

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA  
Facultad de Ciencias y Humanidades



**Análisis filogenético y biogeografía de luciérnagas  
(Coleoptera: Lampyridae) en Guatemala**

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por  
Adriana María Echeverría Méndez  
para optar por el grado académico de Licenciada en Biología

Guatemala,  
2022



En dedicatoria a mi mamá, Angela Méndez. Porque me hizo creer en mí misma desde chiquita, y me dio su amor y su apoyo hasta el último día de su vida.



UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA  
Facultad de Ciencias y Humanidades



**Análisis filogenético y biogeografía de luciérnagas  
(Coleoptera: Lampyridae) en Guatemala**

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por  
Adriana María Echeverría Méndez  
para optar por el grado académico de Licenciada en Biología

Guatemala,  
2022



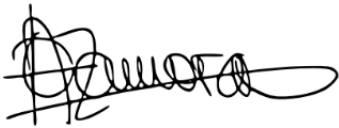
Vo. Bo.



---

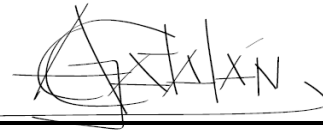
PhD. Ana Catalán

Tribunal examinador:



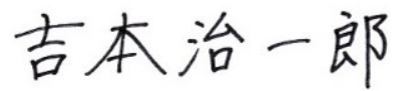
---

PhD. Alejandra Zamora



---

PhD. Ana Catalán



---

PhD. Jiichiro Yoshimoto

Fecha de aprobación del examen de graduación:

(Guatemala, 11 de noviembre de 2022)





## AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer a la Universidad Ludwig Maximilian de Múnich por el financiamiento del proyecto, y especialmente a la doctora Ana Catalán por la oportunidad de participar en él y por todo su apoyo durante el trabajo. Asimismo, al Departamento de Biología por darme acceso al equipo de laboratorio necesario para la realización de este trabajo de graduación. A Alejandra Zamora por su comprensión, ayuda y por siempre apoyarme a lograr lo que me propusiera. A Jiichiro Yoshimoto por todo su apoyo y ayuda durante el proceso de laboratorio e identificación de especímenes. A mi directora de carrera, Gaby Alfaro y a Ericka Santos por su comprensión y apoyo durante los 5 años de la carrera.

Además, me gustaría agradecer a mis compañeros en el proyecto, Andrés Gutiérrez y Claudia Pérez por su ayuda en las colectas, en el laboratorio y por el apoyo brindado para que nuestras tesis pudieran llevarse a cabo. También quiero agradecer a Christian Chinchilla y Mafer Acevedo, por siempre estar para mí, hacerme reír y darme energías para mejorar. A mis amigos Eduardo Monge, Samuel Herrera y Francisco Herrarte por hacer los días en el laboratorio divertidos, por su apoyo, su compañía y en especial por su cariño.

Por otro lado, agradezco a la familia Chinchilla Morales por permitirme trabajar en su finca, a Daniel Ariano por darnos acceso a la Reserva Natural de la Heloderma y a Rob y Cara Cahill por permitirme colectar en Rubel Chaim. También a la Sra. Rita Ramírez por su colaboración en el transporte de muestras, lo cual fue indispensable para que el proyecto se llevara a cabo.

Por último, pero no menos importante, quiero agradecerle a toda mi familia por su apoyo incondicional y por todos los sacrificios hechos para que yo pudiera llegar hasta aquí. Por siempre creer en mí y buscar lo mejor para mi persona; por ayudarme cada vez que necesitaba una mano extra y por su amor.



# CONTENIDO

	<b>Página</b>
Agradecimientos	ix
Lista de cuadros	xii
Lista de figuras	xiii
Resumen	xv
Abstract	xvi
I. Introducción	1
II. Antecedentes	3
III. Marco teórico	
A. Diversidad de Coleoptera en Guatemala y Centroamérica	5
B. Lampyridae	8
C. Tendencias en la variación genética en Lampyridae dependiente de la geografía	16
IV. Justificación	17
V. Objetivos	19
VI. Hipótesis	20
VII. Metodología	21
VIII. Resultados	
A. Colecta e identificación de morfoespecies	27
B. Reconstrucciones filogenéticas	36
C. Biogeografía, distribución de especies y diferenciación genética	46
IX. Discusión de resultados	56
X. Conclusiones	63
XI. Recomendaciones	64
XII. Referencias bibliográficas	65
XIII. Apéndices	68

## LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1.	Secuencias de cebadores utilizados para este estudio	24
2.	Análisis de diversidad genética del gen COI en poblaciones de <i>Bicellonycha</i> .	47
3.	Índice de fijación ( $\phi_{st}$ ) del gen COI en poblaciones de <i>Bicellonycha</i> .	48
4.	Análisis de diversidad genética del gen COI en poblaciones de <i>Photinus</i>	50
5.	Índice de fijación ( $\phi_{st}$ ) del gen COI en poblaciones de <i>Photinus</i>	51
6.	Análisis de diversidad genética del gen COI en poblaciones de <i>Photuris</i>	53
7.	Índice de fijación ( $\phi_{st}$ ) del gen COI en poblaciones de <i>Photuris</i>	54

## LISTA DE FIGURAS

Figuras	Página
1. Fallas biogeográficas de Centroamérica Nuclear de acuerdo con Jiménez, 2021	7
2. Mapa de áreas de endemismo del norte de Mesoamérica Nuclear para Passalidae y <i>Chrysina</i>	8
3. Vista general de la estructura del edeago de <i>Photuris</i> spp.	10
4. Vista general de la estructura del edeago de <i>Bicellonycha</i> spp.	11
5. Vista general de la estructura del edeago de <i>Photinus</i> spp.	12
6. Comportamiento predatorio de <i>Photuris</i> , alimentándose de <i>Photinus</i> sp.	16
7. Diagrama de flujo resumido con representación gráfica de la metodología de investigación	21
8. Mapa de localidades de muestreo para este estudio	22
9. Morfología de un macho de <i>Bicellonycha gorhami</i> *	27
10. Morfología de un macho de <i>Bicellonycha discicollis</i> *	27
11. Morfología de un macho de <i>Bicellonycha</i> sp.	28
12. Morfología de un macho de <i>Bicellonycha</i> sp. 1	28
13. Morfología de una hembra de <i>Photinus</i> sp.	28
14. Morfología de una hembra de <i>Photinus</i> sp.	29
15. Morfología de un macho de <i>Photinus</i> sp.	29
16. Morfología de una hembra de <i>Photinus congruus</i> *	30
17. Morfología de un macho de <i>Photuris</i> sp. 1	31
18. Morfología de un macho de <i>Photuris</i> sp. 2	32
19. Morfología de un macho de <i>Photuris</i> sp. 3	33
20. Morfología de un macho de <i>Photuris</i> sp. 4	34
21. Morfología de una hembra de <i>Photuris</i> sp. 6	34
22. Morfología de un macho de <i>Photuris</i> sp.	35
22. Morfología de un macho de <i>Aspisoma</i> sp.	35
23. Árbol filogenético del gen COI generado por el método de Máxima Verosimilitud para la subfamilia Photurinae	38-39
24. Árbol filogenético del gen COI generado por el método de Máxima Verosimilitud para la subfamilia Lampyrinae	40-41
25. Árbol filogenético del gen COI generado por el método Bayesiano para la subfamilia Photurinae	42-43
26. Árbol filogenético del gen COI generado por el método Bayesiano para la subfamilia Lampyrinae	44-45
27. Distribución de las especies de <i>Bicellonycha</i> colectadas en este estudio	46
28. Red de haplotipos para las especies de <i>Bicellonycha</i> colectadas en este estudio	49
29. Distribución de las especies de <i>Photinus</i> colectadas en este estudio	49
30. Red de haplotipos para las especies de <i>Photinus</i> colectadas en este estudio	52
31. Distribución de las especies de <i>Photuris</i> colectadas en este estudio	52

32. Red de haplotipos para las especies de <i>Photuris</i> colectadas en este estudio	55
---	----

## RESUMEN

Las luciérnagas son un grupo cosmopolita con más de 2,000 especies conocidas pertenecientes a 100 géneros. La identificación de luciérnagas es desafiante, ya que algunas pueden imitar patrones de luz de otras luciérnagas para alimentarse de ellas y su órgano sexual es muy parecido entre especies. *Photuris*, *Bicellonycha* y *Photinus* están reportados para Guatemala con varias especies representándolos; sin embargo, el número real de especies presentadas para el país es incierto ya que no se han realizado muestreos intensivos ni estudios moleculares con luciérnagas hasta ahora. El presente estudio tiene como fin proporcionar información nueva con respecto a la diversidad, biogeografía y filogenética de los géneros de luciérnagas *Photuris*, *Bicellonycha* y *Photinus* en Guatemala. La investigación fue realizada por medio de análisis de ADN mitocondrial (COI) de los organismos colectados y una matriz de datos biogeográficos. Se pudo identificar 17 morfoespecies comprendidas dentro de los géneros *Photuris*, *Photinus*, *Bicellonycha* y *Aspisoma* por medio su morfología y genética. Siete especies más fueron identificadas únicamente por medio de su morfología. Se encontró una concordancia entre la distribución biogeográfica de estos organismos, con la presentada en otros insectos y aves hasta la fecha.

## ABSTRACT

Fireflies are a cosmopolitan group comprised by more than 2,000 known species belonging to 100 genera. Fireflies' identification is challenging because of some genera ability to imitate other fireflies' flashing patterns and because of the similarity between the species sexual organs. *Photuris*, *Bicellonycha* and *Photinus* are reported in Guatemala with a few species, however the real species number present in the country is uncertain due to lack of sampling and lack of molecular analysis of the individuals. The present study's objective is to generate information about the diversity, biogeography and phylogeny of the firefly genera *Photuris*, *Bicellonycha* and *Photinus* in Guatemala. The investigation was executed gathering information through field sampling, DNA analysis of mitochondrial DNA and a biogeography matrix for *Photinus*. 17 species from the genera *Photuris*, *Photinus*, *Bicellonycha* y *Aspisoma* were identified using both morphological and genetical data. Seven additional species were identified using morphological data only. Similarities between the biogeographical distribution of fireflies and other insects and birds were found.



# I. INTRODUCCIÓN

La identificación de luciérnagas se lleva a cabo usualmente por medio de una caracterización de patrones de luz (Goh, Lee y Wang, 2021; Tathawee et al., 2020), toma de medidas de los especímenes, observación de edeagos y comparación de especímenes con los presentes en colecciones biológicas (Zaragoza-Caballero et al., 2021). La identificación de *Photuris* por métodos convencionales es especialmente complicada debido a su habilidad para imitar patrones de luz de otras especies y debido a una gran similitud del edeago entre especies (Fallon et al., 2019; Arnett et al., 2002). En el caso de *Bicellonycha* existe una variedad grande en los cuerpos de los individuos entre especies, y el género puede ser identificado por medio de la presencia de uñas externas e internas bifurcadas en los machos (Zaragoza-Caballero et al., 2021). Los edeagos de este género tienen una forma general parecida, variable entre especies (McDermott, 1962). *Photinus* es uno de los géneros más abundantes y más estudiado; sin embargo, su identificación puede ser complicada debido a falta de datos para la región centroamericana.

En Guatemala la identificación de estos organismos por métodos moleculares o taxonómicos no se ha realizado, y por ende el número de especies existentes en el país es desconocido. Adicionalmente, la biogeografía de Lampyridae es desconocida para Guatemala, en donde únicamente se conocen las biogeografías de dos grupos de Coleoptera pertenecientes a las familias Passalidae y Scarabaeidae (Schuster y Cano, 2006; Beza et al., 2011; Schuster, Cano y Cardona, 2000). De los trabajos de biogeografía mencionados anteriormente, únicamente el estudio para *Ogyges* (Passalidae) incluyó trabajo molecular. Se sabe que existe aislamiento reproductivo dentro de las especies de amplia distribución debido a cambios en los patrones lumínicos (Kato et al., 2020).

