzi*. En Yucatán, se encuentran el haplogrupo 2 y 3 del complejo de *Triatoma dimidiata* viviendo en simpatria, e híbridos de estos han sido también reportados (Herrera-Aguilar *et al.*, 2009). Sin embargo, existe poco conocimiento sobre la biología y éxito reproductivo entre estos haplogrupos y su impacto en la epidemiología de la enfermedad de Chagas, considerando que, se ha reportado que los híbridos presentan una mayor susceptibilidad a la infección por *T. cruzi* (Herrera-Aguilar *et al.*, 2009) y que además se encuentran más atraídos a hospederos infectados (Ramírez-Sierra & Dumonteil, 2015). Es importante destacar que la eficacia reproductiva en los triatomíneos es un factor relevante que regula la dinámica poblacional y la dispersión en triatomíneos y que influye al momento de la colonización o recolonización de un ecotopo incrementando así, el riesgo epidemiológico. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es caracterizar la biología reproductiva de las cruces de los haplogrupos 1 y 3 de *T. dimidiata*, con el fin de proporcionar un panorama sobre la dinámica poblacional y dispersión en esta especie y sobre la eco-epidemiología y transmisión del parásito. Además, es importante resaltar que no existen estudios que analicen aspectos de la biología reproductiva de estas cruces en Yucatán. Por lo tanto, este trabajo representa un estudio pionero.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el éxito reproductivo en cruzas de haplogrupo 1 (hg1) y haplogrupo 3 (hg3) del complejo *Triatoma dimidiata*.

Objetivos específicos

1. Realizar cruzas intraespecíficas entre hembras de haplogrupo 1 y machos de haplogrupo 3.
2. Realizar cruzas intraespecíficas entre hembras de haplogrupo 3 y machos de haplogrupo 1.
3. Comparar el éxito reproductivo entre hembras del hg1 y machos hg 3.
4. Comparar el éxito reproductivo entre hembras del hg3 y machos hg1.

FUNDAMENTO TEÓRICO

Generalidades de la enfermedad de Chagas

La enfermedad de Chagas o también conocida como Trypanosomiasis Americana, es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* y es transmitido principalmente por las excretas de chinches hematófagas comúnmente conocidas como chinches besuconas. Se estima que en el mundo existen de seis a ocho millones de personas infectadas y que ocasiona alrededor de doce mil muertes por año (OMS, 2023).

México, es un país endémico de la enfermedad de Chagas, y la transmisión se encuentra presente en todo el territorio donde se estima que existen alrededor de 4.06 millones de casos, que representa una seroprevalencia del 3.38%, lo que situaría a México como el país con mayor número de casos (Arnal *et al.*, 2019)

La principal estrategia para disminuir la transmisión del parásito es el control vectorial (OMS, 2021; Monteiro *et al.*, 2013). Sin embargo, es necesario considerar la biología de los vectores para desarrollar estrategias de control sustentables y eficaces adaptadas a poblaciones de vectores locales (Waleckx *et al.*, 2015).

Generalidades de *Trypanosoma cruzi*.

T. cruzi es un protozoo flagelado perteneciente al *Phylum* Euglenozoa, clase Kinetoplastea, subclase Metacinetoplastina, orden Trypanosomatida, familia Trypanosomatidae (Vargas-Parada, 2010). Este parásito se caracteriza por la presencia de un único flagelo y una única mitocondria donde se encuentra ubicado el cinetoplasto, orgánulo especializado que contiene

ADN (Córdova, 2007; Brener, 1992). *T. cruzi* presenta tres principales estadios morfológicos (Figura 1): a) tripomastigote: se encuentra en el contenido rectal del vector (tripomastigote metacíclico) y en la sangre de mamíferos infectados (tripomastigote sanguíneo); b) amastigote: es esférico, no presenta flagelo visible, y se localiza exclusivamente dentro de las células del mamífero infectado; c) epimastigote: alargado y presenta flagelo. Es la forma de multiplicación en el intestino del vector (Córdova, 2007). Naturalmente este parásito es mantenido por diferentes especies de mamíferos y vectores infectados (Lazo *et al.*, 2019). La forma más común de contraer la infección es a través del contacto con las heces del insecto vector infectado que contienen tripomastigotes metacíclicos. (Moretti *et al.*, 2020)

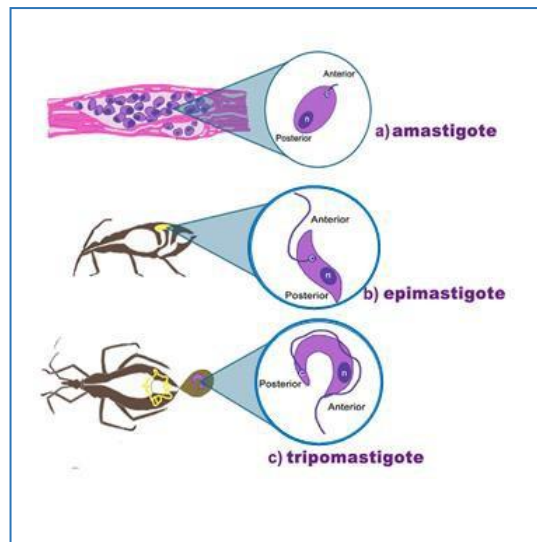


Figura 1. Estados morfológicos de *T. cruzi* en el vector. a) amastigotes en el tejido de huésped vertebrado; b) epimastigote en el intestino medio del vector; c) tripomastigote metacíclico en el recto y las heces del vector. Tomado y modificado de Peña-Callejas *et al.*, 2022.

T. cruzi se caracteriza por una amplia diversidad genética la cual está clasificada en siete «Unidades discretas de tipificación» (UU.DD.T): TcI, TcII, TcIII, TcIV, TcV y TcVI, y Tcbat asociado a murciélagos (Zingales *et al.*, 2012; Zingales & Bartholomeu, 2022). Estas UU.DD.T se encuentran distribuidas a lo largo del continente americano, presentan diversidad genética alta, y sumado a esto, se cree que pueden provocar manifestaciones clínicas diferentes, complicando la epidemiología de la enfermedad de Chagas (Guhl & Ramírez, 2011; Zingales *et al.*, 2012; Higuera *et al.*, 2013; Messenger *et al.*, 2015; Brenière *et al.*, 2016; Zuma *et al.*, 2020).

Reservorios y hospederos de *Trypanosoma cruzi*.

De manera natural *T. cruzi* posee la capacidad de infectar a la mayoría de los mamíferos (Zuma *et al.*, 2020). Se han encontrado varias especies de mamíferos selváticos infectadas naturalmente con este parásito, abarcando cerca de 73 géneros y 9 órdenes los cuales son: Didelphimorphia (marsupiales), Cingulata (armadillos), Rodentia (roedores), Carnívora (carnívoros), Artiodactyla (cerdos, pecaríes), Chiroptera (murciélagos), Pilosa (perezosos, osos hormigueros), Lagomorpha (liebres y conejos) y Primata (primates) (Hoare, 1972; Yeo *et al.*, 2005; Izeta-Alberdi *et al.*, 2016).

En Yucatán, se han encontrado diversos hospederos infectados con *T. cruzi*. Entre ellos se encuentran los mamíferos domésticos como el perro (*Canis lupus familiaris*) y el gato (*Felis catus domesticus*), los mamíferos sinantrópicos como la zarigüeya (*Didelphis marsupialis*), el ratón (*Mus musculus*), murciélagos (Quiropteros) y la rata (*Rattus rattus*), los mamíferos silvestres como la zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*), el armadillo (*Dasypus novemcinctus mexicanus*), el mapache (*Procyon lotor*), el tejón (*Nasua narica*), y al menos cinco especies de roedores silvestres, incluyendo a *Peromyscus leucopus* y *Peromyscus yucatanicus*. Cabe

mencionar que los mamíferos son los únicos vertebrados que pueden ser hospederos del parásito. Los anfibios, aves y reptiles son refractarios a la infección con *T. cruzi* (Zavala-Velázquez *et al.*, 1996; Reyes-Novelo *et al.*, 2011; Reyes-novelo & Ruiz-piña, 2013; Moo-Millan *et al.*, 2019; Torres-Castro *et al.*, 2021). Sin embargo, hallazgos recientes sugieren que las aves podrían ser potenciales hospederos del parásito lo que abre un nuevo paradigma en la eco-epidemiología de *T. cruzi*. (Martínez-Hernández *et al.*, 2022)

Vectores del parásito.

Los triatominos constituyen una subfamilia de alrededor de 149 especies y dos especies fósiles (Justi y Galvão, 2017; Justi *et al.*, 2018) Todas las especies de triatominos se consideran vectores potenciales de *T. cruzi*, pero epidemiológicamente, solo alrededor de 20 especies pertenecientes a los géneros *Triatoma*, *Rhodnius* y *Panstrongylus* son relevantes en la transmisión de *T. cruzi* a humanos, siendo las especies *Triatoma infestans*, *Triatoma dimidiata* y *Rhodnius prolixus* los vectores de mayor importancia (Gourbière *et al.*, 2012; Monteiro *et al.*, 2013; Guhl, 2017).

En México se han registrado 31 especies y nueve subespecies pertenecientes a la subfamilia Triatominae, de las cuáles, 27 especies se han encontrado naturalmente infectadas con *T. cruzi*. (Ramsey *et al.*, 2015)

En México las principales especies de importancia epidemiológica son *Triatoma dimidiata*, *Triatoma barberi*, *Triatoma mexicana*, *Triatoma pallidipennis* y *Triatoma longipennis* (Salazar-Schettino *et al.*, 2019; Carabarin- Lima *et al.*, 2013).

Triatoma dimidiata

Taxonomía, morfología y ciclo de vida.

Triatoma dimidiata se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera (Tabla 1) (Morán-Rodríguez, 2013)

Tabla 1.

Clasificación taxonómica de Triatoma dimidiata.

Reino: Animal
Phylum: Artrópoda
Clase: Insecta
Orden: Hemiptera
Familia: Reduviidae
Subfamilia: Triatominae
Género: <i>Triatoma</i>
Especie: <i>Triatoma dimidiata</i> (Latreille, 1811)

Morfológicamente *T. dimidiata* presenta una coloración distintiva en el cuerpo, que generalmente va desde píceo a negro, y en el conexivo y corium desde amarillo pálido hasta amarillo naranja. El macho mide entre 24.5 a 32.0 mm aproximadamente, mientras que la hembra mide entre 24.5 a 35.0 mm aproximadamente (Figura 2) (Menes-Hernández, 2004).