A pesar de que las poblaciones de *Photuris* se pueden encontrar en la mayoría de las áreas muestreadas en el país (Universidad del Valle de Guatemala, 2022), se desconoce la salud genética de las mismas. Las poblaciones se pueden ver afectadas por una disminución de agua y alimento, uso de pesticidas, contaminación lumínica y pérdida del hábitat. En la actualidad ninguna especie de *Photuris* está considerada como amenazada o

de importancia de conservación. El género *Bicellonycha* carece de información acerca de su estado de conservación a excepción de la especie *B. wickershamorum* y sus subespecies (*B. wickershamorum piceum*, *B. wickershamorum wickershamorum*). Estas se encuentran en estado Vulnerable y En Peligro debido a su área de distribución reducida, y la degradación de su hábitat (Fallon y Cicero, 2021). Información molecular y un mayor esfuerzo de muestreo son requeridos para obtener un mejor panorama acerca de la salud y cantidad de poblaciones y especies existentes para ambos géneros.

Debido a lo anteriormente mencionado este estudio propuso realizar un esfuerzo de muestreo mayor dentro de varias áreas del país, así como realizar análisis moleculares para identificación de especies. Durante los muestreos se colectaron individuos para su ingreso en el Laboratorio de Entomología Sistemática, en donde fueron fotografiados e identificados morfológicamente. Adicionalmente, se realizaron extracciones de ADN de individuos de cada especie encontrada para su identificación por medio de secuenciación Sanger del marcador mitocondrial Citocromo Oxidasa I (COI). Posterior a la identificación de individuos por ambos métodos, se generaron árboles filogenéticos y una biogeografía de las especies analizadas.

A partir de los datos generados en la presente investigación, se logró identificar 24 morfoespecies de luciérnagas pertenecientes a los géneros *Photuris* (7), *Photinus* (7), *Bicellonycha* (8) y *Aspisoma* (2). 17 de estas especies fueron utilizadas dentro de los análisis filogenéticos, generando árboles de Máxima Verosimilitud y Bayesianos en donde se incluyeron las secuencias disponibles en la base de datos genéticos NCBI para COI de la familia Lampyridae. Adicionalmente, se generaron mapas de ocurrencia para las especies colectadas dentro del estudio para visualizar su distribución; así como la biogeografía para el género *Photinus* en el continente. Los datos de distribución de especies para Guatemala se acoplan a lo propuesto por Schuster y Cano (2000) en donde se generaron múltiples áreas de endemismo basadas en la distribución de coleópteros. La biogeografía de *Photinus* da soporte a lo propuesto por Catalán et al. (2022) acerca de un posible origen del género en Centroamérica.

## II. ANTECEDENTES

En Guatemala no se han realizado muchos estudios correspondientes a la identificación genética de la familia Lampyridae. Actualmente existe información acerca del género *Photinus* (Pérez, 2022), un estudio filogenético utilizando los marcadores COI, 18S y 28S para varios géneros (Gutiérrez, 2022) y un estudio preliminar de identificación de especies por medio de sus patrones lumínicos (Schuster, 1997). Sin embargo, aún existe un gran vacío de información para múltiples áreas del país y una delimitación y descripción de especies pobre.

Durante el estudio realizado por Pérez (2022) se logró identificar a cinco especies de *Photinus* por medio de análisis morfométricos y filogenéticos. Estas especies fueron colectadas principalmente en la parte central del País, teniendo localidades en el departamento de Guatemala, Sololá y Sacatepéquez, una en el Volcán de Agua, Escuintla y una última en el Valle del Motagua, Zacapa. Se utilizó el gen mitocondrial COI, y se realizaron árboles filogenéticos bayesianos y de máxima verosimilitud. Estos resultados se vieron respaldados por medio del uso de MorfoTools, en donde se buscó encontrar las diferencias morfológicas presentadas entre especies.

Adicionalmente, Gutiérrez (2022) generó datos para la filogenia de especies presentes en Guatemala utilizando los genes COI, 18S y 28S. Dentro de este estudio se analizaron varias áreas del país y 4 géneros encontrados dentro del muestreo. Se lograron generar nuevas secuencias para los tres marcadores para al menos 10 especies del país; contribuyendo al conocimiento de la biodiversidad de Guatemala y a la generación de datos de las luciérnagas de Centroamérica.

Por último, Schuster (1997) muestreó un bosque montano en el departamento de Guatemala durante 8 años consecutivos. Durante su muestreo logró identificar al menos 12 especies diferentes de cuatro géneros distintos (*Photinus*, *Ellychnia*, *Photuris* y *Bicellonycha*). Los individuos fueron identificados hasta morfoespecies debido a la dificultad de identificación de especies presentada en los géneros de Lampyridae. Se

encontraron tres especies raras (pocos individuos/pocos avistamientos), siendo dos del género *Photuris* y una del género *Photinus*. Este estudio encontró que las luciérnagas pueden estar presentes durante todo el año, y que se puede dar simpatría de hasta 5 especies por noche en las áreas montanas de Guatemala.

### III. MARCO TEÓRICO

#### A. DIVERSIDAD DE COLEOPTERA EN CENTROAMÉRICA Y GUATEMALA

Los escarabajos conforman un 38% de las especies de insectos conocidas en la actualidad (Lewis et al., 2021). La primera contribución al conocimiento entomológico de toda Centroamérica se dio en 1879, en donde Champion colectó durante 4 años en Guatemala y Panamá. Varias publicaciones han surgido a partir de los años 90, en donde se ha descrito la diversidad de coleópteros en los países centroamericanos. Entre ellos se destacan: “Los escarabajos dinástidos de Honduras, Nicaragua y El Salvador” (Ratcliffe y Cave, 2006), “Los escarabajos dinástidos de México, Guatemala y Belice” (Ratcliffe, Cave y Cano, 2014), “Diversidad de luciérnagas en un área urbana montana de Guatemala” (Schuster, 1997), “Coleópteros de Guatemala” (Schuster y Monzón, 2014), artículos generados para las familias Passalidae y Scarabaeidae para las áreas fronterizas de Honduras y México con Guatemala y Guatemala (Schuster y Cano, 2003; Beza et al., 2011); entre otros.

En general, no existe suficiente información acerca de la diversidad entomológica en Guatemala. En el presente, se reconoce únicamente una colección de especímenes de tamaño mediano, presente en la Universidad del Valle de Guatemala (Schuster, et al., s.f.). Existen registros de la diversidad entomológica para Guatemala en las colecciones EB-USAC, Laboratorio de Entomología Sistemática, UVG y en el Sitio de Divulgación científica Insectos de Guatemala.

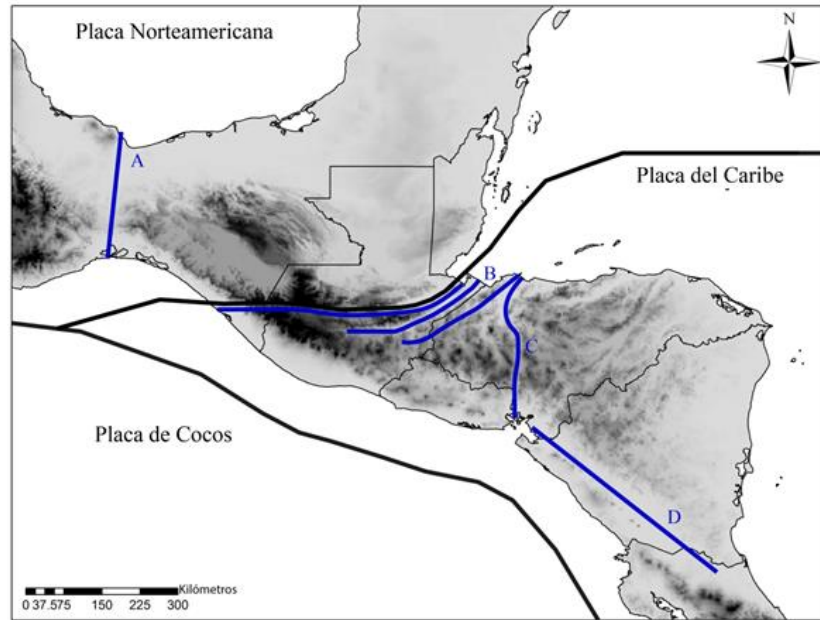
Existen 11 especies de *Photuris* identificados para Guatemala en Biología Central-Americana (1919); el género *Bicellonycha* no está comprendido dentro de los géneros de Lampyridae reportados hasta esa fecha. Sin embargo, pocas investigaciones enfocadas a la familia Lampyridae han sido realizadas hasta la fecha. Los lampíridos son un grupo llamativo debido a la presencia de bioluminiscencia en los adultos y larvas. Está compuesto de alrededor de 2200 especies, pertenecientes a 100 géneros (Lewis y Cratsley, 2008). La edad del nodo filogenético hacia la rama de Lampyridae ha sido estimada de 140 millones

de años de antigüedad (Höhna, Lower, Duchén y Catalán, 2021). En algunos países, existe turismo dedicado al avistamiento de luciérnagas y santuarios dedicados a especies características de las regiones, por lo que el conocimiento de su diversidad en Guatemala es importante.

## **1. Áreas de prioridad endémica y biogeografía en Guatemala**

Para conocer la biodiversidad de una región es fundamental conocer la biogeografía del lugar en el cual se está trabajando. La historia geológica y climática de Guatemala ha causado una topografía compleja, con una cantidad de ambientes muy grandes (Jiménez, 2021). Guatemala se encuentra ubicada en una zona de transición entre las regiones Neártica y Neotropical, formando parte de un corredor biológico entre Norte y Sur América. Está asentada sobre tres placas tectónicas: Norteamericana, Caribe y Cocos, dando lugar a regiones con diferentes orígenes y edades dentro del área guatemalteca. Esta dinámica geológica y climática ha creado el escenario perfecto para la diversificación (Cano, Schuster y Morrone; Jiménez, 2021), relacionada con la evolución y selección natural de los organismos que habitan el país (Jiménez, 2021).

Actualmente se reconoce únicamente una falla biogeográfica importante para Guatemala, siendo esta el Sistema de Fallas del Motagua-Polochic-Jocotán (Figura 1). Sin embargo, la diversidad de hábitats causados por las cadenas volcánicas y montañosas proporciona de igual manera distintos nichos y crea barreras potenciales para la movilidad de los organismos.

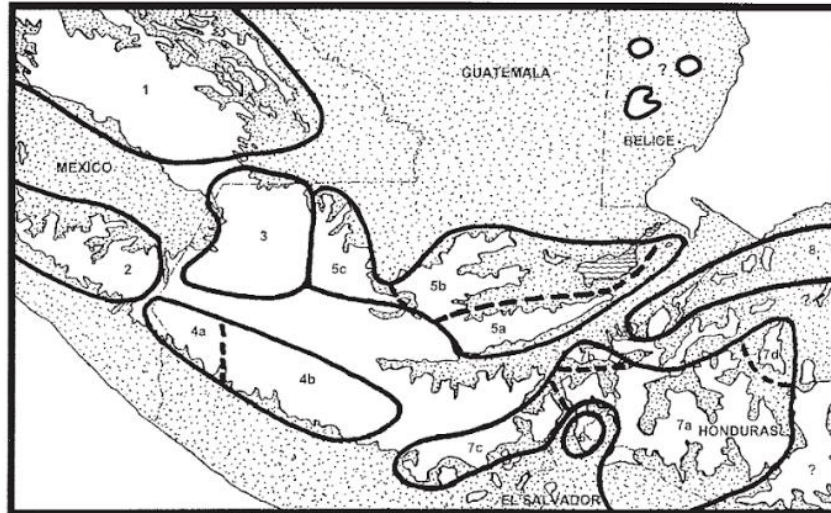


**Figura 1.** Fallas biogeográficas de Centroamérica Nuclear de acuerdo con Jiménez, 2021  
 A) Istmo de Tehuantepec, B) Fallas Motagua-Polochic-Jocotán, C) Depresión de Honduras y D) Depresión de Nicaragua. Las alturas están representadas por la escala de grises, en donde las áreas claras representan una menor altitud que las áreas oscuras

Fuente: Jiménez (2021)

## 2. Áreas de endemismo para Passalidae y *Chrysina* en Guatemala

Con base en la importancia biogeográfica de Guatemala, se creó un mapa de endemismo enfocado en la familia Passalidae y en el género *Chrysina* (Figura 2). Para esta, se utilizaron las barreras biogeográficas importantes, siendo estas los valles del Motagua-Polochic, las cadenas montañosas y volcánicas y los diferentes rangos altitudinales del país. Se determinaron 6 áreas de endemismo para el bosque nuboso en Guatemala que podrían contribuir al entendimiento de las migraciones, eventos de vicarianza, tiempos de colonización y relaciones entre sitios endémicos en el país (Schuster y Cano, 2003). Sin embargo, las áreas bajas como lo son las Tierras Bajas del Norte, no fueron estudiadas debido a la ausencia de bosque nuboso y la especificidad a este hábitat de los organismos analizados.



**Figura 2.** Mapa de áreas de endemismo del norte de Mesoamérica Nuclear para Passalidae y *Chrysina*

Fuente: Schuster et al. (2000)

## B. LAMPYRIDAE

Existen 2200 especies descritas, pertenecientes a 100 géneros. Es una familia cosmopolita, que habita una gran cantidad de hábitat y de un atractivo muy grande debido a su bioluminiscencia (Lewis et al., 2020; Lewis et al., 2021). En Guatemala las luciérnagas no han sido estudiadas profundamente, siendo muy poco conocida su diversidad, ecología y etología. El primer conocimiento de Lampíridos para el país surge de la publicación de *Biología Centrali Americana* (1888), en donde se lista una variedad de especies de luciérnagas de diversos géneros. El primer estudio realizado específicamente para Guatemala describió las distintas especies de Lampyridae en un sitio urbano de la ciudad de Guatemala, localizado en un bosque montano. El rango de meses de actividad y su patrón de luz fueron observados y documentados durante 8 años durante los cuales se identificaron 11 especies pertenecientes a 3 géneros (*Photuris*, *Photinus* y *Bicellonycha*). Sin embargo, la identificación de algunas de las especies se realizó únicamente a nivel de género, siendo estas clasificadas únicamente como pseudoespecies (sp. 1, sp. 2, etc.) (Schuster,1997).

Se sabe que las luciérnagas presentan un ciclo de vida de 4 estadios, con metamorfosis completa: huevo, larva, pupa y adulto. Los huevos son muy pequeños y numerosos y en algunas especies pueden ser bioluminiscentes, al igual que la fase larvaria



(Bessho y Oba, 2017). Las larvas presentan normalmente dos puntos luminiscentes en el abdomen, hábitos subterráneos o arborícolas y en algunos casos incluso acuáticos (Fauste, 2015; Ho et al., 2010). Las luciérnagas pasan la mayor parte de su vida en un estadio larvario, en el cual se alimentan activamente y se desarrollan con los recursos disponibles. Estas pueden ser semiacuáticas, acuáticas o terrestres (Lewis et al., 2020). Estudios recientes han demostrado que *Photuris* y *Photinus*, reducen la cantidad de veces que se alimentan en su estadio larvario y su habilidad de formar refugios de tierra al estar expuestas a pesticidas comunes con contenidos de clotianidina. Es posible que la reducción de la construcción de refugios de tierra en el complejo de *Photuris versicolor* sea una forma de los individuos de evitar la exposición a los pesticidas (Pearsons, Lower y Tooker, 2021).

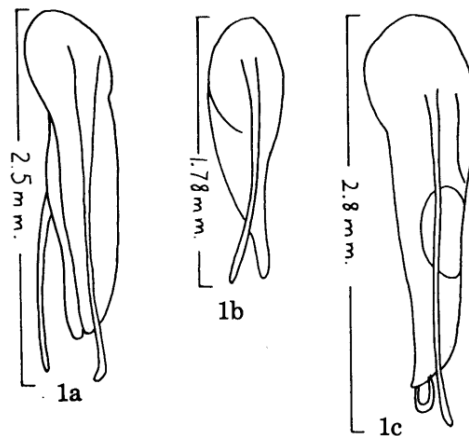
Por otro lado, las luciérnagas son conocidas por su luminiscencia en el estadio adulto, la cual es utilizada como una señal sexual entre machos y hembras; e incluso como estrategia de depredación en el género *Photuris* (Stanger, et al., 2018; Stanger y Lloyd, 2015). Son capaces de tener diferentes patrones de luz y coloraciones dependiendo de la especie de la que se trate y la coloración puede variar desde amarillo y naranja hasta verdes fluorescentes, producto de las diferentes luciferasas y aparatos lumínicos de las mismas (Lewis y Catsley, 2008). Se cree que las luciérnagas que aparecen en las horas tempranas de la noche han evolucionado una luz amarillenta para facilitar la detección contra la luz ambiental verde (Lower et al., 2018). Existen luciérnagas diurnas que no recurren al uso de señales lumínicas para su reproducción tales como el género *Ellychnia* y algunos individuos del género *Photinus*.

## **1. Photurinae**

La subfamilia Photurinae fue propuesta en 1857 por Lacordaire; está compuesta por lo géneros de luciérnagas presentes en el Nuevo Mundo *Bicellonycha*, *Photuris*, *Lampyris*, *Presbyolampis* y *Pyrogaster*. Los géneros de esta subfamilia son caracterizados por presentar uñas bifurcadas en los machos y por tener ojos que se expanden más allá del hipómero (Martin et al., 2019). *Photuris* y *Bicellonycha* son de los principales representantes de la familia Photurinae. Ambos presentan larvas con bioluminiscencia y

alimentación activa, con adultos sin neotenia, linterna y que pueden alimentarse. *Photuris* fue descrito por DeJean, 1833 y *Bicelloycha* descrito por Motschulsky en 1853.

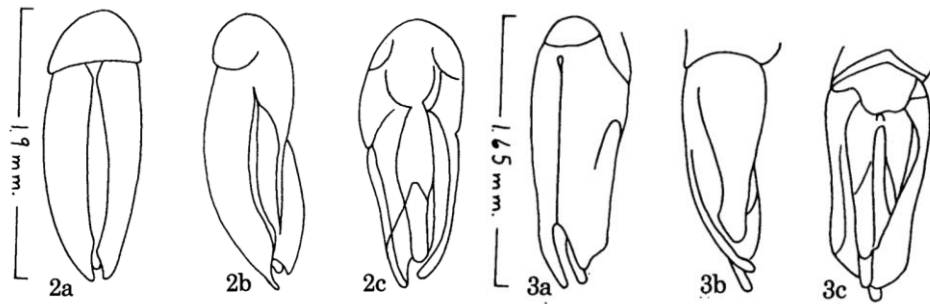
Originalmente estaban comprendidos dentro del mismo género, pero las diferencias en la bifurcación de las uñas y la diferencias en los edeagos permitieron su separación en dos géneros (MacDermott, 1962). En el caso de *Photuris* los individuos tienen una uña bífida y una uña simple, mientras que *Bicellonycha* tiene ambas uñas bífidas en los machos. Las hembras presentan uñas simples. Adicionalmente, los edeagos pueden diferenciar a los géneros debido a que los edeagos de las especies de Norteamérica y Suramérica de *Photuris* son idénticos (Figura 3). En el caso de *Bicellonycha*, (Figura 4) los edeagos carecen de los dos procesos laterales largos y delgados que se extienden hasta la base que están presentes en las especies del género *Photuris* (MacDermott, 1962).



**Figura 3.** Vista general de la estructura del edeago de *Photuris* spp.

1<sup>a</sup>. Vista dorsal del edeago de *Photuris annulicornis*, 1b. Vista lateral de edeago de *Photuris mollis*, 1c. Vista ventral de edeago de *Photuris* sp.

Fuente: McDermonnt (1962)



**Figura 4.** Vista general de la estructura del edeago de *Bicellonycha* spp.

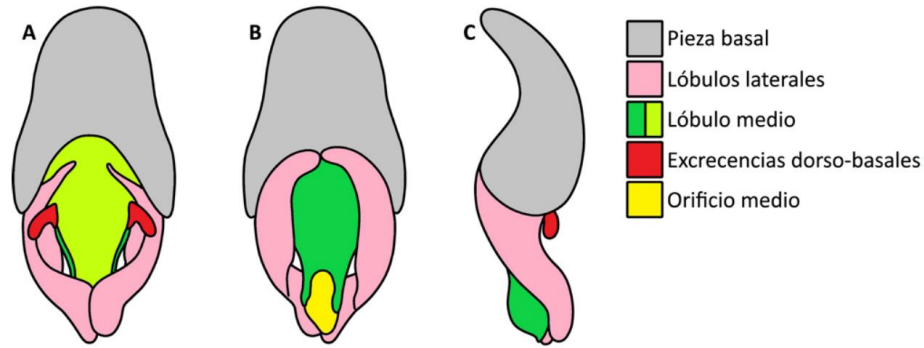
2<sup>a</sup>. Vista dorsal del edeago de *B. mexicana*, 2b. Vista lateral de edeago de *B. mexicana*, 2c. Vista ventral de edeago de *B. mexicana*. 3<sup>a</sup>. Vista dorsal del edeago de *B. collaris*, 3b. Vista lateral de edeago de *B. collaris*, 3c. Vista ventral de edeago de *B. collaris*.

Fuente: McDermontt (1962)

## 2. Lampyrinae

La subfamilia Lampyrinae fue propuesta por Rafinesque en 1815. Está compuesta por géneros que son muy variables en su morfología, por lo que se cree que existen géneros que han sido clasificados dentro de esta familia por error. En la actualidad existen cinco tribus dentro de esta familia, siendo estas Cratomorphini, Lapyrini, Photinini, Pleotomini y Lamprocerini. Algunos de los géneros contenidos dentro de estas tribus son *Photinus* (Photinini), *Scissicauda*, *Aspisoma* (Cratomorphini), *Lucidota* (Photinini), *Microlampyris* (Lampyrini), *Pyractomena* (Cratomorphini) (Martin et al., 2019).

*Photinus* fue descrito por Laporte en 1833. Este es uno de los géneros más estudiados y abundantes de la familia Lampyridae. Existen individuos con hábitos nocturnos e individuos diurnos dentro de este género, por lo que la presencia de aparato luminoso es variable. El género se caracteriza por presentar dos excrecencias dorsales en el lóbulo medio del edeago (Figura 5); mientras que el resto de los caracteres es variable. Sus cuerpos pueden variar desde una talla de 3 mm hasta mayores a 20 mm, con una coloración usualmente negra con naranja o rojo (Zaragoza-Caballero, 2015).



**Figura 5.** Vista general del eedeago de *Photinus* spp.

- a. Vista dorsal del eedeago de *Photinus* sp. b. Vista lateral de eedeago de *Photinus* sp, c. Vista ventral de eedeago de *Photinus* sp.

Fuente: Zaragoza-Caballero, et al. (2020)

Las hembras de hábitos nocturnos reconocen a sus parejas potenciales por medio de patrones de luz en donde la duración del pulso y el rango de los pulsos es importante. La mayoría de los machos de *Photinus* presentes en Norte América tienen pulsos que van desde los 100 hasta los 750 ms de duración y que se repiten en intervalos fijos. Si existen especies simpátricas, estas usualmente difieren en los hábitats en los que buscan aparearse, la temporada de apareamiento o en el momento de la noche en la cual presentan sus señales de cortejos. Además, los patrones entre especies presentan una diferenciación apreciable que hace que se delimite aún más el cortejo entre machos y hembras (Lewis, Cratsley y Demary, 2004).

### 3. Importancia ecológica y económica

La importancia ecológica de las luciérnagas en general varía desde indicadores de buena calidad de hábitat hasta depredadores y control biológico. En el caso de los géneros *Photuris* y *Bicellonycha* en su estadio larvario depredan microorganismos y se alimentan activamente (Pearson, Lower y Tooker, 2021) permitiendo que se dé una regulación de estos organismos en el suelo. En su etapa adulta tanto *Bicellonycha* como *Photuris* depredan a otras luciérnagas. A la vez, las luciérnagas son presas para otros invertebrados, tales como las arañas, las cuales aprovechan sus hábitos nocturnos para capturarlas; así como para algunas aves especializadas en captura de luciérnagas, lagartijas y ranas (Lloyd, 1973).

Debido a que la mayoría de las luciérnagas requieren de una buena humedad del suelo y son sensibles a pesticidas utilizados comúnmente (Pearson, Lower y Tooker, 2021), la presencia de estas puede ser un indicador de buena salud de suelo. Además, existen usos de ecoturismo para las luciérnagas en general. En México, Tlaxcala cuenta con un santuario conformado de 4,000 ha de bosque conservado y un flujo de personas de al menos 100,000 personas al año; siendo un ingreso económico importante para las familias de la región (Lewis et al. 2020). Adicionalmente se hace turismo de luciérnagas en Tailandia, Estados Unidos y Japón en diferentes épocas del año.