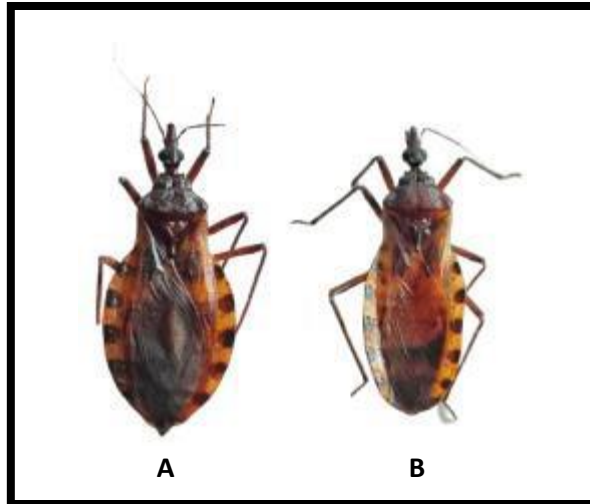


Figura 2. Morfología de *Triatoma dimidiata*: A) hembra; B) macho. Elaboración personal.

T. dimidiata es una especie considerada altamente variable, especialmente en las mediciones relativas de la cabeza y ojos. Además, es muy variable en sus aspectos cromáticos, proporciones corporales y estructuras genitales (Lent y Jurberg, 1985). Zeledón (1981), Schofield (2005) y Jurberg *et al.* (2005) determinan a *T. dimidiata* como un ensamblaje de poblaciones altamente variables morfológicamente y sugieren la existencia de un complejo de especies, por su gran variabilidad en el tamaño y en la coloración (ver más adelante en el apartado: Haplogrupos de *T. dimidiata* en Yucatán)

El ciclo de vida de *T. dimidiata* presenta un estado de huevo, cinco estadios ninfales y finalmente el estado adulto (Figura 3). Todos los estadios ninfales y el estado adulto se alimentan de sangre. Por lo tanto, es considerada una especie hematófaga estricta. Las ninfas, durante sus etapas de desarrollo requieren alimentarse por lo menos una vez para poder mudar al siguiente estadio. En el primer y segundo estadio la ninfa puede alimentarse del hospedero o a través de la coprofagia (Schaub, 1989). El tiempo de vida en los adultos es variable, y depende del sexo. Los machos pueden vivir con alimento 160 días y las hembras 172 días aproximadamente (Morán-

Rodríguez, 2013). Sin embargo, en condiciones de laboratorio el tiempo medio de desarrollo de huevo a adulto es de 269 días, con un mínimo de 174 días y un máximo de 598 (Reyes y Angulo, 2009). Los requerimientos de sangre en los triatominos pueden variar de acuerdo con su estadio de desarrollo, siendo los estadios adultos los que consumen la mayor cantidad de ingesta sanguínea. En el estadio adulto, se estima que los machos consumen en promedio 220 mg de sangre, mientras que las hembras consumen en promedio 282.6 mg de sangre. Estas diferencias en el consumo de sangre entre sexos, es debido a que las hembras requieren grandes cantidades de nutrientes para la producción de huevos (Morán-Rodríguez, 2013).

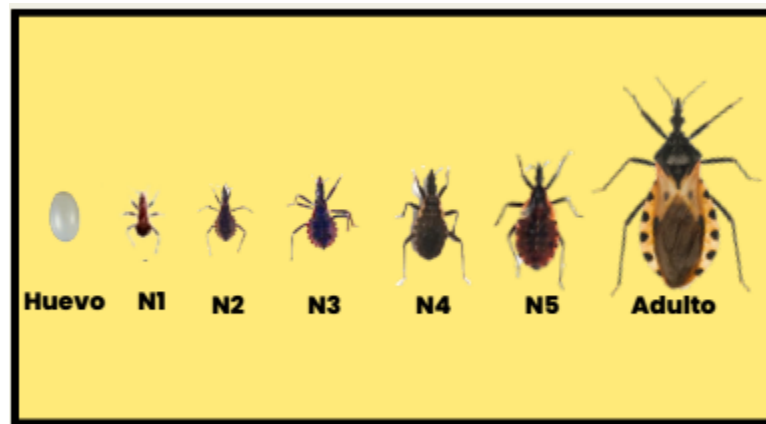


Figura 3. Ciclo de vida de *Triatoma dimidiata* (Elaborado por: Franco-Sosa & Hernández-Bolio, 2023)

Hábitos alimenticios de *T. dimidiata*

Los hábitos alimenticios de *Triatoma dimidiata* pueden estar influenciados por varios factores, como por ejemplo, la disponibilidad de hospederos, temperatura, humedad y precipitación. Es considerada una especie oportunista (Pellecer, 2011), ya que se han identificado una gran diversidad de especies de vertebrados como fuentes de alimento, incluyendo anfibios, reptiles, aves y mamíferos. (Farfán-García & Angulo-Silva, 2011; Stevens *et al.*, 2014; Dumonteil *et al.*, 2018; Moo-Millan *et al.*, 2019; Murillo-Solano *et al.*, 2021; Polonio *et al.*, 2021).

En un estudio realizado en Yucatán, se identificaron hasta 12 hospederos por espécimen de *T. dimidiata*; determinando que el humano, perro y el ganado vacuno fueron las tres fuentes alimenticias más importantes. Además, se identificaron animales domésticos (gato, cerdo, gallina y pavos), animales sinantrópicos (ratón, paloma, murciélago) y selváticos (grisón, pecarí, ardilla, rana, puerco espín, kinkaju y venado) (Dumonteil *et al.*, 2018; Moo-Millan *et al.*, 2019).

Distribución geográfica y hábitat de *T. dimidiata*.

T. dimidiata se encuentra distribuido en los países de México, Guatemala, Belice, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Colombia, Venezuela, Guayana Francesa, Ecuador y Perú (Schofield, 2002; Bargues *et al.*, 2008). Posee diversas características ecológicas específicas de acuerdo con la región donde habita (Dorn *et al.*, 2007). Por estas diferencias, diversos estudios han determinado que *T. dimidiata* es un complejo de especies ampliamente distribuido en Latino América.

Esta especie, se encuentra presente en ambientes selváticos (Zeledón 1981, Zeledón *et al.* 2001), y es capaz de colonizar hábitats domésticos y peridomésticos (Monroy *et al.*, 2003). En ambientes selváticos puede encontrarse en cuevas, agujeros, raíces de árboles y madrigueras de diferentes mamíferos como roedores, armadillos y zarigüeyas (Carcavallo *et al.*, 1998; Reyes-novelo & Ruiz-piña, 2013). Se ha descrito que en los ambientes domésticos y peridomésticos se le encuentra en rocas, agujeros o grietas en las paredes de las casas, en los muebles, en sitios de almacenamiento de madera, techos de palma, detrás de cortinas o cuadros y en madrigueras y sitios donde se crían o refugian animales domésticos o sinantrópicos (Carcavallo *et al.*, 1999).

Particularmente, en Yucatán esta especie presenta un comportamiento intrusivo, es decir, es

principalmente selvática, pero es capaz de entrar al interior de las viviendas de forma estacional durante la estación de secas sin establecer colonias sustentables dentro de los hogares. (Dumonteil *et al.*, 2002; Gourbière *et al.*, 2008; Waleckx *et al.*, 2016).

Haplogrupos de *T. dimidiata* en Yucatán.

Se sugiere que *Triatoma dimidiata* es un complejo de especies/subespecies. Diversos estudios morfológicos y genéticos indican que el complejo *T. dimidiata* está compuesto por al menos dos grupos.

A partir de los análisis de la secuencia de nucleótidos del segundo espaciador del transcrito interno del ADN ribosómico (ITS-2), se observaron diferencias sustanciales entre una población de Yucatán (México) y las de otras localidades de México y Centroamérica. Se propusieron grupos genéticos basados en los criterios subespecíficos adoptados por Usinger (1944): grupo 1A (especímenes de Chiapas, Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica y Ecuador), que corresponderían a *T. dimidiata dimidiata*; grupo 1B (especímenes de Panamá y Colombia), que corresponden a *T. dimidiata capitata*; grupo 2 (ejemplares del Centro y Noroeste de México, Guatemala y Belize), que corresponderían a *T. dimidiata maculipennis*; y finalmente, el grupo 3, nombrado *T. sp.aff. dimidiata*, que corresponde a individuos de la Península de Yucatán y norte de Belice (Bargues *et al.*, 2008). Los resultados obtenidos por Calderón *et al.*, (2011) basados en los patrones de hidrocarburos cuticulares, apoyan la existencia de estas tres subespecies, y sugieren la existencia de una cuarta subespecie y una especie completa dentro del taxón de *T. dimidiata*. En el estudio realizado por Richards *et al.*, 2013 se obtuvieron los mismos cuatro grupos/subgrupos obtenidos por Bargues *et al.*, 2008 utilizando secuencias ITS-2, mismos que fueron analizados mediante PCR-RFLP mediante digestión secuencial con la enzima de

restricción BsrGI seguida de ApoI, permitiendo la diferenciación entre el grupo 3 y el grupo 2 (grupos/subgrupos 1A, 1B y 2) (ver Tabla 2).

Con base en el análisis de genes mitocondriales (ND4 y Citocromo B), se ha determinado la existencia de cuatro grupos bien definidos y de origen monofilético. El grupo I incluye individuos de México (Chiapas), Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Ecuador y Colombia; el grupo II comprende la parte occidental de México, sin embargo, también se incluyen especímenes de Tabasco y el Petén (Guatemala); el grupo III incluye especímenes de Petén (Guatemala), la Península de Yucatán y Belize; mientras que el grupo IV únicamente corresponde a individuos colectados en la selva de Belize. (Monteiro *et al.*, 2013)

En un análisis más reciente utilizando genes nucleares (SNPs) se obtuvieron 3 grupos monofiléticos, en el cual, se propone reasignar al grupo 3 (designación original) y 4 como *T.spp.aff.dimidiata*; y al grupo 1 y 2 como *T.dimidiata* s.s. (Justi *et al.*, 2018)

Se ha reportado que en México hay tres haplogrupos pertenecientes al complejo de *T. dimidiata*, de acuerdo con la clasificación basada en genes mitocondriales ND4. El haplogrupo 1 originalmente se reportó en la Península de Yucatán y la zona arqueológica de Palenque, sin embargo, actualmente también se encuentra reportada para el este del Istmo de Tehuantepec y el norte de Guatemala. El haplogrupo 2 se distribuye desde el Istmo de Tehuantepec hasta los estados del Golfo: Veracruz y Tabasco, así como en los estados de Guanajuato, San Luis Potosí, Hidalgo, Puebla, Morelos, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, y recientemente en Yucatán y Campeche. El haplogrupo 3 únicamente se encuentra reportado en Chiapas, sin embargo, éste haplogrupo se extiende desde México hasta Perú (Pech-May *et al.*,

2019). No obstante, este trabajo sugiere cambios en la nomenclatura que modificaron las designaciones originales para los haplogrupos, muestras denominadas como Hg1 fueron clasificadas como Hg3, por lo tanto, en este trabajo, manejaremos la nomenclatura propuesta por Richards *et al.*, 2013, en la que se designan 2 haplogrupos para *T. dimidiata* (hg2 y hg3).