En el ámbito de la medicina y ecología, se han utilizado luciferasas de *Photuris pennsylvanica* y *Photinus pyralis* como bioindicadores, en biosensores e incluso para detectar pH intracelular y metales tóxicos. Las luciferasas de *Bicellonycha lividipennis* tiene una sensibilidad reducida al níquel; sin embargo, presenta un cambio de coloración de verde a rojo al estar expuesta a cadmio, mercurio, plomo y zinc (Moreira, Amaral, Gabriel y Viviani, 2022).

#### 4. **Amenazas potenciales**

Estudios realizados a nivel global han reportado que la pérdida de hábitat, la luz artificial y los pesticidas son las amenazas más fuertes para las luciérnagas. Adicionalmente, se encuentran otras amenazas como lo son las especies invasivas, la contaminación de los hábitats, el aumento de temperaturas, y los cambios en el nivel del mar y precipitación anual (Lewis, et al., 2021; Fallon et al., 2019). Dentro de la agricultura a gran escala es común el uso constante de pesticidas generales, que causan que los microorganismos e insectos que habitan en la tierra (tales como las larvas y huevos de las luciérnagas), mueran o tengan un desarrollo inadecuado (Fallon et al., 2019; Pearson, Lower y Tooker, 2021).

Guatemala es un país que depende directamente de la agricultura y de recursos provenientes de la tierra, con un índice muy alto de pobreza. Estas actividades son amenazas para la región ya que se acostumbra a realizar quema-raza en los cultivos. Adicionalmente, existen invasiones en las áreas protegidas y problemas con actividades

ilegales como extracción de flora y fauna y narcotráfico. Todos estos factores contribuyen a la disminución de cobertura forestal, la contaminación del agua y, por ende, la disminución de la biodiversidad (Schuster et al., s.f.). Existe información anecdótica acerca de la disminución de luciérnagas a través de los años en muchas regiones del país; sin embargo, no se ha investigado a fondo.

## 5. Comportamiento e interacciones entre géneros

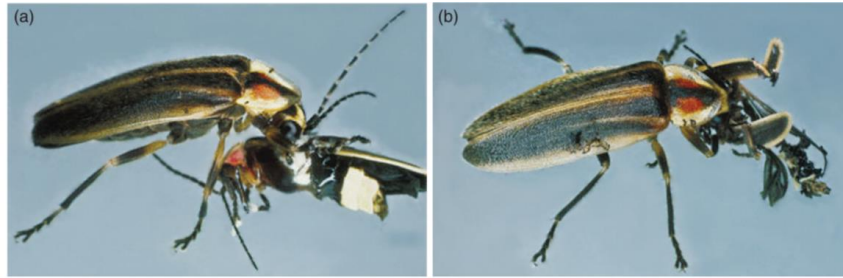
Muchas de las luciérnagas poseen compuestos que son tóxicos o desagradables para una gran variedad de depredadores, tales como peces, aves, anfibios y reptiles. Durante su etapa larval las larvas poseen glándulas defensivas especializadas que pueden secretar compuestos como lucibofaginas, terpenoides, betaínas, entre otras. Estos compuestos desagradables, junto con las señales lumínicas que las luciérnagas adultas pueden generar y la coloración usualmente negra con naranja o rojo han reforzado la aversión de los depredadores hacia ellas (Lewis y Cratsley, 2008). Un estudio realizado utilizando murciélagos (Leavell et al., 2018) demostró que las luciérnagas producen señales multisensoriales que hacen que *Eptesicus fuscus* no intente capturarlas en vuelo. Este mecanismo de defensa presentado en las luciérnagas es un conjunto de bioluminiscencia, los ecos producidos por la ecolocalización de los murciélagos, y el sabor desagradable de los compuestos defensivos.

Se cree que la depredación por parte de *Photuris* a los otros géneros ha moldeado la evolución de las señales de bioluminiscencia de las luciérnagas, así como la reversión a la actividad diurna y señales de feromonas (Stanger-Hall y Lloyd, 2015). *Photuris* spp. tiene la habilidad de imitar los patrones de luz de luciérnagas de otras especies, en especial de las especies pertenecientes a *Photinus* (Fallon et al., 2019; Vend, Blasko, Carison, 1994), con el fin de atraerlas para su depredación (Figura 4). Se sabe además que *Photuris* secuestra esteroides defensivos (lucibufaginas) de otras luciérnagas (*Photinus*), evitando que los depredadores como las arañas *Phidippus* spp. las consuman (Eisner et al., 1997). En un estudio realizado con hembras del género *Photuris* y machos de *Photinus ignitus* se demostró que a pesar de que las hembras se alimentan de estos machos para secuestrar las pironas esteroidales defensivas de *P. ignitus*, estas las transforman por medio de

glicosilación y oxidación (González et al., 1999). Las hembras de *Photuris* transmiten estas lucibofaginas y betaína a sus huevos, lo que hace que estos sean consumidos con menos frecuencia y mejora las probabilidades de supervivencia. La betaina puede ser producidas por las hembras de este género, sin embargo, las lucibufaginas deben ser secuestradas de otros organismos antes de poder ser transmitidas a sus huevos; esto hace que su supervivencia dependa de la presencia de otras especies en su hábitat, especialmente del género *Photinus* (Stanger y Lloyd, 2015).

Debido a que los edeagos de *Photuris* son idénticos entre especies, la comunicación para buscar pareja por medio de los patrones de luz parece ser su único método de diferenciación (McDermott, 1962). Sin embargo, se encontró que el género *Photuris* produce flashes espontáneos y muestra muchos tipos de señales distintas, que el tiempo del flash no es tan importante en este género como en otros (Lewis y Cratsley, 2008). En el caso de los miembros del género *Photinus* que poseen actividad diurna, la comunicación entre individuos se da por medio de feromonas. Las luciérnagas diurnas tienden a presentar un mayor desarrollo en sus antenas y no poseen aparato lumínico.

La mayoría de los géneros de luciérnagas tienen un requerimiento de humedad y, en algunos casos, de la presencia de otras luciérnagas dentro de su hábitat para su desarrollo adecuado. La mayoría de las especies pueden estar presentes en hábitats perturbados, siempre y cuando la salud del ecosistema no sea muy pobre. En el género *Photuris* los machos y hembras poseen la habilidad del vuelo y pueden movilizarse con mayor facilidad, evitando que los pisen mientras están en la vegetación baja o en la hojarasca (Lewis et al., 2020).



**Figura 6.** Comportamiento predatorio de *Photuris*, alimentándose de *Photinus* sp.  
Fuente: Capinera (2008)

### **C. TENDENCIAS EN LA VARIACIÓN GENÉTICA EN LAMPYRIDAE DEPENDIENTE DE LA GEOGRAFÍA**

Estudios realizados con *Luciola unmunisana* en Corea del Sur han encontrado patrones marcados en la diferenciación genética de genes COI y 16S y la distribución de la especie. Dentro del estudio realizado por Kim, Kwon y Jang (2021) se encontró una variación en los tiempos de aparición (variando de mayo a julio) también dentro de las poblaciones. Adicionalmente, se encontró una variación en las poblaciones distantes en donde no se compartía ningún haplotipo observado.

Por otro lado, se evaluó la variación molecular de *Photinus pyralis* para evaluar si la variación de las secuencias de luciferasas está correlacionada con los cambios de color en las señalizaciones en múltiples poblaciones alrededor de Estados Unidos. No se encontró ninguna variación en las luciferasas; sin embargo, se encontró una variación alta en las porciones no codificantes de los loci estudiados. Adicionalmente, se encontró que todos los individuos evaluados fueron generalmente monofiléticos, sugiriendo que había muy poco flujo genético entre las poblaciones encontradas. Esto contradujo lo esperado, dado que se creía que por no tener individuos neoténicos existiría un alto nivel de flujo genético dentro de las poblaciones. Esto puede deberse a que la etapa de adultos únicamente dura aproximadamente 2 semanas, en donde los machos se enfocan en conseguir pareja (Lower, Stanger-Hall y Hall, 2018).



## IV. JUSTIFICACIÓN

Guatemala cuenta con múltiples áreas de endemismo alrededor del país debido a su compleja historia geográfica y a la presencia de numerosas barreras biogeográficas en la región; sin embargo, el estudio de la distribución de especies y la biodiversidad entomológica es escaso. Estudios realizados con *Passalidae* (Schuster, Cano y Cardona, 2000) y *Chrysina* (Schuster y Cano, 2006) han demostrado que los organismos de *Scarabaeoidea* pueden ser indicadores de áreas de endemismo y de alta importancia de conservación, especialmente de bosques nubosos. Ambos estudios encontraron una biogeografía compuesta de 6 áreas de endemismo, dividida en 11 subáreas; 5 de las cuales son compartidas con países vecinos a Guatemala.

En la actualidad, no hay información acerca de la biogeografía y la genética de ningún organismo perteneciente a *Lampyridae* en Guatemala, por lo que se desconoce si sus patrones biogeográficos coinciden con los de los organismos ya estudiados. Adicionalmente, la conectividad de las poblaciones y la vagilidad de las luciérnagas, no ha sido estudiada en Guatemala. Estudios realizados con *Luciola cruciata* en Japón (Suzuki, Sato y Ohba, 2001; Kato et al., 2020), han demostrado que las barreras biogeográficas causan diferenciación genética, cambios en la estructura poblacional y cambios en el comportamiento reproductivo en estas luciérnagas.

El estudio de la genética de las luciérnagas de los géneros *Photuris*, *Photinus* y *Bicellonycha* es especialmente importante debido a que su identificación morfológica y por medio de señalización sexual puede ser complicada. *Photuris* y *Bicellonycha* son conocidos debido a que las hembras pueden imitar el patrón de señalización sexual de otras especies para atraerlas y luego alimentarse de ellas (Lloyd, 1980). Además, la genitalia que es normalmente utilizada para la determinación de especies, es muy similar en las especies del género *Photuris* (Arnett et al., 2002). Debido a ello, no es posible saber con certeza la cantidad de especies de estos géneros existentes a nivel mundial. En Guatemala, no se han realizado estudios a nivel molecular con *Photuris*, *Photinus* y *Bicellonycha*, y los análisis de delimitaciones de especies para *Coleoptera* se han basado en su mayoría en caracteres morfológicos exclusivamente.

Por medio del conocimiento de los patrones biogeográficos de Lampyridae se podrá establecer si existe una relación entre los patrones de endemismo y de importancia de conservación entre Lampyridae, Passalidae y *Chrysina*. De esta manera, se tendría más evidencia de soporte para priorizar áreas de conservación en bosques nubosos y áreas de endemismo en Guatemala. Adicionalmente, se obtendrá el primer conocimiento acerca de la diversidad de *Photuris*, *Photinus* y *Bicellonycha* (Coleoptera: Lampyridae) para Guatemala, lo cual permitirá conocer más acerca de la familia Lampyridae, y acerca de la biodiversidad del país.

Con el fin de aumentar el conocimiento acerca de la diversidad entomológica y regiones de endemismo y conservación importantes para el país, se estudiará la diversidad genética y biogeografía de *Photuris* sp., *Photinus* sp. y *Bicellonycha* sp. (Coleoptera: Lampyridae) dentro de las áreas establecidas por Schuster, Cano y Cardona. Adicionalmente se estarán analizando, dentro de un enfoque biogeográfico, otros géneros dentro de Lampyridae que coocurren con ambos géneros.

## V. OBJETIVOS

### A. General

Estudiar la filogenética y biogeografía de Lampyridae en 4 regiones de endemismo de Guatemala

### B. Específicos

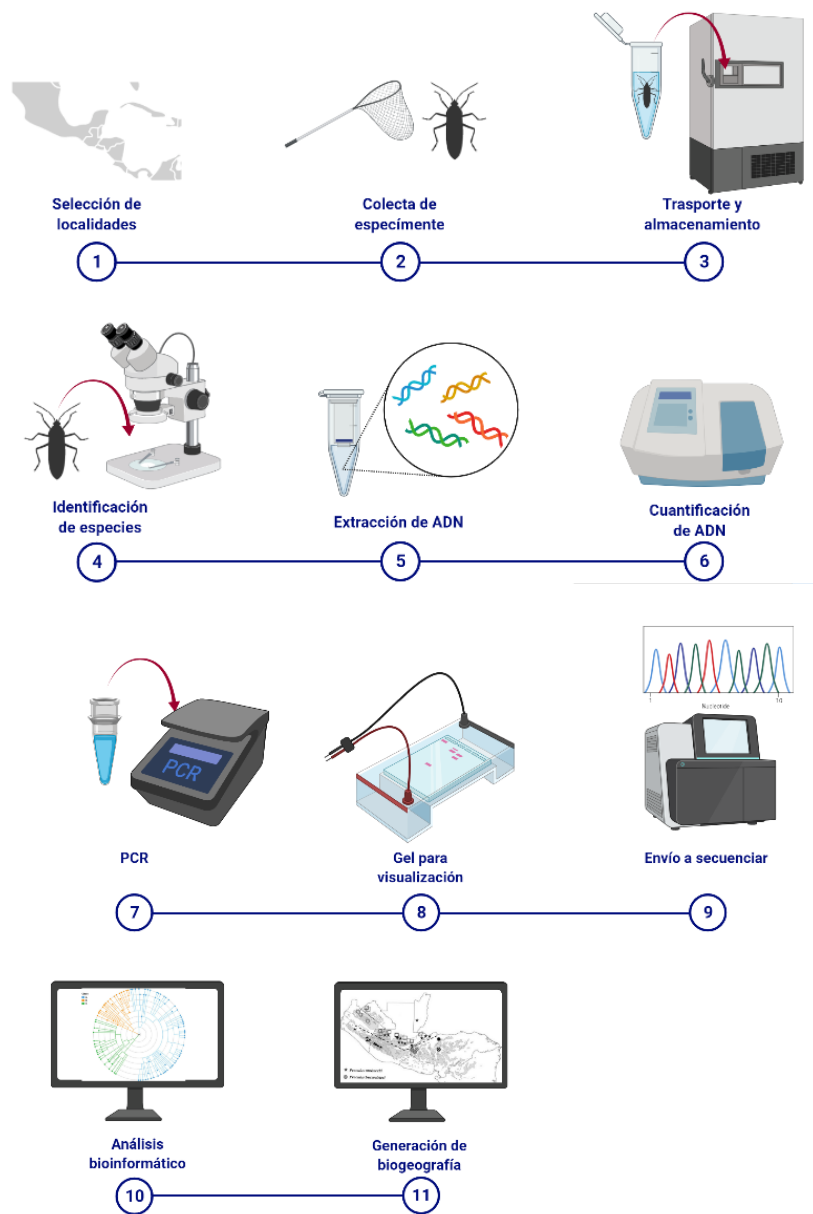
1. Contribuir al conocimiento de la diversidad entomológica del país y crear una línea base para el futuro estudio de lampíridos.
2. Establecer la distribución biogeográfica de los géneros *Photuris*, *Photinus* y *Bicellonycha* dentro de las 4 regiones de endemismo estudiadas.
3. Crear un árbol filogenético a partir de la región COI para *Photuris* spp., *Photinus* spp., *Bicellonycha* spp. y demás géneros colectados.

## VI. HIPÓTESIS

“La diferenciación genética en luciérnagas de los géneros *Photuris*, *Photinus* y *Bicellonycha*, medida por el marcador COI, estará correlacionada con la distancia geográfica y las barreras biogeográficas presentes.”

# VII. METODOLOGÍA

## Metodología de la investigación

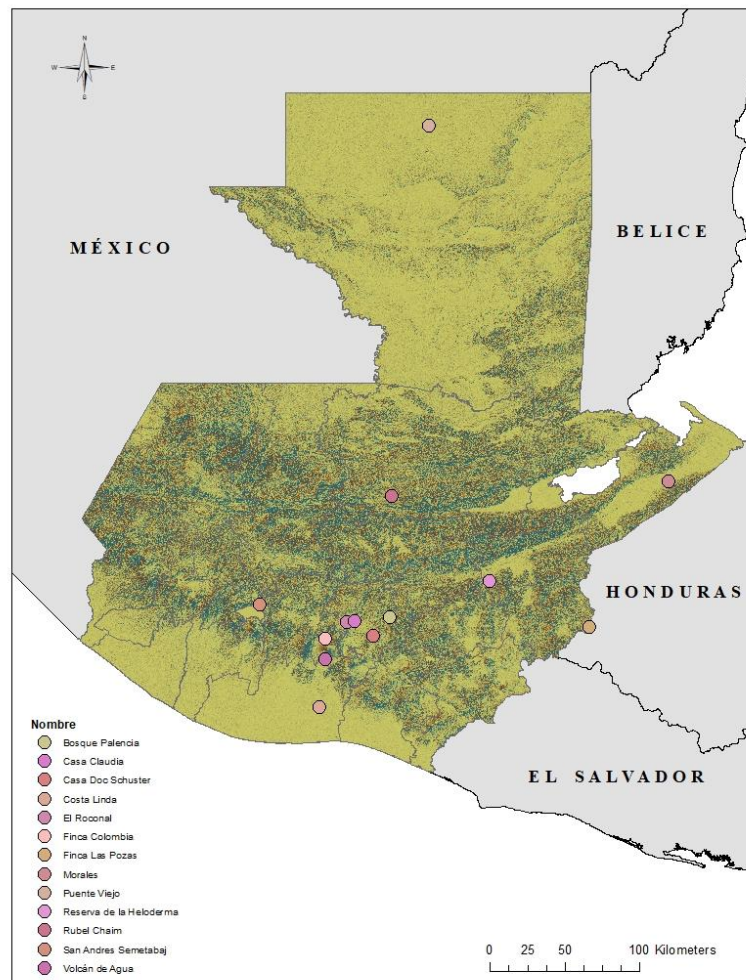


Created in BioRender.com bio

**Figura 7.** Diagrama de flujo resumido con representación gráfica de la metodología de investigación

## 1. Selección de sitios de muestreo y colecta de especímenes

Se estudiaron las áreas prioritarias de muestreo utilizando como base las regiones biogeográficas descritas por Schuster y Cano, 2006 para especímenes de *Chrysina* y Passalidae. Se seleccionaron las regiones, departamentos y localidades de fácil acceso. Los muestreos se llevaron a cabo en una localidad de Sacatepéquez, tres localidades de Guatemala, una localidad de Sololá, una localidad de Zacapa, dos localidades en Chiquimula, dos localidades en Escuintla, dos localidades en Izabal, una localidad en Alta Verapaz, una localidad en Huehuetenango y una localidad en Petén (Figura 6). Para todos los sitios se tomaron datos de coordenadas geográficas, temperatura, fecha, tipo de hábitat y condiciones climáticas generales.



**Figura 8.** Mapa de localidades de muestreo para este estudio

Para la colecta de especímenes se realizaron muestreos de 18:00 hrs a 20:00 hrs, utilizando redes entomológicas. La altura del vuelo, el patrón y coloración de la luminiscencia fue registrado en los casos en los cuales fue posible para contribuir en la identificación de individuos. Luego de la colecta los especímenes fueron colocados en tubos Eppendorf de 1.5 mL estériles junto con 1 mL de etanol al 96% para la correcta preservación del Ácido Desoxirribonucleico (ADN). Las muestras fueron rotuladas y transportadas a la Universidad del Valle de Guatemala y almacenadas a -20°C hasta su utilización.

## **2. Identificación morfológica**

Para la identificación de los individuos colectados se utilizaron guías de identificación para Lampyridae (Zaragoza-Caballero et al., 2020; Buschman, 2016; Luk et al., 2011). Se tomaron fotos en estereoscopio de las antenas completas, distancia interantenal, longitud de maxilares, espacios interoculares, ancho y largo del ojo, ancho y largo del pronoto, ancho y largo de la cabeza, grosor de esternitos del uno al seis y largo de los élitros para hacer el uso de las guías más fácil. Asimismo, se realizaron disecciones de edeagos para la identificación de especies a partir de individuos machos, se midieron los lóbulos laterales y el lóbulo central. Para ello, se extrajo el órgano de luz y se trató con una solución de KOH al 10% en un baño María por 10 minutos. A continuación, se eliminó el tejido queratinoso del órgano lumínico para exponer el edeago, montarlo en un cuadro de papel, observarlo en el estereoscopio y tomar fotos de todos los planos del mismo.

## **3. Extracción y cuantificación de ADN**

La extracción de ADN fue realizada con un kit comercial de extracción Promega Wizard Genomic DNA Purification, siguiendo las instrucciones proporcionadas para extracciones a partir de tejido animal. La cuantificación del ADN extraído se llevó a cabo utilizando un espectrofotómetro Nanodrop (Thermofisher) y 1 µL de ADN, utilizando el buffer de rehidratación del Kit de extracción como blanco y una absorbancia de 260 nm. Adicionalmente se midió la absorbancia a A260/A280 y A260/A230 para comprobar la pureza del ADN. Para comprobar la integridad del ADN se realizó un gel de agarosa al 1% y un transiluminador para la observación de las bandas.

#### 4. Amplificación PCR

Las muestras de ADN fueron diluidas a una concentración de 20 ng/μL antes de iniciar las reacciones de PCR. Para las reacciones se utilizó un volumen final de 20 μL, en donde 12.5μL GoTaq Master Mix, 4.5 μL agua ultrapura, 0.5 μL de cebador a utilizar y 2 μL de ADN. Se utilizó el cebador mitocondrial COI (Cuadro 1) para las reacciones PCR, obtenidos de investigaciones previas con organismos de Lampyridae (Chen et al., 2019; Lower, 2017).

El programa de PCR para COI consistió de 35 ciclos de 1 minuto a 94°C, 1 minuto a 44°C y 1 minuto a 72°C, con una extensión final de 5 a 7 minutos a 72°C (Stanger-Hall et al., 2007). Para la visualización del PCR se utilizaron geles de agarosa al 1%, dejando el gel correr por 45 minutos a 95 mV en el UPS. Las bandas resultantes fueron observadas en un transiluminador UV. La limpieza de los productos obtenidos fue realizada por MacroGen en Corea del Sur antes de su secuenciación. Las muestras fueron enviadas por medio de FedEx, Guatemala.

**Cuadro 1.** Secuencias de cebador utilizado en este estudio

<b>Gen</b>	<b>ID Cebador</b>	<b>Secuencia</b>
<b>COI</b>	C1-J-1500 (LCO)	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG
	C1-N-2150 (HCO)	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA

LCO corresponde al cebador forward, mientras que HCO corresponde al cebador reverse. (Baldwin et al., 1996)

#### 5. Análisis bioinformático

A partir de las secuencias obtenidas luego del envío a MacroGen, se generó una secuencia consenso en base a los cebadores forward y reverse, alineando ambas secuencias y recortándolas para obtener una mejor calidad utilizando MEGA X. Luego, estas secuencias fueron alineadas utilizando MAFFT 7.487 (Katoh et al., 2019). Se realizó una depuración de las secuencias pobremente alineadas o con agujeros dentro de ellas. Adicionalmente, se cortaron los extremos de las secuencias utilizando MEGA X. Se extrajeron secuencias de GenBank correspondientes a la familia Lampyridae para el



marcador utilizado dentro del estudio. Para esto se utilizó el algoritmo de UCLUST implementado en SUMAC (Freyman, 2015).

Para la determinación del modelo evolutivo se utilizó ModelFinder y JModelTest2, empleando AIC y BIC como criterios de información bayesiano (Posada, 2008). Los árboles de máxima verosimilitud fueron realizados en IQTree (Kozlov et al., 2019), utilizando 1000 réplicas de Bootstrap (UFBoot) y el modelo elegido por medio de ModelFinder. Se realizó un árbol filogenético de estadística Bayesiana por medio de Mr Bayes, con un número de 10 millones de generaciones (Ronquist et al., 2012). La modificación de los parámetros para el análisis se realizó por medio de Mesquite, utilizando el parámetro de modelo Lset nst = 6 (GTR + G + I).

Los outgroups utilizados correspondieron a Cantharidae, *Lycus fernandesi* y *Caenia amplicornis*. La edición de los árboles fue realizada en el software online iTOL y exportados en formato PNG a 1200 dpi.

## **6. Análisis biogeográfico**

Para la creación de la biogeografía de *Photinus* se utilizó la información obtenida por medio del análisis bioinformático para la delimitación de especies y los reportes históricos de especies disponibles para el continente. A partir de estos datos se creó una matriz de datos binaria para marcar la presencia o ausencia de múltiples especies en varias regiones del continente americano. Adicionalmente se generaron mapas para la visualización de la distribución de las especies colectadas en el estudio. Para la visualización de mapas se utilizó una capa de elevación con elevación en la cual se pueden apreciar las fallas biogeográficas del país en el programa ArcGis mostrando las diferentes especies identificadas por medio de pines de diferentes colores sobre los mismos. El mapa final fue adecuadamente editado para contener una escala, leyendas y brújula.