La simpatría entre los haplogrupos de *T. dimidiata* 2 y 3 está bien documentada en la Península de Yucatán (Dorn *et al.*, 2009). En el caso de Petén, Guatemala, no solo se encuentran los grupos III y II, como en Yucatán, sino que también insectos del Grupo I. (Monteiro *et al.*, 2013).

Tabla 2.

Clasificación de grupos y subgrupos de Triatoma dimidiata según distintos autores.

Bargues <i>et al.</i>, 2008	Richards, 2013	Pech-May <i>et al.</i>, 2019
1A	2	3
1B		
2		2
3	3	1

Si bien, como observamos anteriormente, *T. dimidiata* ha sido objeto de diversos estudios filogenéticos basados en marcadores nucleares (ITS-2, SNP's) y mitocondriales (ND4, Citocromo b), en la actualidad aún existe mucha controversia con respecto a su posición en la taxonomía sistemática. Sin embargo, estos estudios moleculares permiten reafirmar la idea de que *T. dimidiata* es un complejo de especies, y que en ciertas regiones geográficas la presencia de haplogrupos se encuentra bien diferenciada (Dorn *et al.*, 2009). Recientemente se ha propuesto una nueva clasificación sugiriendo cuatro linajes, que parece incluir al menos tres especies: grupo 1 y 2: *T. dimidiata* s. str; grupo 3: *Triatoma* sp. aff *dimidiata*; grupo 4: *Triatoma*

sp. aff *dimidiata* cuevas (Bargues *et al.* 2008, Dorn *et al.* 2016, Justi *et al.* 2018). Estos últimos descritos recientemente como nuevas especies: grupo 4- *Triatoma* sp. aff *dimidiata* cuevas = *T. mopan* (Dorn *et al.*, 2018), y grupo 3- *Triatoma* sp. aff *dimidiata* = *T. huehuetenanguensis* (Lima-Cordón *et al.*, 2019).

Como se mencionó anteriormente, la simpatría de los haplogrupos e híbridos de estos está presente en Yucatán; sin embargo, conocemos poco acerca de su biología reproductiva, su comportamiento, y bajo un escenario eco-epidemiológico su influencia en la enfermedad de Chagas.

Comportamiento sexual en triatominos

Al alcanzar la fase adulta, la búsqueda de pareja constituye un aspecto relevante en el comportamiento de los insectos. La efectividad de tal búsqueda determina, en parte, el éxito reproductivo del individuo. El comportamiento sexual en triatominos es un comportamiento estereotipado el cual da comienzo por iniciativa del macho, dado que éste manifiesta las primeras señales comportamentales de detección del otro sexo. Durante este proceso, el macho primero adopta una posición de vigilante apuntando sus antenas en dirección a la hembra, siguiendo sus movimientos. Posteriormente, el macho se aproxima hacia la hembra e intenta montarla, ya sea lentamente trepando o velozmente a través de un salto a corta distancia y la sujeta con sus patas delanteras. Una vez posicionado sobre la hembra, el macho se coloca en posición dorso-lateral yuxtaponiendo su genitalia con la de la hembra y la inmoviliza con sus tres pares de patas, (Fig. 4). En esta posición la hembra suele permanecer inmóvil durante toda la cópula. Al final, el macho separa su genitalia y se posiciona nuevamente sobre el dorso de la hembra previo a la separación, o bien, pueden separarse al instante en que finaliza la cópula. (Rojas *et al.*, 1990)



Figura 4. *Cópula en adultos de Triatoma dimidiata.*

En este contexto, en insectos, no resulta sorprendente el frecuente hallazgo de mecanismos de comunicación sexual mediados por señales químicas (*p.ej.*, feromonas) (Vogt, 2005).

A partir de los estudios pioneros realizado por Baldwin *et al.* (1971) en *R. prolixus*, diversos estudios han investigado el papel de las feromonas en el contexto sexual en las especies *T. infestans*, *T. brasiliensis* y *T. dimidiata* (de Brito Sánchez *et al.*, 1995; Manrique y Lazzari, 1995; May-Concha *et al.*, 2013). Por otra parte, hay creciente evidencia que los compuestos involucrados en la comunicación sexual de estas especies se producen y liberan en la glándula metasternal (GM) presentes en los insectos adultos (May-Concha *et al.*, 2018). La composición de las secreciones emitidas por la GM, pueden ser alcoholes y cetonas. Se ha descrito que algunas de ellas se emiten durante la cópula en especies como *T. infestans*, *R. prolixus*, *T. dimidiata* (Manrique *et al.*, 2006; Pontes *et al.*, 2008; Vitta, 2009; May-Concha *et al.*, 2013, 2016 y 2018) esto sugiere un enorme potencial de apareo entre haplogrupos.

Eficiencia reproductiva de *T. dimidiata*.

Algunos parámetros biológicos relevantes de la eficiencia reproductiva de los triatominos son la fecundidad y la fertilidad. Estos parámetros pueden variar inter e intraespecíficamente de

acuerdo con las características ambientales y el hábitat donde estos insectos se desarrollan (Noguera-Torres *et al.*, 2021). La edad, estado nutricional, así como, el número de cópulas puede influir en la fecundidad (número de huevos) y fertilidad (número de huevos eclosionados) del insecto. La fecundidad está relacionada con la frecuencia de alimentación, ya que para que la hembra oviposite regularmente, necesita alimentarse frecuentemente (Nattero *et al.*, 2011). Es importante mencionar que hembras vírgenes pueden ovipositar, pero los huevos son infértiles. Una vez que la hembra tiene alimento y cópula puede producir huevos fértiles (Díaz-Cruz, 2017). Se ha estimado que el porcentaje de eclosión de huevos de *Triatoma dimidiata* oscila entre un 80-100% (Zeledón *et al.*, 1970; Reyes y Angulo, 2009). Este parámetro es de gran importancia epidemiológica, ya que, bajo un escenario hipotético de infección, a mayor número de huevos, mayor abundancia de triatomíneos, por lo tanto, el riesgo de infección de vectores y de la transmisión del parásito podría ser mayor. Además, en triatomíneos el éxito reproductivo está íntimamente asociado con el potencial de colonizar o recolonizar áreas endémicas (Nattero *et al.*, 2011)

Se ha reportado que en poblaciones de *Triatoma dimidiata* s.s mexicanas, el ciclo de vida es de seis meses (Noguera-Torres *et al.*, 2021). Esto resulta similar a lo reportado por Martínez-Ibarra *et al.*, 2001 donde el tiempo de desarrollo fue de 161.4 ± 7.4 días. Por el contrario, con especímenes de Colombia, bajo condiciones de laboratorio, se obtuvo un ciclo de vida más largo (269 días); esta variación, en el tiempo, podría estar relacionada fuertemente con la fuente alimenticia (Reyes & Angulo, 2009).

Ecológicamente *T. dimidiata* posee ciclos de vida cortos que permite aumentar sus poblaciones en menor tiempo. Al medir el tiempo que transcurre entre la presentación de la fuente alimenticia y el inicio de la alimentación, las ninfas de *T. dimidiata* s.s., presentaron un promedio

entre 0.5 y 1.7 min; mientras que los adultos, alrededor de tres minutos (Noguera-Torres *et al.*, 2021), lo que sugiere que *T. dimidiata* presenta un comportamiento agresivo, aunque esto podría deberse al estatus de alimentación. También se ha reportado, que *T. dimidiata* es una especie que posee uno de los tiempos más largos de alimentación (~20 minutos), lo que aumenta el riesgo de defecación sobre el hospedador, y a su vez, incrementa el riesgo de infección por *T. cruzi* y la depredación del vector (Zeledón *et al.*, 1977).

Estudios de hibridación.

El fenómeno de hibridación suele ser común entre especies de triatominos (Meraz *et al.*, 2019). Se han realizado diversos estudios que demuestran que poblaciones híbridas aumentan el riesgo de transmisión del protozooario *T. cruzi*. Se ha reportado que híbridos de laboratorio provenientes de las especies *Triatoma juazeirensis* y *Triatoma sherlocki* al presentar caracteres morfológicos intermedios comparado con sus especies parentales presentan un mejor estado físico que podría acelerar el proceso de reinfestación de las viviendas (Almeida *et al.*, 2012). Por otro lado, Martínez-Ibarra *et al.*, 2017 realizó cruza biológicas entre tres subespecies de *Meccus phyllosomus*: *Meccus mazzottii* (Usinger), *M. phyllosomus* (Burmeister), y *M. pallidipennis*. En este estudio, se analizaron seis parámetros biológicos y se demostró que los híbridos presentan mejores parámetros en el tiempo de eclosión, número de alimentaciones para la muda, mortalidad acumulada, porcentaje de hembras y promedio de huevos ovipositados con respecto a sus parentales.

En 2017, Díaz y colaboradores, analizaron algunos parámetros biológicos en híbridos resultantes de la cruce de *M. phyllosomus* y *Triatoma recurvata*, como resultado obtuvieron que los híbridos presentan un menor tiempo en el ciclo de vida, mayor número de alimentaciones

para realizar la muda, mayor porcentaje de hembras, mayor porcentaje de eclosión y menor índice de mortalidad, lo que podría repercutir en un riesgo mayor en la transmisión de *T. cruzi*. En un estudio similar realizado por Martínez-Ibarra *et al.*, 2020 con las especies *Triatoma rubida* (*T. r. sonoriensis* y *T. r. uhleri*), ellos demostraron que los híbridos, en comparación a los parentales, presentan un mayor número de alimentación para realizar la muda, mayor tiempo de alimentación, menor tiempo de defecación, así como menor tiempo en el ciclo de vida y la mortalidad.

En *Triatoma dimidiata* se han evaluado cruzas entre grupos ITS-2: 1A, 2 y 3. Como resultado determinaron que entre los grupos 1A y 2 no existen barreras reproductivas precigóticas o postcigóticas; mientras que para las cruzas entre individuos del grupo 3 con los grupos 1A y 2 observaron barreras reproductivas precigóticas, concluyendo que es probable que el grupo 3 sea considerado una especie biológica separada debido a su aislamiento reproductivo. (García *et al.*, 2013)

Si bien, cómo se indicó anteriormente, existe mucho conocimiento sobre el comportamiento sexual y la producción de híbridos experimentales de diferentes especies de triatomíneos. Sin embargo, para el complejo de *Triatoma dimidiata*, existe poca información acerca de su biología reproductiva (García *et al.*, 2013), específicamente sobre las interacciones entre haplogrupos, su descendencia y el impacto que éstos podrían tener en la epidemiología de la enfermedad de Chagas. Por lo tanto, analizar algunos parámetros biológicos de importancia en la cruce de haplogrupos presentes en Yucatán (Herrera-Aguilar *et al.*, 2009), permitirá entender mejor la eficiencia reproductiva que presentan los haplogrupos de *Triatoma dimidiata* en el estado de Yucatán.

DESARROLLO DEL PROYECTO

Insectos Triatominos

Se utilizaron ninfas del quinto estadio (N5) de *Triatoma dimidiata*, las cuales fueron proporcionados por el Laboratorio de Parasitología del Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi”, provenientes de una colonia de laboratorio de la 15ª generación. Los individuos se mantuvieron bajo condiciones controladas de temperatura (27 ± 1 °C), humedad relativa ($70 \pm 10\%$) y un fotoperiodo de 12:12 h. Los insectos fueron alimentados con sangre de paloma (*Columba livia*) cada siete días hasta alcanzar el estadio adulto. Cuando las ninfas de quinto estadio emergieron al estadio adulto, se separaron los insectos por sexo y haplogrupo y se colocaron en botes individuales de plástico cerrados con mallas de poliéster, y con dos piezas de papel estraza en su interior: una pieza circular en el fondo y otra en forma de acordeón para permitir que los insectos escalen y tengan un mayor espacio de reposo. Para todos los ensayos, se usaron hembras y machos vírgenes de 3 a 21 días de edad. Estos insectos fueron alimentados a repleción siete días antes de la cópula. Antes y después de la alimentación las hembras fueron pesadas en una balanza analítica. También fueron pesadas antes de realizar los ensayos de cópula.

Estado nutricional de los insectos

El estado nutricional de las ninfas del quinto estadio, así como de los insectos adultos, se controló de acuerdo con la cantidad y frecuencia de la alimentación tanto para individuos del haplogrupo 1 (haplogrupo 3 de Bargues *et al.*, 2008), como del haplogrupo 3 (haplogrupo 1 de Bargues *et al.*, 2008 y haplogrupo 2 de Richards *et al.* 2013).

Bioensayos

Los ensayos de copula se realizaron en una arena experimental que estaba constituida por una caja Petri de 20 cm de diámetro. Dentro de la arena experimental se colocó como medio de sustrato una pieza circular de papel filtro de la marca Whatman (15 mm). En todos los ensayos, los insectos macho y hembra eran colocados cada uno en extremos opuestos y aislados con un tubo cilíndrico de 3.6 cm x 6.7 cm durante 10 minutos para su aclimatación. Después de la aclimatación ambos sexos era liberados para la observación del comportamiento sexual durante 30 minutos. A través de la observación directa se registró el comportamiento de cópula de los insectos.

Grupos experimentales

Para analizar el comportamiento de cópula y poder determinar el éxito reproductivo entre adultos pertenecientes al haplogrupo 1 y haplogrupo 3 se realizaron 10 repeticiones por cada uno de los siguientes grupos experimentales:

1. Macho hg uno (Mhg1) con hembra hg uno (Hhg1).
2. Macho hg uno (Mhg1) con hembra hg tres (Hhg3).
3. Macho hg tres (Mhg3) con hembra hg uno (Hhg1).

Análisis de datos

Los parámetros evaluados fueron: a) tiempo de cópula b) tiempo de pre-oviposición; c) número de huevos d) fertilidad (número de huevos eclosionados/ número de huevos ovipositados) e) cantidad de sangre ingerida. A los datos se les aplicó la prueba de normalidad (Shapiro-Wilk), homogeneidad de varianza (prueba de Bartlett) e independencia (Durbin-Watson). Al no cumplir los supuestos de la estadística paramétrica, los datos se analizaron a través de pruebas no paramétricas.

La correlación entre la cantidad de sangre ingerida, con el parámetro: número de huevos, se analizó mediante una correlación de Spearman. Las medianas del número de huevos puestos entre las hembras de hg1 y hg3 fueron comparadas por medio de la prueba Kruskal-Wallis con una prueba *post-hoc* de Dunn con corrección de Bonferroni para descartar el error tipo I. Todos los datos fueron considerados estadísticamente diferentes con un valor de $p < 0.05$. Para el análisis, se utilizaron las bibliotecas *nortest*, *car*, *lmtest*, *ggplot2*, *FSA*. El análisis estadístico se realizó mediante el programa R (v.4.1.2).

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Se analizó la normalidad de los datos ($p<0.01$); la homogeneidad de las varianzas ($p<0.01$) y la independencia de los datos ($p=0.6858$). Los datos al no contar con la normalidad y homogeneidad de varianza se analizaron mediante pruebas no paramétricas.

Tiempo promedio de cópula

En total, de las 30 parejas evaluadas únicamente 10 presentaron cópulas exitosas (33.3%). En el tratamiento hembra hg1 con machos hg3 ($n=10$) únicamente dos parejas tuvieron éxito en la cópula (20%) con un tiempo promedio de cópula de 568 ± 9.89 s. En el tratamiento hembras hg3 con machos hg1 tres parejas tuvieron éxito en la cópula (30%), y presentaron un tiempo promedio de cópula de 637.33 ± 267.53 s. Finalmente, el grupo control hembras hg1 con machos hg1 tuvieron un éxito de cópula del 50%, y presentaron un tiempo promedio de cópula de 901.6 ± 418.64 s.

Al comparar el tiempo promedio de cópula mediante el análisis Kruskal-Wallis se demostró que no hay diferencias significativas ($P= 0.2109$) entre los tratamientos evaluados (Figura 5). Aunque estadísticamente no hubo diferencias significativas, se observó una tendencia en el grupo control, el cual presentó los promedios más altos en el tiempo de cópula. Los tiempos observados en este estudio son muy similares a lo observado bajo condiciones de laboratorio con otras especies del género *Triatoma*. En un estudio realizado con la especie *Triatoma gerstaeckerii* y *T. phyllosoma* se determinó un tiempo promedio de cópula de 910 ± 300 s y 996 ± 456 s respectivamente para cada especie (García-Pérez *et al.*, 1997; Rojas, 1990). Sin embargo, en las especies *Triatoma mazzotti*, *Triatoma brasiliensis* y *Triatoma infestans* se

reportó una duración menor a la observada en este estudio (655 ± 126 s; 360 ± 120 s y 384 ± 117 s respectivamente) (Rojas, 1990; Vitta y Lorenzo, 2009; Manrique y Lazari, 1994). Estas diferencias en los tiempos promedios de cópula pueden depender de la especie, pero también podemos hipotetizar que pueden estar ligadas a los periodos de alimentación (Davey, 2007), y el tiempo de maduración en hembras (Bleu *et al.*, 2012), ya que en estos estudios estos parámetros no fueron controlados en comparación con nuestro estudio. Por otro lado, la duración de tiempo durante la cópula pueda estar asociada a la cantidad de compuestos volátiles emitidos durante la cópula por la glándula metasternal. En un estudio realizado por May-Concha y colaboradores (2015), determinaron que la composición química de la glándula Metasternal varía entre los haplogrupos, siendo el haplogrupo 3 el que emite el menor número compuestos químicos volátiles (15 compuestos). Por lo tanto, podríamos hipotetizar que estas diferencias de tiempo en los resultados obtenidos también podrían estar asociados a la cantidad de compuestos volátiles emitidos por las parejas evaluadas.

Por otro lado, bajo la perspectiva de la nueva clasificación taxonómica donde se propone al ITS2-Grupo3 como una nueva especie denominada *T. huehuetenanguensis* (Lima-Cordón *et al.*, 2019), esta diferencia en los tiempos de cópula podría atribuirse a que son dos especies diferentes. Sin embargo, se requieren más estudios para poder concluir esta hipótesis.

Es importante resaltar, que en trabajos previos donde se realizaron cruzas para obtener híbridos experimentales no se determinó el tiempo de cópula de los parentales (Almeida *et al.*, 2012; García *et al.*, 2013; Díaz *et al.*, 2017; Martínez-Ibarra *et al.*, 2008; 2015; 2020; 2021). Por lo que no se tiene un tiempo de referencia para las cruzas interespecíficas. Además, para la especie *T. dimidiata* no se encontraron trabajos que evalúen el tiempo de cópula. Por lo tanto, este trabajo es pionero en la especie y brinda información que podría ser de utilidad para

entender los patrones de conducta de estos haplogrupos. Sin embargo, algunos autores mencionan que la duración de la cópula varía en tiempo en función del número de machos presentes (Garcia-Perez *et al.*, 1997). En este estudio es importante mencionar que solo se usó un macho para cada hembra.

En nuestro estudio observamos que, aun cuando no todos los insectos copularon, en la mayoría de los casos los machos independientemente del haplogrupo siempre tendían a buscar a la hembra para la cópula. Sin embargo, las hembras presentaban un comportamiento más selectivo o de rechazo hacia los machos, como se ha observado con otras especies estudiadas (Manrique & Lazzari, 1994; Pires *et al.*, 2004; Vitta y Lorenzo, 2009). También se ha observado que la elección de los machos en la cópula no siempre es hacia hembras conespecíficas, lo que propicia la diversidad genética más que el mantenimiento de la especie (Antunes *et al.*, 2020). Por el contrario, la decisión de las hembras en aceptar/rechazar a un macho pueden estar ligadas a la calidad del macho (condición nutricional, fenotipo, emisión de señales químicas (feromonas), edad, etc.) (Pires *et al.*, 2004; Vitta & Lorenzo, 2009; May-Concha *et al.*, 2013; 2015; De Simone *et al.*, 2018). Estos trabajos podrían respaldar el hecho de por qué el grupo control presentó el mayor promedio en el tiempo de cópula.

Es importante resaltar que a pesar de que estadísticamente no hubieron diferencias significativas, observamos que el grupo control (hg1) presentaba una mayor tendencia a la cópula, así como un mayor tiempo de cópula, esto puede deberse a que al ser del mismo grupo genético no hay variación en el número de compuestos volátiles emitidos, así como en la cantidad de compuestos liberados; un comportamiento similar se observó en cruces de ITS2-Grupo 2 procedentes de hábitats diferentes (silvestre y doméstico) sugiriendo que no hay aislamiento reproductivo entre individuos del mismo grupo genético (García *et al.*, 2013).