Se generaron redes de haplotipos por medio de PopArt para visualizar las diferencias genéticas entre las poblaciones y especies muestreadas. Adicionalmente se calculó el índice de diferenciación genética ( $\Phi_{st}$ ) para el gen COI entre las poblaciones de

cada género, así como los sitios segregantes, el número de haplotipos y diversidad de haplotipo de cada una de las poblaciones obtenidas en DNAsp.

## VIII. RESULTADOS

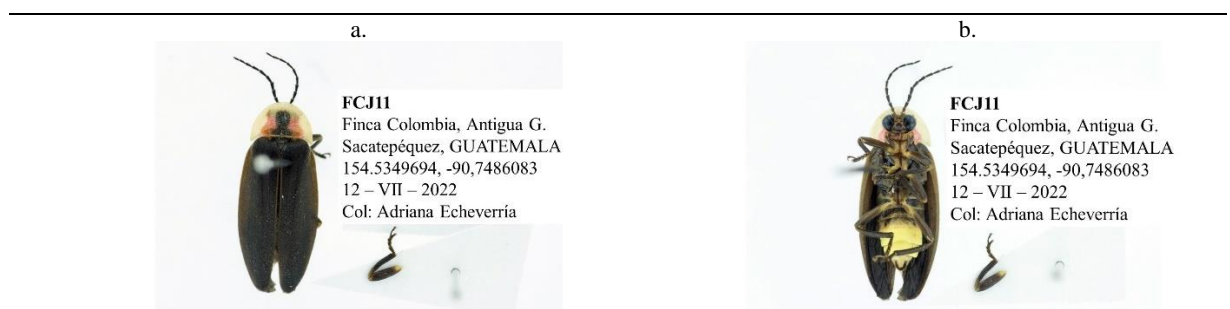
### A. COLECTA E IDENTIFICACIÓN DE MORFOESPECIES

Se colectaron un total de 464 individuos dentro de los 13 puntos de colecta alrededor del país. Se pudieron identificar al menos 24 especies correspondientes a los géneros *Aspisoma* (2), *Bicellonycha* (8), *Photinus* (7) y *Photuris* (7). Diecisiete especies fueron utilizadas para obtención de datos genéticos en donde se establecieron 5 morfoespecies de *Photinus*, 5 morfoespecies de *Bicellonycha*, 1 especie de *Aspisoma* y 6 morfoespecies de *Photuris*. Los géneros fueron determinados por medio de la observación de los poros estigmatiformes, las bifurcaciones en las uñas de los individuos y la forma general de los especímenes. Posteriormente, se observaron los edeagos de los individuos para los cuales estuviesen disponibles.



**Figura 9.** Morfología de un macho de *Bicellonycha gorhami*\*.

a) Vista dorsal de individuo FCJ12, *Bicellonycha gorhami*. b) Vista ventral de individuo FCJ12, *Bicellonycha gorhami*. (\*) Identificación no confirmada



**Figura 10.** Morfología de un macho de *Bicellonycha discicollis*\*.

a) Vista dorsal de individuo FCJ11, *Bicellonycha discicollis* b) Vista ventral de individuo FCJ11, *Bicellonycha discicollis*. (\*) identificación no confirmada

a.



b.



**Figura 11.** Morfología de un macho de *Bicellonycha* sp.

a) Vista dorsal de individuo LP54, *Bicellonycha* sp. b) Vista ventral de individuo LP54, *Bicellonycha* sp.

a.



b.



**Figura 12.** Morfología de un macho de *Bicellonycha* sp. 1

a) Vista dorsal de individuo FCE11, *Bicellonycha* sp. 1. b) Vista ventral de individuo FCE11, *Bicellonycha* sp. 1

a.



b.



**Figura 13.** Morfología de una hembra de *Photinus* sp.

a) Vista dorsal de individuo LP20, *Photinus* sp. 1 b) Vista ventral de individuo LP20, *Photinus* sp. 1

---

a.



b.



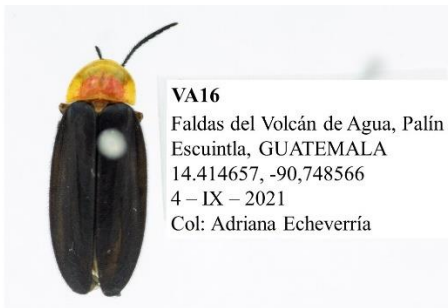
---

**Figura 14.** Morfología de una hembra de *Photinus* sp.

a) Vista dorsal de individuo RC03, *Photinus* sp. b) Vista ventral de individuo RC03, *Photinus* sp.

---

a.



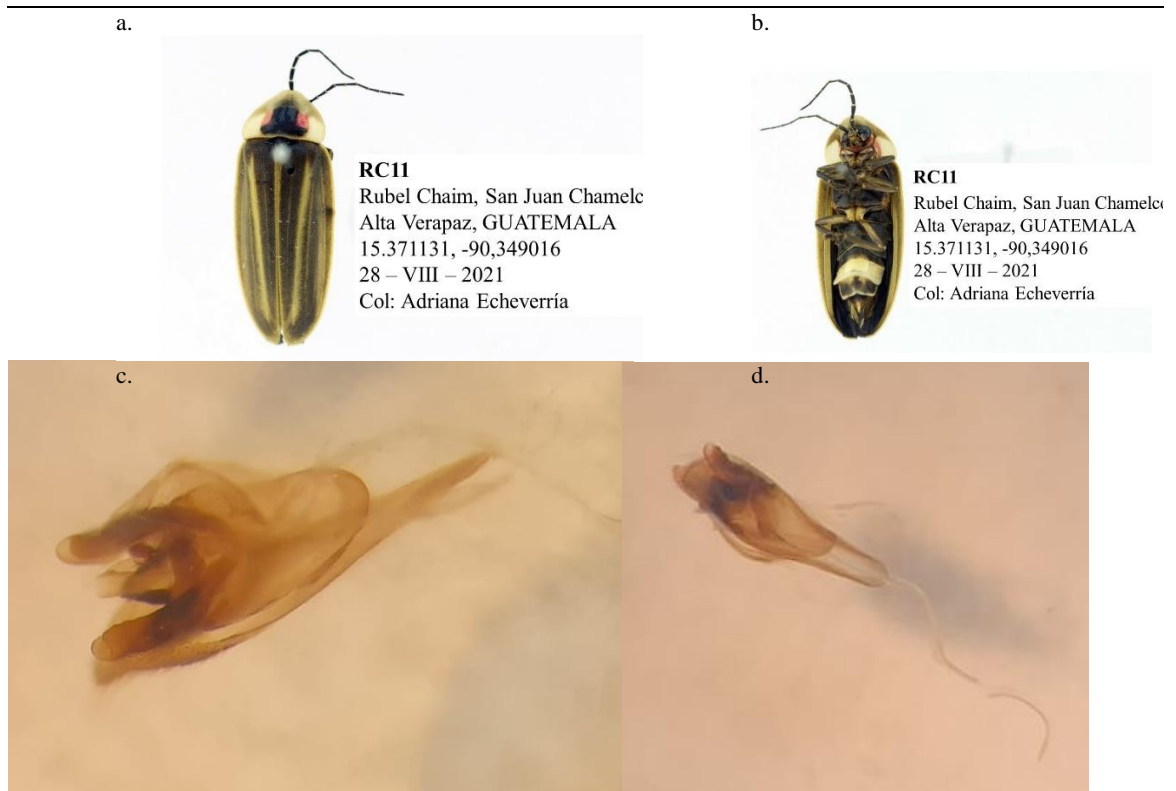
b.



---

**Figura 15.** Morfología de un macho de “*Photinus*” sp.

a) Vista dorsal de individuo VA16, *Photinus* sp. b) Vista ventral de individuo VA16, *Photinus* sp.



**Figura 16.** Morfología de una hembra de *Photinus congruus*\*

a) Vista dorsal de individuo RC11, *Photinus congruus* b) Vista ventral de individuo RC11, *Photinus congruus*, c) Vista ventral de edeago de individuo RC10, *Photinus congruus* d) Vista lateral de edeago de individuo RC10, *Photinus congruus* (\*) Identificación no confirmada

a.



**CD08**  
Casa Dr. Schuster, Guatemala  
Guatemala, GUATEMALA  
14.556649, -90.463117  
V – 2021  
Col: Andrés Gutiérrez

b.



**CD08**  
Casa Dr. Schuster, Guatemala  
Guatemala, GUATEMALA  
14.556649, -90.463117  
V – 2021  
Col: Andrés Gutiérrez

c.



**PER11**  
El Roconal, Guatemala  
Guatemala, GUATEMALA  
14.6360477, -90.6159431  
2 – VI – 2021  
Col: Claudia Pérez

d.

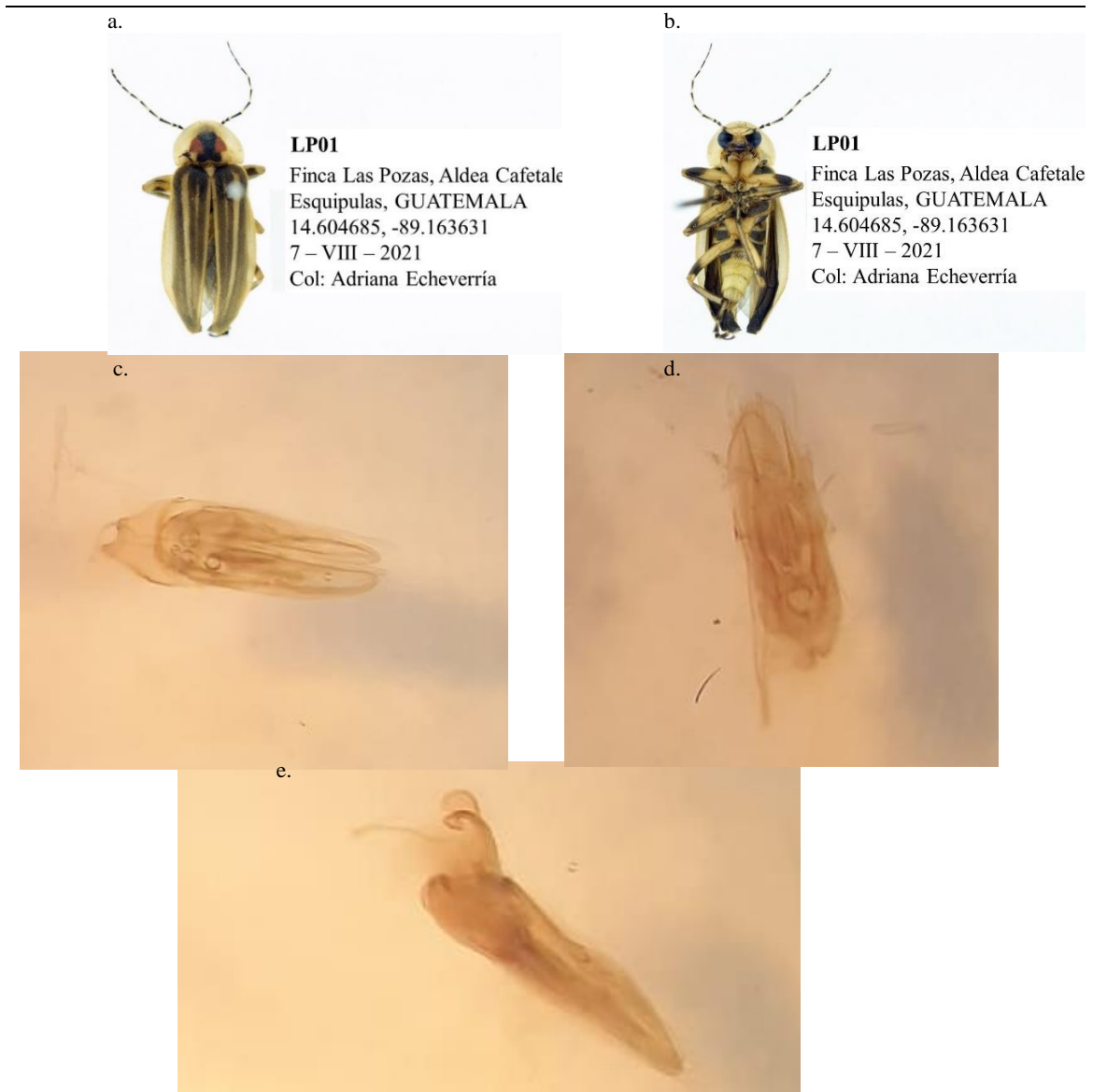


**PER11**  
El Roconal, Guatemala  
Guatemala, GUATEMALA  
14.6360477, -90.6159431  
2 – VI – 2021  
Col: Claudia Pérez

e.