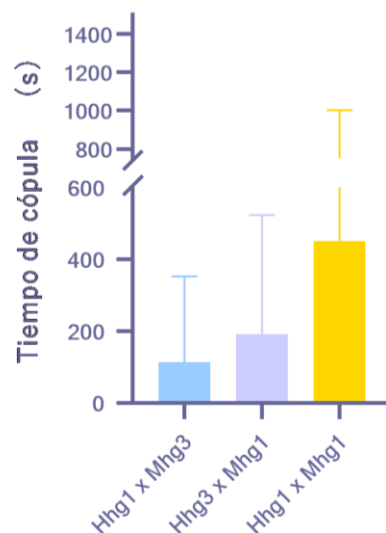


Figura 5. Comparación del tiempo promedio de cópula en *Triatoma dimidiata*. M: macho; H: hembra; hg1: haplogrupo 1; hg3: haplogrupo 3. No se encontraron diferencias significativas en el análisis Kruskal-Wallis ($p > 0.05$)

Fecundidad

De las parejas que copularon, se obtuvo un total de 146 huevos, de los cuáles 6 huevos pertenecían a la cruce Hhg1 x Mhg3 (4.1%), 45 huevos a la cruce Hhg3 x Mhg1 (30.82%) y finalmente 95 huevos pertenecían al grupo control Hhg1 x Mhg1 (65.06%). Para los tres grupos evaluados, la cantidad de huevos ovipositados no fue significativamente diferentes (Figura 6; $P = 0.5096$). Al igual que en el apartado anterior (tiempo promedio de cópula), estadísticamente no se obtuvieron diferencias significativas. Sin embargo, el grupo control (hg1) presentó el mayor número de huevos ovipositados con respecto a las cruces.

La cantidad de huevos obtenidos en este estudio fue menor respecto a otros estudios realizados. Por ejemplo, en un estudio realizado por García *et al.*, 2013, se efectuaron cruces entre los grupos de *T. dimidiata*, y obtuvieron que, entre hembras del grupo 1A y machos del grupo 2 el promedio de huevos ovipositados fue de 144 ± 48.08 , el promedio en hembras del

grupo 2 y machos del grupo 1A fue de 120.50 ± 44.08 y cuando se cruzaron hembras del grupo 3 con machos grupo 1A y 2 obtuvieron un promedio de 85.67 ± 30.26 huevos. Por otro lado, en un estudio realizado por Herrera-Aguilar *et al.*, 2009 obtuvieron resultados similares a los reportados en nuestro trabajo, demostrando que las hembras pertenecientes a los grupos 2 y 3 de *T. dimidiata*, así como sus híbridos, presentan un menor número de huevos. Además, Martínez-Ibarra *et al.*, 2015 también reporta resultados similares a los obtenidos en este trabajo, determinando que la fecundidad en hembras de cohortes híbridas y sus parentales no presentan diferencias estadísticamente significativas en subespecies de *Meccus phyllosomus* (*Meccus p. pallidipennis*, *Meccus p. longipennis*, y *Meccus p. picturatus*); de igual manera, esto también se observó en las subespecies *M. p. mazzottii*, *M. p. pallidipennis*, y *M. p. phyllosomus* (Martínez-Ibarra *et al.*, 2017), así con en subespecies de *T. rubida* (Martínez-Ibarra *et al.*, 2020). Sin embargo, otros estudios han reportado que en cohortes híbridas la fecundidad es mayor con respecto a la de sus parentales (Díaz *et al.*, 2017; Mera-Medina *et al.*, 2019; Martínez-Ibarra, 2021). Es importante resaltar que en nuestro estudio los adultos fueron alimentados siete días antes de realizar el ensayo de cópula. Resaltamos este punto ya que en algunos de los estudios previamente citados no estandarizaron la variable alimentación. Por lo tanto, estas variaciones en los resultados pueden estar asociadas a este parámetro, porque la alimentación es un factor de importancia para la producción de huevos, puesto que, diferentes estudios han demostrado que la producción de huevos se encuentra estrechamente ligada al estatus nutricional debido a la alta demanda de energía que requiere la producción de huevos (Payet *et al.*, 2009), por lo tanto, consideramos que es importante estandarizar esta variable.

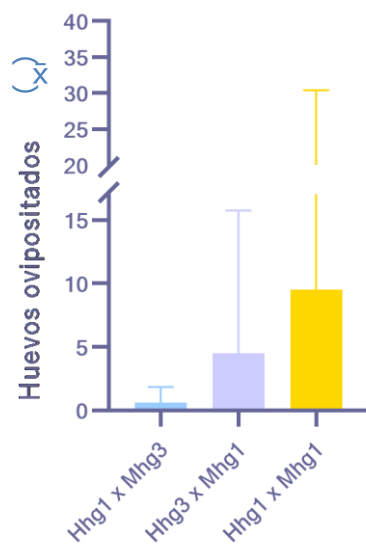


Figura 6. Comparación de la fecundidad en *Triatoma dimidiata*. M: macho; H: hembra; hg1: haplogrupo 1; hg3: haplogrupo 3. No se encontraron diferencias significativas en el análisis Kruskal-Wallis ($P > 0.05$)

Fertilidad

De las 30 parejas evaluadas (Hhg1 x Mhg3, Hhg3 x Mhg1 y Hhg1 x Mhg1, n=10 respectivamente), 10 parejas presentaron cópula exitosa y solamente 7 parejas produjeron descendencia fértil (73/146 huevos) (ver tabla 3).

Tabla 3.

Parejas que tuvieron éxito reproductivo.

Parejas	Huevos eclosionados
MHg 3 (30/11/21) con H Hg1(25/11/21)	2
MHg 3 (08/12/21) con H Hg1(10/12/21)	1
MHg 1(30/11/21) con H Hg 3 (03/12/21)	6
MHg 1(09/03/22) con H Hg 3 (03/03/22)	3
MHg 1 (14/02/22) con H Hg1(14/02/22)	8
MHg 1 (16/02/22) con H Hg1(28/02/22)	6
MHg 1 (18/02/22) con H Hg1(28/02/22)	47

Los resultados del análisis Kruskal-Wallis muestran que el número de huevos fértiles no es significativamente diferente en las tres cruzas evaluadas (Figura 7; $P=0.6473$). Sin embargo, observamos de nuevo que el grupo control (hg1) muestra una tendencia a reproducirse más, tener mayor número de huevos, y mayor eclosión de éstos. Estos resultados difieren de lo reportado por García *et al.*, 2013, quienes reportan que en cruzas entre individuos del grupo 2 y 3 ninguno de los huevos ovipositados fue fértil. Por lo tanto, concluyen que existen barreras de aislamiento reproductivo entre los grupos mencionados anteriormente. Sin embargo, en este estudio podemos reafirmar lo ya previamente reportado por Herrera *et al.*, 2009, esto es que, las cruzas entre individuos que se encuentran en simpatria en el estado de Yucatán son viables y que no existen barreras de aislamiento reproductivo en los grupos descritos para la especie. Sin embargo, aunque no se obtuvieron diferencias significativas, es importante resaltar que las cruzas entre haplogrupos tuvieron una menor fertilidad con respecto al grupo control (mismo haplogrupo), sugiriendo que, es más viable una crusa entre individuos del mismo grupo genético que una crusa entre individuos de grupos genéticos diferentes.

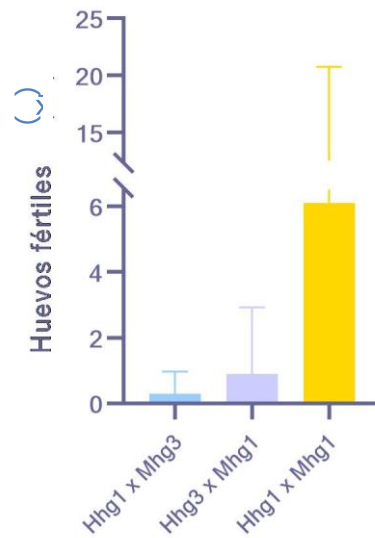


Figura 7. Comparación de la fertilidad en *Triatoma dimidiata*. H: hembra M: macho; hg1: haplogrupo 1; hg3: haplogrupo 3. No se encontraron diferencias significativas en el análisis Kruskal-Wallis ($P>0.05$)

En este estudio observamos que el tiempo promedio de preoviposición en el Hhg1 x Mhg3 fue de 1.7 ± 3.77 días; en la crusa Hhg3 x Mhg1 fue de 3.8 ± 6.42 días y finalmente para el grupo control Hhg1 x Mhg1 fue de 5 ± 10.83 días. No se encontró diferencias significativas del tiempo de preoviposición entre las cruza evaluadas (Figura 8; $P=0.6739$). Estos resultados nos permiten hipotetizar que estos haplogrupos en Yucatán pueden estar llevando el proceso de reproducción de una forma similar a los parentales. Sin embargo, es importante realizar otros estudios, que analicen los aspectos de la biología reproductiva de estas cruza.

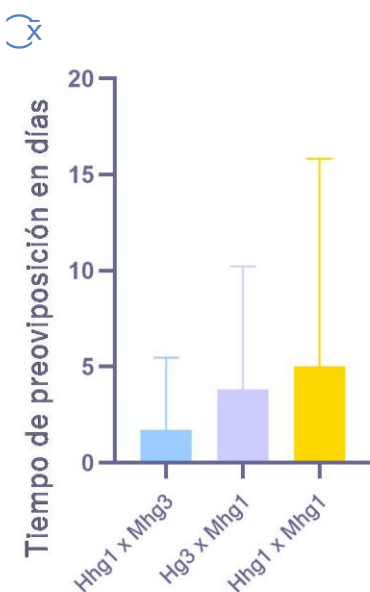


Figura 8. Comparación del tiempo promedio de oviposición en días de *Triatoma dimidiata*. H: hembra M: macho; hg1: haplogrupo 1; hg3:haplogrupo 3. No se encontraron diferencias significativas en el análisis Kruskal-Wallis ($P > 0.05$)

Ingesta de sangre

Finalmente, evaluamos la correlación entre la ingesta sanguínea antes de la cópula y la cantidad de huevos fértiles en las parejas que tuvieron éxito reproductivo (Figura 8). Estos análisis nos permitieron determinar que existe una correlación entre la cantidad de sangre ingerida y la cantidad de huevos fértiles ($S = 2.5204$, $P\text{-value} = 0.0008055$). En la mayoría de los artrópodos hematófagos, la fecundidad está relacionada con la cantidad de sangre ingerida (Dale y Maguera, 1978). Es un hecho que la alimentación juega un papel importante en la eficacia reproductiva de los triatominos (Rodríguez *et al.*, 2014; Nattero *et al.*, 2011; Daflon-Teixeira *et al.*, 2009; Payet *et al.*, 2009; Nattero *et al.*, 2002; Regis, 1979; Dale y Maguera, 1978). Además, la ingesta sanguínea se encuentra íntimamente relacionada con los parámetros reproductivos de fecundidad y fertilidad de las hembras. Fisiológicamente la presencia de alimento en el sistema

digestivo activa la hormona vitelogenina que dispara la producción de oocitos en las ovaríolas, y esto estimula la producción de huevos (Davoy, 1965). En relación con los resultados obtenidos, para la especie *T. dimidiata*, el número de huevos se encuentre relacionado con la ingesta sanguínea. Este resultado es similar a lo reportado con otras especies donde se demuestra que las hembras que consumen una mayor cantidad de sangre colocan un mayor número de huevos (Zeledón *et al.*, 1970, 1998).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Este estudio permitió reafirmar que los haplogrupos que viven en simpatría en el estado de Yucatán, pueden tener éxito reproductivo y que no hay barreras biológicas de aislamiento reproductivo entre los haplogrupos 1 y 3 del complejo de *Triatoma dimidiata*. Estos resultados, nos permiten corroborar que las cruzas son viables entre estos haplogrupos, porque generan descendencia. Sin embargo, es importante mencionar que el grupo control (mismo grupo genético) presentó una mayor respuesta en todos los parámetros evaluados, con respecto a cruzas de grupos genéticos diferentes, sugiriendo una mayor viabilidad en cruzas del mismo haplogrupo (mayor número de cópulas, mayor fecundidad, fertilidad, etc.). También debemos resaltar que en este estudio solo observamos la primera generación, por lo que es necesario realizar más estudios para determinar si esta primera generación es capaz de reproducirse y tener descendencia fértil. Ya que, en otros estudios, se ha reportado que los híbridos presentan una mayor susceptibilidad a la infección por *T. cruzi* (Herrera-Aguilar et al., 2009), un mejor «fitness» (Martinez-Ibarra et al., 2015), y se encuentran más atraídos a hospederos infectados (Ramirez-Sierra & Dumonteil, 2016), pero, de acuerdo con los resultados de este estudio, la eficiencia reproductiva en cruzas es relativamente menor en comparación con el grupo control, por lo que, se necesitan más estudios para poder evaluar el impacto que podrían tener estos insectos en la epidemiología de la enfermedad de Chagas en Yucatán.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, C.E., Oliveira, H.J., & Galvão, C. 2012. Dispersion capacity of *Triatoma sherlocki*, *Triatoma juazeirensis* and laboratory-bred hybrids. *Acta Trop.* 122: 71– 79.
- Antunes, C., Paschoaletto, L., Oliveira, J., da Rosa, J. Almeida, C., Macedo Lopes, C., Gonçalves, T., & Costa, J. (2020). Sexual Choice in Males of the *Triatoma brasiliensis* Complex: A Matter of Maintenance of the Species or Genetic Variability?. *The Open Parasitology Journal.* 8. 1-9.
- Arnal, A., Waleckx, E., Rico-Chávez, O., Herrera, C., Dumonteil, E. (2019). Estimating the current burden of Chagas disease in Mexico: A systematic review and meta-analysis of epidemiological surveys from 2006 to 2017. *PLoS Negl Trop Dis* 13(4): e0006859.
- Baldwin, W. F., Knight, A. G. y Lynn, K. R. (1971). A sex pheromone in the insect *Rhodnius prolixus* (Hemiptera Reduviidae) *Canadian Entomol.* 103, 18–22.
- Bargues, M. D., Klisiowicz, D. R., Gonzalez-Candelas, F., Ramsey, J. M., Monroy, C., Ponce, C., *et al.* (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.
- Bleu, J., Bessa-Gomes, C., & Laloi, D. (2012). Evolution of female choosiness and mating frequency: effects of mating cost, density and sex ratio. *Animal Behaviour*, 83(1), 131–136.
- Brener, Z. (1992). *Trypanosoma cruzi*: taxonomy, morphology and life cycle. Chagas Disease (American Trypanosomiasis): its impact on transfusion and clinical medicine. São Paulo: ISBT Brazil, 92, 13-29.
- Brenière, S. F., Waleckx, E., Barnabé, C. (2016). Over Six Thousand *Trypanosoma cruzi* Strains Classified into Discrete Typing Units (DTUs): Attempt at an Inventory. *PLoS Negl Trop Dis*; 10(8): e0004792.

- Calderón-Fernandez, G. M, Girotti J. R., Juarez M. P. (2011). Cuticular hydrocarbons of *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae): intraspecific variation and chemotaxonomy. *J Med Entomol* 48: 262–271.
- Carabarin-Lima, A., González-Vázquez, M. C., Rodríguez-Morales, O., Baylón-Pacheco, L., Rosales-Encina, J. L., Reyes-López, P. A., & Arce-Fonseca, M. (2013). Chagas disease (American trypanosomiasis) in Mexico: An update. *Acta Tropica*, 127(2), 126-135.
- Carcavallo, R.U., I. Galíndez-Girón, J. Jurberg & H. Lent. 1999. Atlas of Chagas' disease vectors in the Americas Vol. III. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro.
- Carcavallo, R. U., Rodríguez, R., Salvatella, S.I.C., Casas, I. A., Sherlock, C., Galvão, D.S., Rocha, I., Galíndez-Girón, M. A., Otero-Arocha, A., Martínez, J. A., Rosa, D., Canale, T. H., & Barata, J. M. (1998). Habitats and related fauna. (pp. 561-600). In: Carcavallo,R.U., I. Galíndez-Girón, J. Jurberg and H. Lent (Eds.). Atlas of Chagas disease vectors in the Americas Vol II. Editora Fiocruz Rio de Janeiro..
- Córdova-Montesinos, L. (2007). Identificación y descripción molecular de cepas de *Trypanosoma cruzi* y su análisis filogenético mediante secuenciación del gen para citocromo B. Tesis de licenciatura. Universidad de Chile.
- Daflon-Teixeira N.F., Carvalho-Costa, F.A., Chiang, R.G., Lima, M.M. (2009). Influence of blood meal and mating in reproduction patterns of *Triatoma brasiliensis* females (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. *Mem Inst Oswaldo Cruz*;104 (7):1031-4.
- Dale, W.E. & Maguera, D. (1978). Hábitos alimentarios y fecundidad en hembras de *Triatoma infestans* Klug (Hemiptera: Triatominae) Bajo condiciones ambientales constantes.*Rev. Per. Ent.* 21(1): 71-74.

- Davey, K. The interaction of feeding and mating in the hormonal control of egg production in *Rhodnius prolixus*. J Insect Physiol. 2007; 53: 208–215.
- Davoy, K.G. (1965). Reproduction in the insects. Oliver and Boyd, Edinburg and London.
- De Brito Sánchez, M. G., Manrique, G. y Lazzari C. R. (1995). Existence of a sex pheromone in *T. infestans* (Hemiptera Reduviidae): II Electrophysiological correlates. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 90, 649–651.
- De Simone, G.A., Manrique, G., Pompilio, L. (2018). Females sequential mating decisions depend on both the quality of the courting male and the quality of the potential mates in a blood-sucking bug; Springer; Behavioral Ecology And Sociobiology; 72 :145.
- Díaz-Cruz, S.J. (2017). Caracterización de hábitos alimentarios en *Triatoma dimidiata* mediante la técnica de PCR forense en el municipio de Texistepeque, departamento de Santa Ana. San Salvador. Tesis de licenciatura.
- Díaz, Lizbeth, Covarrubias, Karen, Licón, Ángel, Astorga, Mixtli, Moreno, Yaneth, & Martínez, José Alejandro. (2017). Parámetros biológicos de *Meccus phyllosomus phyllosomus* (Burmeister) 1835, de *Triatoma recurva* (Stål) 1868 (Hemiptera, Reduviidae) y de sus híbridos de laboratorio. *Biomédica*, 37(Suppl. 2), 77-82.
- Dorn, P.L., Justi, S.A., Dale, C., Stevens, L., Galvão, C., Lima-Cordón, R., Monroy, C. (2018) Description of *Triatoma mopan* sp. n. from a cave in Belize (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). ZooKeys 775: 69–95.
- Dorn, P.L., de la Rúa N.M., Axen, H., Smith, N., Richards B.R., Charabati, J., Suarez, J., Woods, A., Pessoa, R., Monroy, C., Kilpatrick, C.W., & Stevens, L. (2016). Hypothesis testing clarifies the systematics of the main Central American Chagas disease vector, *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811), across its geographic range. Infect Genet Evol; 44:431-443.

- Dorn, P.L., Calderon, C., Melgar, S., Moguel, B., Solorzano, E., et al. (2009). Two Distinct *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) Taxa Are Found in Sympatry in Guatemala and Mexico. PLOS Neglected Tropical Diseases 3(3): e393.
- Dorn, P.L., Monroy, C. & Curtis, A. (2007). *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811): a review of its diversity across its geographic range and the relationship among populations. Infect Genet Evol. Mar;7(2):343-52.
- Dumonteil, E., Ramirez-Sierra, M. J., Pérez-Carrillo, S., Teh-Poot, C., Herrera, C., Gourbière, S., & Waleckx, E. (2018). Detailed ecological associations of triatomines revealed by metabarcoding and next-generation sequencing: Implications for triatomine behavior and *Trypanosoma cruzi* transmission cycles. *Scientific Reports*, 8(1), 4140-4140.
- Dumonteil, E., S. Gourbiere, M., Barrera-Pérez, E. Rodríguez-Félix, H., Ruíz-Piña, O., Baños-López, M., Ramírez-Sierra, F. & Rabinovich, J.E. (2002). Geographic distribution of *Triatoma dimidiata* and transmission dynamics of *Trypanosoma cruzi* in the Yucatan Peninsula of Mexico. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 67: 176-183.
- Farfán-García, A. E, Angulo-Silva, V. M. (2011). Conducta alimentaria de poblaciones de *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) en una zona endémica y sus implicaciones epidemiológicas. Rev Salud Publica (Bogota). Feb;13(1):163-72. Spanish.
- García, M., Menes, M., Dorn, P.L., Monroy, C., Richards, B., Panzera, F., Bustamante, D.M. (2013). Reproductive isolation revealed in preliminary crossbreeding experiments using field collected *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) from three ITS-2 defined groups. Acta Trop; 128(3):714-8.