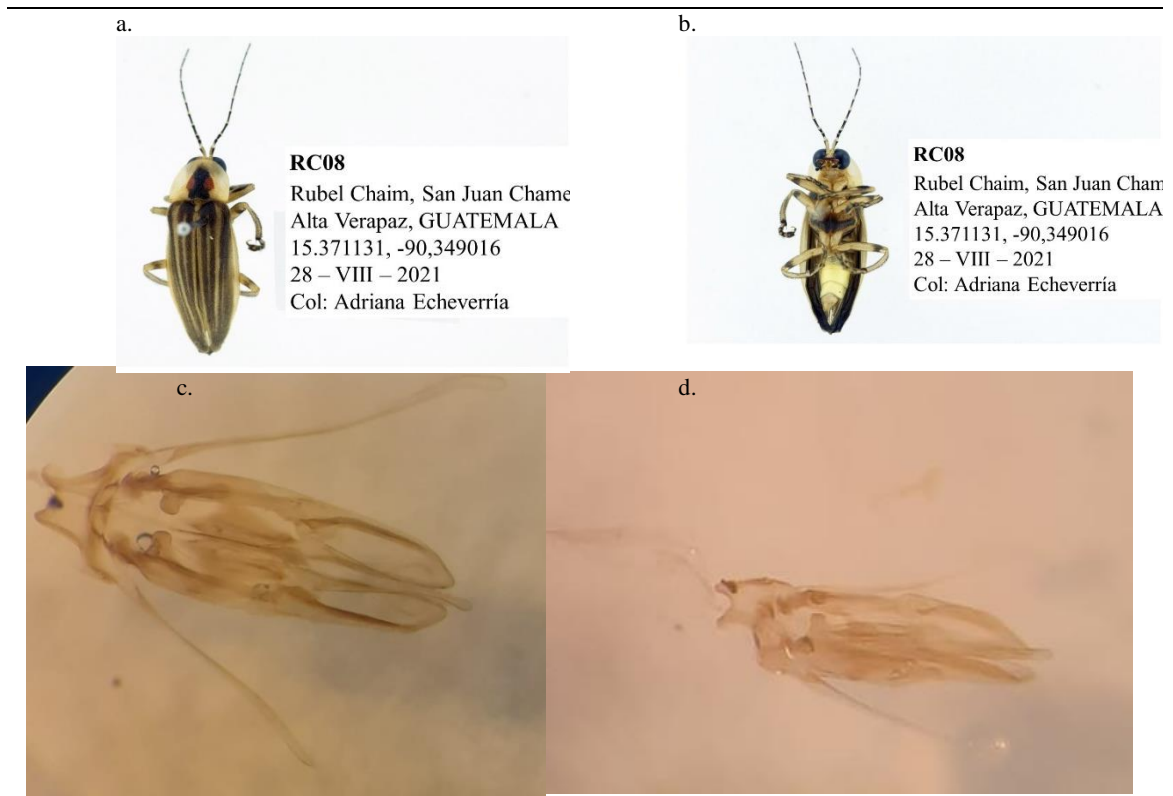
**Figura 17.** Morfología de una hembra de *Photuris* sp. 1  
a) Vista dorsal de individuo CD08, *Photuris* sp. 1 b) Vista ventral de individuo CD08, *Photuris* sp. 1, c) Vista dorsal de individuo PER11, *Photuris* sp. 1 d) Vista ventral de individuo PER11, *Photuris*, e) Vista dorsal del edeago de individuo FC01, *Photuris* sp.1



**Figura 18.** Morfología de un macho de *Photuris* sp. 2

a) Vista dorsal de individuo LP01, *Photuris* sp. 2 b) Vista ventral de individuo LP01, *Photuris* sp. 2, c) Vista dorsal de edeago de individuo MLP33, *Photuris* sp. 2 d) Vista ventral de edeago de individuo MLP21, *Photuris* sp. 2 e) Vista lateral de edeago de individuo MLP21, *Photuris* sp. 2





**Figura 19.** Morfología de un macho de *Photuris* sp. 3

a) Vista dorsal de individuo RC08, *Photuris* sp. 2 b) Vista ventral de individuo RC08, *Photuris* sp. 2, c) Vista ventral de edeago de individuo RC06, *Photuris* sp. 3 d) Vista lateral de edeago de individuo RC06, *Photuris* sp. 3

a.



b.



c.



d.



**Figura 19.** Morfología de un macho y hembra de *Photuris* sp. 4

a) Vista dorsal de individuo MI24, *Photuris* sp. 4 b) Vista ventral de individuo MI24, *Photuris* sp. 4, c) Vista dorsal de individuo MI26, *Photuris* sp. 4 d) Vista ventral de individuo MI26, *Photuris* sp. 4,

a.



b.



**Figura 20.** Morfología de una hembra de *Photuris* sp. 6

a) Vista dorsal de individuo RC07, *Photuris* sp. 6 b) Vista ventral de individuo RC07, *Photuris* sp. 6

a.



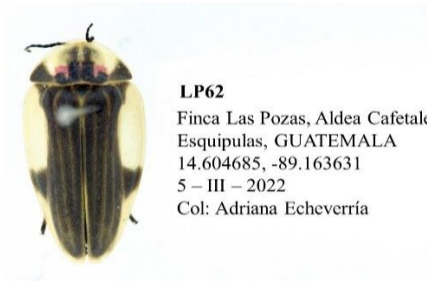
b.



**Figura 21.** Morfología de un macho de *Photuris* sp.

a) Vista dorsal de individuo VA14, *Photuris* sp. b) Vista ventral de individuo VA14, *Photuris* sp.

a.



b.



**Figura 22.** Morfología de un macho de *Aspisoma*

a) Vista dorsal de individuo LP62, *Aspisoma*. b) Vista ventral de individuo LP62, *Aspisoma*

## B. RECONSTRUCCIONES FILOGENÉTICAS

Se utilizaron individuos de cada morfoespecie identificada para realizar árboles filogenéticos para cada uno de los taxones de interés. Además, se recopilaron secuencias para el gen COI para especies de la familia Lampyridae por medio de NCBI. Un total de 173 (59 presente estudio, 114 NCBI) secuencias de una longitud 349 pb fueron utilizadas para las reconstrucciones genéticas.

Se seleccionó el modelo evolutivo GTR + F + R4 por medio de ModelTest en IQTree. El árbol filogenético por Máxima Verosimilitud para la familia Lampyridae (Anexo 11) presentó una división clara entre las dos subfamilias evaluadas (Lampyrinae y Photurinae). Para la subfamilia Photurinae (Figura 22) el agrupamiento de las morfoespecies concordó con lo esperado, a excepción del individuo MI25 identificado como *Photuris* sp. 4 y agrupado genéticamente con *Photuris* sp. 3. Adicionalmente, el individuo RC04 identificado como *Photuris* sp. 6, se agrupó junto a los individuos identificados como *Bicellonycha* spp. en este estudio y los individuos del mismo género extraídos de la base de datos de NCBI.

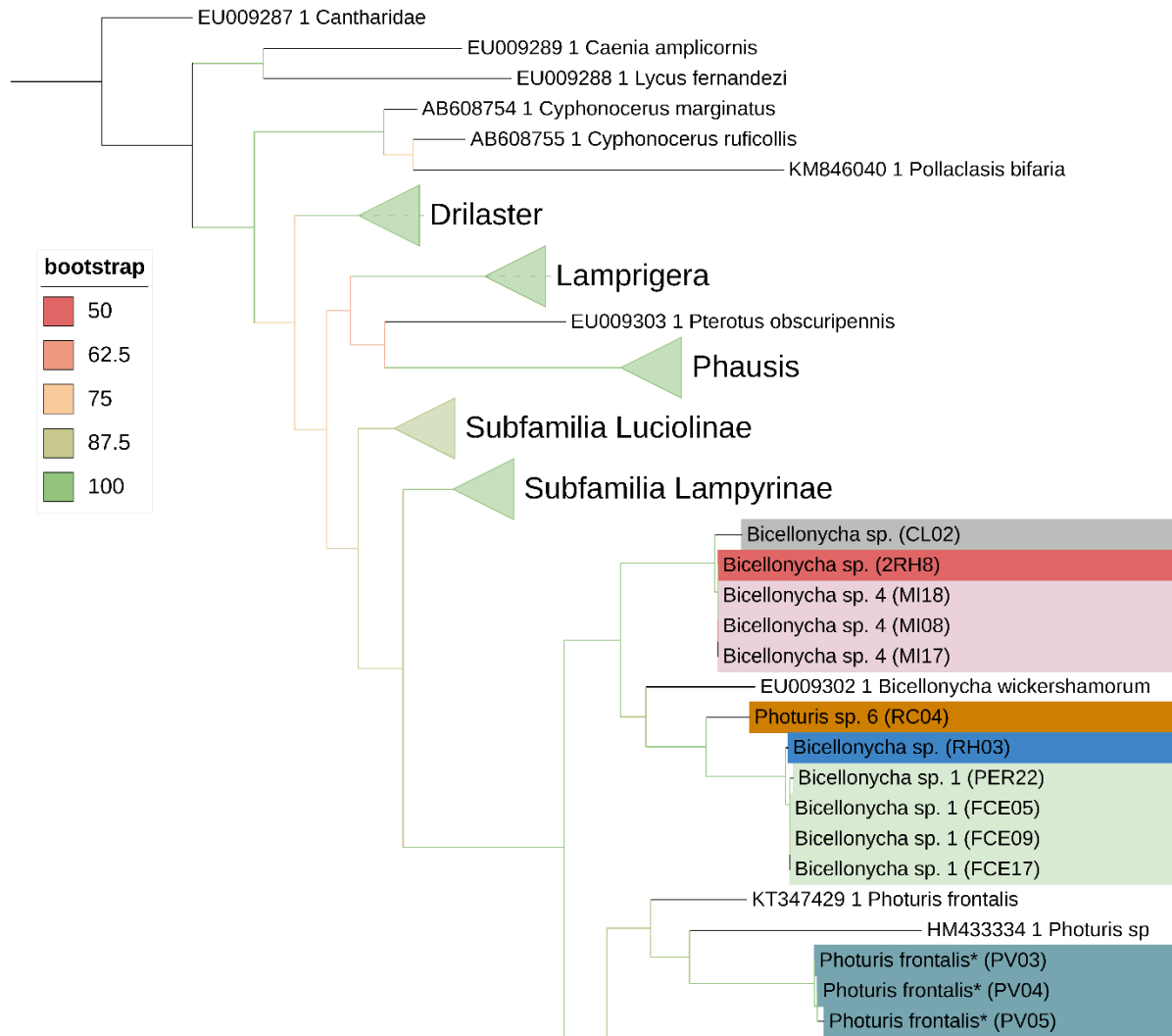
Por otro lado, para la subfamilia Lampyrinae (Figura 23), se agruparon las morfoespecies de la manera esperada. El individuo RC13 presentó una mayor similitud morfológica y genética con los individuos de *Photinus* sp. 4. Sin embargo, no fue considerado como un miembro de esta morfoespecie debido a las diferencias morfológicas, genéticas y el sitio de muestreo en la cual se encontró.