- García Pérez, J., Blanco Piñón, A., Navarro Fernández, E. (1997). Comportamiento sexual de *Triatoma gerstaeckeri* Stal (Hemiptera: Reduviidae) Acta Zoológica Mexicana (nueva serie), núm. 70, pp. 55-63 Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, México.
- Guhl, F., Ramírez, J. D. (2011). *Trypanosoma cruzi* I diversity: towards the need of genetic subdivision? Acta. Trop. 119(1): 1-4.
- Guhl, F. (2017). Geographical distribution of Chagas disease. Am. Trypanosom. Chagas Dis; pp. 89-112.
- Gourbière, S., Dumonteil, E., Rabinovich, J.E., Minkoue, R., Menu, F. (2008). Demographic and dispersal constraints for domestic infestation by non-domicilated Chagas disease vectors in the Yucatán Peninsula, Mexico. Am J Trop Med Hyg. 78:133–9.
- Gourbière, S., Dorn, P., Tripet, F., Dumonteil, E. (2012). Genetics and evolution of triatomines: from phylogeny to vector control. Heredity. 108(3): 190-202.
- Herrera-Aguilar, M., Be-Barragán, L. A., Ramirez-Sierra, M. J., Tripet, F., Dorn, P., Dumonteil, E. (2009). Identification of a large hybrid zone between sympatric sibling species of *Triatoma dimidiata* in the Yucatan peninsula, Mexico, and its epidemiological importance. Infect Genet Evol. Dec;9(6):1345-51.
- Higuera, S. L., Guhl, F. & Ramírez, J. D. (2013). Identification of *Trypanosoma cruzi* Discrete Typing Units (DTUs) through the implementation of a High-Resolution Melting (HRM) genotyping assay. *Parasites Vectors* 6, 112.
- Hoare, C. A. (1972). The trypanosomes of mammals. A Zoological Monograph. Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications. p. xvii-749.
- Izeta-Alberdi, A., Ibarra-Cerdeña, C. N., Moo-Llanes, D. A., & Ramsey, J. M. (2016). Geographical, landscape and host associations of *Trypanosoma cruzi* DTUs and lineages. *Parasites and*

Vectors, 9(1), 1-20.

- Jurberg, J., Galvão, C., Noireau, F., Carcavallo, R. U., Rocha, D. & Lent, H. (2005). Uma iconografia dos Triatomíneos (Hemiptera:Reduviidae). Rio de Janeiro: Editora Gama Filho; 51.
- Justi, S. A., & Galvão, C. (2017). The Evolutionary Origin of Diversity in Chagas Disease Vectors. *Trends in Parasitology*, 33(1), 42-52.
- Justi, S. A., Cahan, S., Stevens, L., Monroy, C., Lima-Cordón, R., & Dorn, P. L. (2018). Vectors of diversity: Genome wide diversity across the geographic range of the Chagas disease vector *Triatoma dimidiata* sensu lato (Hemiptera: Reduviidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 120, 144–150.
- Justi S.A., Galvão, C. (2017). The Evolutionary Origin of Diversity in Chagas Disease Vectors. *Trends in Parasitology* 33: 42–52.
- Lazo, J., Mayor, P. & Lescano, A. (2019). Amazonian Reservoir Hosts of *Trypanosoma cruzi*.
- Lent, H. & Jurberg, J. (1985). Sobre a variação intra-específica em *Triatoma dimidiata* (Latreille) e *T. infestans* (Klug) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem.Inst.Oswaldo Cruz*, 80 (3): 285-299.
- Lima-Cordón, R.A., Monroy, M.C., Stevens, L., Rodas, A., Rodas, G.A., Dorn, P.L., Justi, S.A. (2019) Description of *Triatoma huehuetenanguensis* sp. n., a potential Chagas disease vector (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *ZooKeys* 820: 51–70.
- Manrique, G., Vitta, C. R., Ferreira, R. A., Zani, C. L., Unelius, C. R., Lazzari, C. R., *et al.* (2006). Chemical communication in Chagas disease vectors. Source, identity and potential function of volatiles released by the metasternal and Brindley's glands of *Triatoma infestans* adults. *J Chem Ecol* 32:2035–2052.

- Manrique, G. & Lazzari, C. R. (1995). Existence of a sex pheromone in *Triatoma infestans* (Hemiptera Reduviidae) I. Behavioural Evidence. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 90, 645–648.
- Manrique G. & Lazzari CR (1994). Sexual behaviour and stridulation during mating in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). Mem Inst Oswaldo Cruz 89: 629-633.
- Martinez-Hernández, F., Oria-Martinez, B., Rendon-Franco, E., Villalobos, G., & Munoz- Garcia, C. I. (2022). *Trypanosoma cruzi*, beyond the dogma of non-infection in birds. *Infect Genet Evol*, 99.
- Martínez-Ibarra, J.A., Nogueta-Torres, B., Meraz-Medina, T., Goicochea Del Rosal, G. (2023). Crossing experiments detect partial reproductive isolation among populations of *Triatoma longipennis* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). J Med Entomol.
- Martínez-Ibarra, J. A., Nogueta-Torres, B., Montañez-Valdez, O. D., Michel-Parra, J. G., & Valenzuela-Campos, R. (2020). Biological Parameters of Two *Triatoma rubida* Subspecies (Hemiptera: Reduviidae) and Their Laboratory Hybrids. J Med Entomol.
- Martínez-Ibarra, J. A., Nogueta-Torres, B., Salazar-Montaña, L. F., García-Lino, J. C., Arroyo- Reyes, D., Hernández-Navarro, J. Á. (2017). Comparison of biological fitness in crosses between subspecies of *Meccus phyllosomus* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in southern Mexico. *Insect Sci*;24(1):114-121.
- Martínez-Ibarra, J.A., Nogueta-Torres, B., Licón-Trillo, Á., Alejandre-Aguilar, R., Salazar-Schettino, P.M., Vences-Blanco, M.O. (2015). Biological aspects of crosses between *Triatoma recurva* (Stål), 1868 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) and other members of the *Phyllosoma* complex. *J Vector Ecol*; 40(1):117-22.
- Martínez-Ibarra, J.A., Ventura-Rodríguez, L.V., Meillon-Isais, K., Barajas-Martínez, H., Alejandre-Aguilar, R., Lupercio-Coronel, P., Rocha-Chávez, G., Nogueta-Torres, B. (2008). Biological and genetic aspects of experimental hybrids from species of the *Phyllosoma* complex

- (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Mem Inst Oswaldo Cruz;103(3):236-43.
- Martínez-Ibarra, J.A., Miguel-Alvarez, A., Arredondo-Jiménez, J.I., Rodríguez-López, M.H. (2001). Update on the biology of *Triatoma dimidiata* Latreille (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. J Am Mosq Control Assoc;17(3):209-10.
- May-Concha, I. J., Cruz-López, L., Rojas, J. C. y Ramsey, J. (2018). “Sweeter than a rose”, at least to *Triatoma phyllosoma* complex males (Triatominae: Reduviidae). Parasit. Vectors 11: 95.
- May-Concha, I. J. (2016). Morfología y fisiología del sistema olfativo de diferentes especies de triatominos, vectores de la enfermedad de Chagas. PhD. Thesis. Facultad de ciencias exactas físicas y naturales Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- May-Concha, I., Rojas, J.C., Cruz-López, L., Ibarra-Cerdeña, C.N., Ramsey, J.M. (2015). Volatile compound diversity and conserved alarm behaviour in *Triatoma dimidiata*. Parasit Vectors; 6;8:84.
- May-Concha, I., Rojas, J. C., Cruz-López, L., Millar, J. G. & Ramsey, J. M. (2013). Volatile compounds emitted by *Triatoma dimidiata*, a vector of Chagas disease: chemical analysis and behavioural evaluation. Medical and Veterinary Entomology, 27, 165–174.
- Menes-Hernández, M. M. (2004). “Diferencias métricas entre poblaciones de *Triatoma dimidiata* Latreille (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) de México, Centro América y Colombia: Efecto de la procedencia geográfica y el ecotopo (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Meraz-Medina, T., Noguera-Torres, B., Ceballos-Rodríguez, R. S., Godínez-Aceves, K. C., & Martínez-Ibarra, J. A. (2019). Enhancing fitness in offspring of crosses between two triatomine species. *Journal of Vector Ecology*, 173-178.

- Messenger, L. A., Miles, M. A., & Bern, C. (2015). Between a bug and a hard place: *Trypanosoma cruzi* genetic diversity and the clinical outcomes of Chagas disease. *Expert review of anti-infective therapy*, 13(8), 995–1029.
- Monroy, C.M., D.M. Bustamante, A. Rodas, M.E. Enriquez and R. Rosales. (2003). Habitats, dispersion and invasion of sylvatic *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Peten, Guatemala. *Journal of Medical Entomology*, 40: 800-806.
- Monteiro, F. A., Peretolchina, T., Lazoski, C., Harris, K., Dotson, E. M., et al. (2013). Phylogeographic Pattern and Extensive Mitochondrial DNA Divergence Disclose a Species Complex within the Chagas Disease Vector *Triatoma dimidiata*. *PLoS ONE* 8(8): e70974.
- Moo-Millan, J. I., Arnal, A., Pérez-Carrillo, S., Hernández-Andrade, A., Ramírez-Sierra, M. J., Rosado-Vallado, M., Dumonteil, E. & Waleckx, E. (2019). Disentangling *Trypanosoma cruzi* cycle dynamics through the identification of blood meal sources of natural populations of *Triatoma dimidiata* in Yucatán, México. *Rev. Parasites & Vectors*, 12:572.
- Morán-Rodríguez, A. E. (2013). Ficha técnica de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811). *Revista Bioma*.
- Moretti, Nilmar & Mortara, Renato & Schenkman, Sergio. (2020). *Trypanosoma cruzi*. *Trends in Parasitology*. 36. 404-406.
- Murillo-Solano, C., Ramos-Ligonio, A., López-Monteon, A., Guzmán-Gómez, D., Torres- Montero, J., Herrera, C., Dumonteil, E. (2021). Diversity of *Trypanosoma cruzi* parasites infecting *Triatoma dimidiata* in Central Veracruz, Mexico, and their One Health ecological interactions. *Infect Genet Evol*;95:105050.
- Nattero, J., Leonhard, G., Rodriguez, C.S., Crocco, L.B. (2011). Influence of the quality and quantity of blood ingested on reproductive parameters and life-span in *Triatoma infestans* (Klug); Elsevier Science; *Acta Tropica*; 119; 183-187

- Nattero, J., Crocco, L.B., Rodriguez, C.S. (2002). Feeding and defaecation behaviour of *Triatoma patagonica* (Del Ponte, 1929) (Hemiptera: Reduviidae). Mem Inst Oswaldo Cruz. Oct;97(7):1063-5.
- Noguera-Torres, B., Montañez-Valdez, O. D., Michel-Parra, J. G., Martínez-Grant, D. M., Martínez-Ibarra, J. A. (2021). Biological Parameters of Three Populations of *Triatoma dimidiata* s. s. (Hemiptera: Reduviidae) From Western Mexico. J Med Entomol; 9;58(6):2114-2123.
- Organización Mundial de la Salud. (2023). Día mundial de la enfermedad de Chagas. Recuperado de: <https://www.who.int/campaigns/world-chagas-disease-day/2023>
- Organización Mundial de la Salud. (2021). La enfermedad de Chagas (trypanosomiasis americana). Recuperado de [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))
- Payet, V., Ramirez-Sierra, M. J., Rabinovich, J., Menu, F., Dumonteil, E. (2009). Variations in sex ratio, feeding, and fecundity of *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) among habitats in the Yucatan Peninsula, Mexico. Vector Borne Zoonotic Dis;9(3):243-51.
- Pech-May, A., Mazariegos-Hidalgo, C. J., Izeta-Alberdi, A., López-Cancino, S. A., Tun-Ku, E., De la Cruz-Félix, K., et al.(2019). Genetic variation and phylogeography of the *Triatoma dimidiata* complex evidence a potential center of origin and recent divergence of haplogroups having differential *Trypanosoma cruzi* and DTU infections..PLoS Negl Trop Dis 13(1)
- Pellecer, M.J. (2011). Identificación de fuentes alimenticias y de la presencia de *Trypanosoma cruzi* utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del ADN en la ingesta de sangre de *Triatoma dimidiata* de colectas de las aldeas La Brea y El Tule del Municipio de Quesada, Jutiapa, Guatemala, antes y después de modificaciones en ecotopos domiciliarios y peridomiciliarios. Tesis de licenciatura. Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de

Ciencias Químicas y Farmacia.

- Pires, H.H., Lorenzo, M.G, Lazzari CR, Diotaiuti L, Manrique G. The sexual behaviour of *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Reduviidae): an experimental study. (2004). Mem Inst Oswaldo Cruz;99(3):295-300.
- Polonio, R., López-Domínguez, J., Herrera, C. & Dumonteil, E. (2021). Molecular ecology of *Triatoma dimidiata* in southern Belize reveals risk for human infection and the local differentiation of *Trypanosoma cruzi* parasites. International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases.
- Pontes, G. B., Bohman, B., Unelius, C. R. y Lorenzo, M. G. (2008). Metasternal gland volatiles and sexual communication in the triatomine bug, *Rhodnius prolixus*. J. Chem. Ecol. 34, 450–457.
- 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. J Med Entomol;53(1):20-5.
- Ramsey, J. M, Peterson, A. T, Carmona-Castro, O., Moo-llanes, D. A, Nakazawa, & Butrick, M. (2015). Atlas of Mexican Triatominae (Reduviidae:Hemiptera) and vector transmission of Chagas disease. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz; 110(3):339–52.
- Regis, L. (1979). El papel de la ingesta de sangre en la periodicidad de la puesta de huevos y la fecundidad en *Triatoma infestans* . *International Journal of Invertebrate Reproduction* , 1 (3), 187–195.
- Reyes, M. & Angulo, V. M. (2009). Ciclo de vida de *Triatoma dimidiata* Latreille, 1811 (Hemiptera, Reduviidae) en condiciones de laboratorio: producción de ninfas para ensayos biológicos. Revista Biomédica, 29 (1), 119-126.
- Reyes-Novelo, E., Ruiz-Piña, H., Escobedo-Ortegón, J., Barrera-Pérez, M., Manrique-Saide, P., & Rodríguez-Vivas, R. I. (2013). *Triatoma dimidiata* (Latreille) Abundance and Infection with

- Trypanosoma cruzi* in a Rural Community of Yucatan, Mexico. Neotrop Entomol;42(3):317-24.
- Reyes-Novelo, E., Ruiz-Piña, H., Escobedo, F., & Barrera-Pérez, M. (2011). Biología y ecología de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811), algunos aspectos de estudio. Dugesiana. 18. 11- 16.
- Richards, B., Rúa, N. M., Monroy, C., Stevens, L. & Dorn, P. L. Novel polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay to determine internal transcribed spacer-2 group in the Chagas disease vector, *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811). Mem Inst Oswaldo Cruz. 2013 Jun;108(4):395-8.
- Rodríguez, C., Lobbia, P., Nattero, J., Catalá, S. & Crocco, L. (2014). Effect of feeding frequency on the reproductive efficiency of two species of *Triatoma* with different epidemiological importance. Rev Soc Bras Med Trop. Jul;47(4):430-6.
- Rojas, J. C., E. A. Malo, A. Gutierrez-Martinez, and R. A. Ondarza. (1990). Mating behaviour of *Triatoma mazzottii* Usinger (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. Ann. Entomol. Soc. Am. 83: 598 Ð 602.
- Salazar-Schettino, P.M., Bucio-Torres, M.I., Rojo-Medina, J., Manuel-Valencia, Y.V., Revuelta-Herrera, A., Pastén-Sánchez, S.A., Chávez-Mendoza, C., Ramos-García, C., Becker-Fauser, I.D., Cabrera-Bravo, M., et al. (2019). Manual de Procedimientos para la Enfermedad de Chagas. Ciudad de Mexico, Mexico: Editorial Secretaría de Salud.
- Schaub, G. A., Böker, C. A., Jensen, C., & Reduth, D. (1989). Cannibalism and coprophagy are modes of transmission of *Blastocrithidia triatomae* (trypanosomatidae) between triatomines. The journal of protozoology, 36(2), 171–175.
- Schofield, C. J. (2005). Propuestas de estrategias para el control de *Triatoma dimidiata* en Colombia. En: Memorias del Primer Taller Internacional sobre control de la enfermedad de Chagas. Bogotá: Universidad de los Andes.

- Schofield, C. J. (2002). Evolución y control de *Triatoma dimidiata*. En Taller para el establecimiento de pautas técnicas en el control de *Triatoma dimidiata*. San Salvador, PAHO documento OPS/HCP/HCT/214/02, PAHO, 44p.
- Stevens, L., Monroy, M. C, Rodas, A.G. & Dorn, P. L. (2014). Hunting, swimming, and worshipping: human cultural practices illuminate the blood meal sources of cave dwelling Chagas vectors (*Triatoma dimidiata*) in Guatemala and Belize. PLoS Negl Trop Dis; 8(9):e3047.
- Torres-Castro, M., Cuevas-Koh, N., Hernandez-Betancourt, S., Noh-Pech, H., Estrella, E., Herrera-Flores, B., Panti-May, J. A., Waleckx, E., Sosa-Escalante, J., & Pelaez-Sanchez, R. (2021). Natural infection with *Trypanosoma cruzi* in bats captured in Campeche and Yucatan, Mexico. *Biomedica*, 41(Supl. 1), 131-140.
- Usinger R. L. (1944). The triatominae of North and Central America and the West Indies and their public health significance. Pub Health Bull. 82.
- Vargas-Parada, L. (2010). Kinetoplastids and Their Networks of Interlocked DNA. *Nature Education*, 3(9), 63-63.
- Vitta, A.C., Lorenzo, M.G. Copulation and mate guarding behavior in *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae). (2009). J Med Entomol; 46(4):789-95.
- Vogt, R. G. (2005). Molecular Basis of Pheromone Detection in Insects. In Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, Pharmacology and Molecular Biology. Gilbert LI, Iatro K, Gill S (eds). Endocrinology Vol 3, Elsevier: London:753–804.
- Waleckx, E., Pasos-Alquicira, R., Ramirez-Sierra, M. J. & Dumonteil, E. (2016). Sleeping habits affect access to host by Chagas disease vector *Triatoma dimidiata*. Parasites Vectors. 9:568.
- Waleckx, Etienne., Gourbière, Sébastien & Dumonteil, Eric. (2015). Intrusive versus domiciliated triatomines and the challenge of adapting vector control practices against Chagas disease. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 110. 324-338.

- Yeo, M., Acosta, N., Llewellyn, M., Sanchez, H., Adamson, S., Miles, G. A. et al. (2005). Origins of Chagas disease: *Didelphis* species are natural hosts of *Trypanosoma cruzi* I and armadillos hosts of *Trypanosoma cruzi* II, including hybrids. *Int J Parasitol.* 35(2):225-33.
- Zavala-Velázquez, J. E., Barrera-Pérez, M. A, Rodríguez-Félix, M. E., Guzmán-Marín, E. S., Ruiz-Piña, H. A. (1996). Infection by *Trypanosoma cruzi* in mammals in Yucatan, Mexico: a serological and parasitological study. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 38: 289- 292.
- Zeledón, R., Montenegro, V. M. & Zeledón, O. (2001). Evidence of colonization of man-made ecotopes by *Triatoma dimidiata* (Latreille 1811) in Costa Rica. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 659-660
- Zeledón, R. (1981). El *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) y su relación con la enfermedad de Chagas. Universidad Estatal a Distancia (EUNED), San José, Costa Rica.
- Zeledón, R., Alvarado, R., Jirón, L. F. (1977). Observations on the feeding and defecation patterns of three triatomine species (Hemiptera: Reduviidae). *Acta Trop* ; 34(1):65-77.
- Zeledón, R., Guardia, V.M., Zúñiga, A., Swartzwelder, J.C.(1970). Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811). II. Life span of adults and fecundity and fertility of females. *J Med Entomol*;7(4):462-9.
- Zingales, B., & Bartholomeu, D. C. (2022). *Trypanosoma cruzi* genetic diversity: impact on transmission cycles and Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 117, e210193.
- Zingales, B., Miles M. A., Campbell, D. A., et al. (2012). The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infect Genet Evol.* 12(2): 240-53.
- Zuma, Aline., Barrias, Emile & Souza, Wanderley. (2020). Basic Biology of *Trypanosoma cruzi*. *Current Pharmaceutical Design.* 26.

ANEXOS



Anexo 1. Alimentación de la colonia de T. dimidiata con palomas



Anexo 2. Alimentación de insectos de quinto estadio ninfal de T. dimidiata.



Anexo 3. Emergencia y separación de adultos de T. dimidiata de acuerdo al haplogrupo y sexo.



Anexo 4. *Ensayos de cópula en adultos de T. dimidiata*