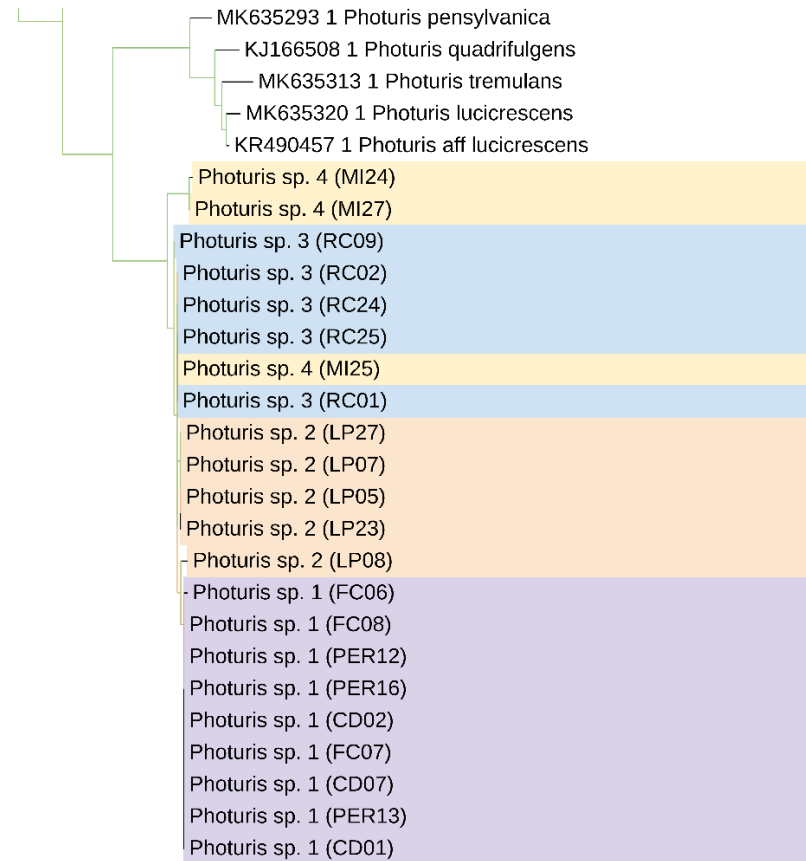
Con respecto a las construcciones filogenéticas generadas por medio del método Bayesiano, se seleccionó el modelo GTR + I + G. Se logró obtener valores de probabilidad en los nodos mayores al 60% en la mayoría de los casos; así como valores de ESS > 100 y PSRF+ cercanos a 1. Para la subfamilia Lampyrinae (Figura 25), se obtuvo una topología similar a la generada por medio del método de máxima verosimilitud. Sin embargo, se pudo observar un cambio en el posicionamiento de los individuos identificados como *Photinus*

*congruus*, en donde estos se agrupan junto a *Photinus* sp. 4 y *Photinus* sp. Se pueden observar valores de probabilidad dentro de los 50 para el clado de *Photinus*.

En el caso del árbol generado para la subfamilia Photurinae (Figura 24), se observa un agrupamiento diferente al obtenido por medio del método de máxima verosimilitud para los individuos de *Photuris* sp. 3, en donde estos están intercalados con individuos correspondientes a *Photuris* sp. 2 y sp. 4. De la misma forma que en el árbol de máxima verosimilitud, el individuo de *Photuris* sp. 6 fue agrupado junto a los individuos del género *Bicellonycha*. Los valores de probabilidad se encuentran sobre el 70% en la mayoría de los clados; sin embargo, se pueden observar politomías para las especies de *Photuris* sp. 2 y *Photuris* sp. 3.

Tree scale: 0.1

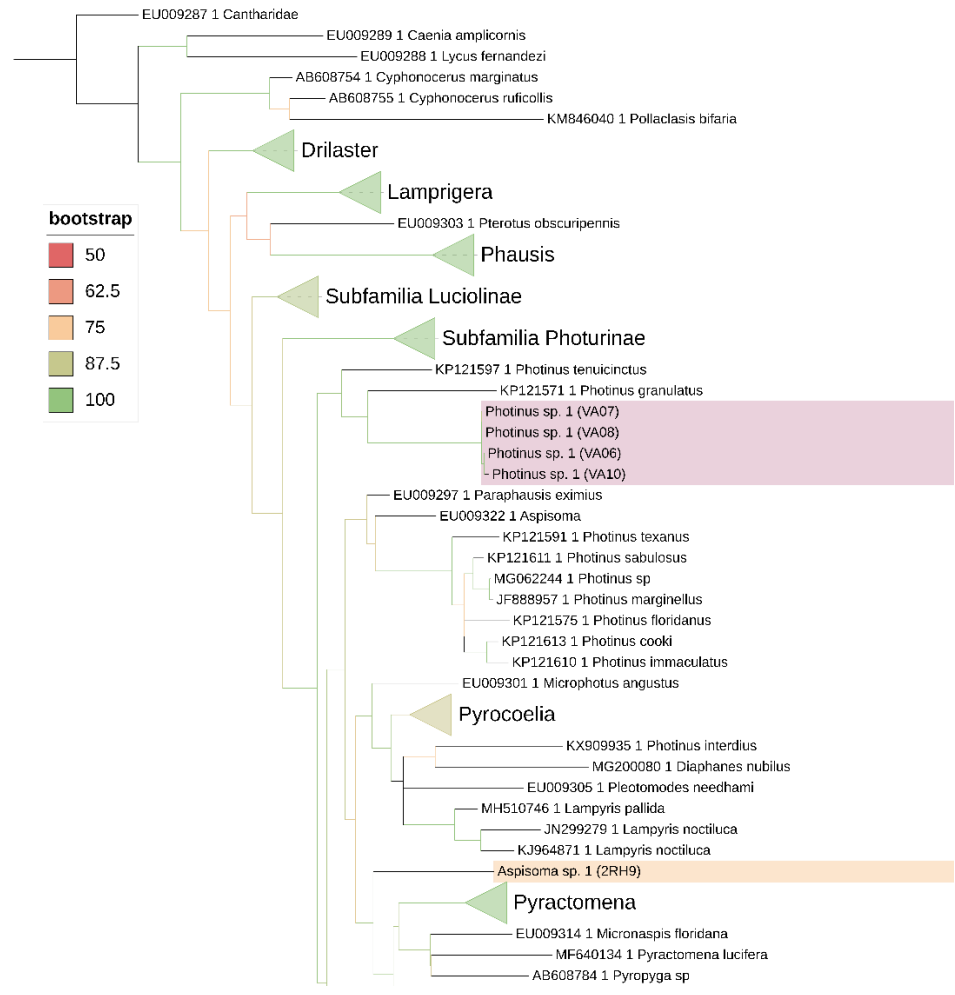




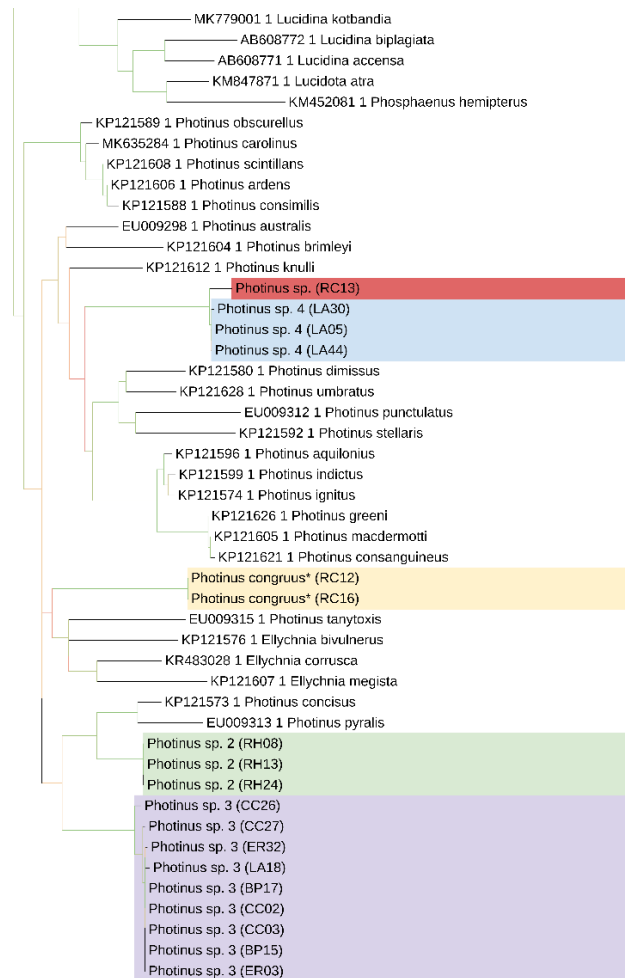
**Figura 23.** Árbol filogenético del gen COI generado por el método de Máxima Verosimilitud para la subfamilia Photurinae

Los valores de Bootstrap están representados por medio de coloraciones de rojo a verde. Las ramificaciones coloreadas corresponden a las secuencias generadas durante este estudio, en donde cada color corresponde a una morfoespecie identificada por medio de métodos convencionales. Rosado = *Bicellonycha* sp. 4, Amarillo = *Photuris* sp. 4, Lila = *Photuris* sp. 1, Verde = *Bicellonycha* sp. 1, Ladrillo = *Photuris* sp. 6, Celeste = *Photuris* sp. 3, Anaranjado = *Photuris* sp. 2, Azul = *Bicellonycha* sp., Verde oscuro = *Photuris frontalis*, Rojo = *Bicellonycha* sp., Gris = *Bicellonycha* sp. (\*) Identificación no confirmada.

Tree scale: 0.1



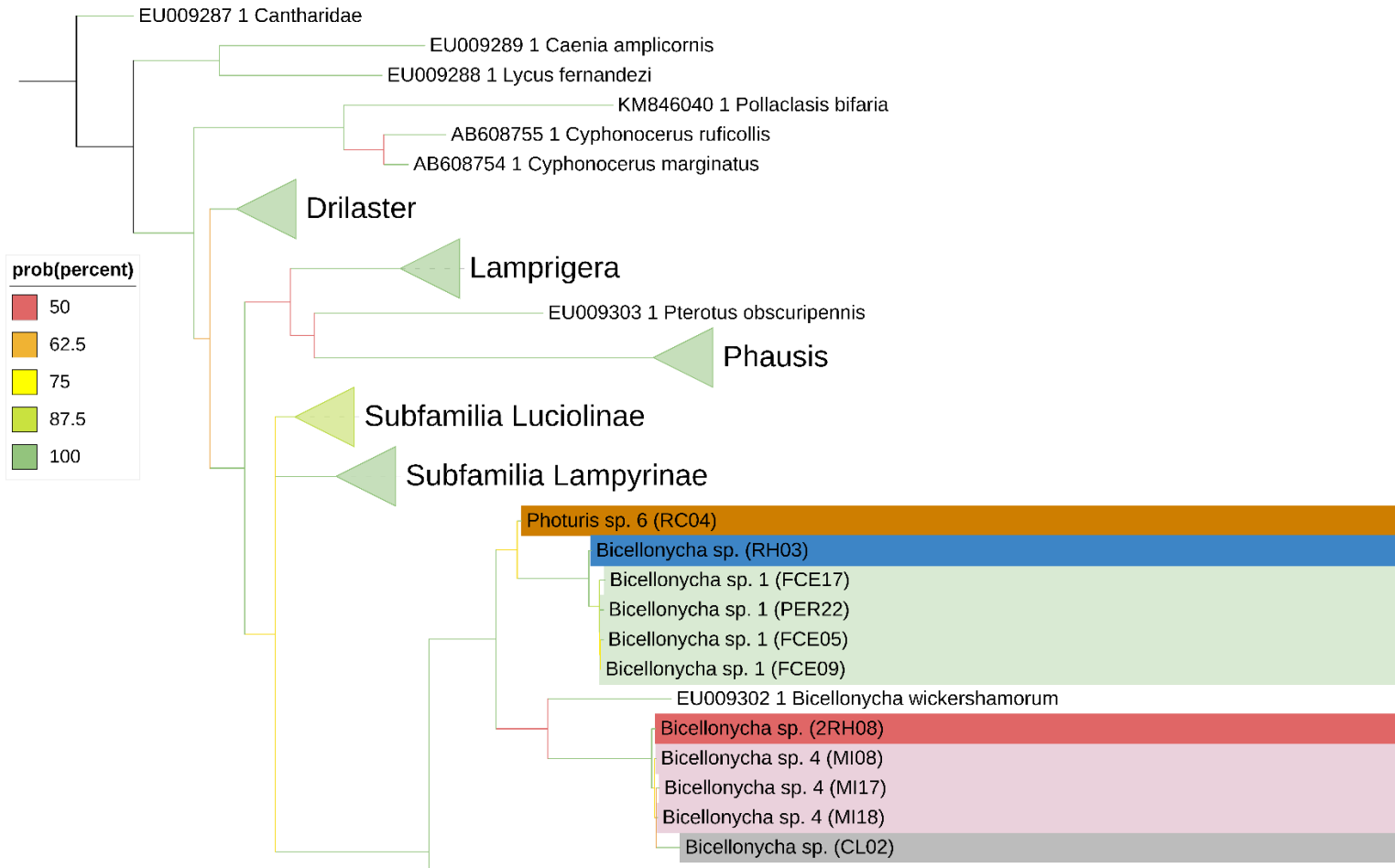


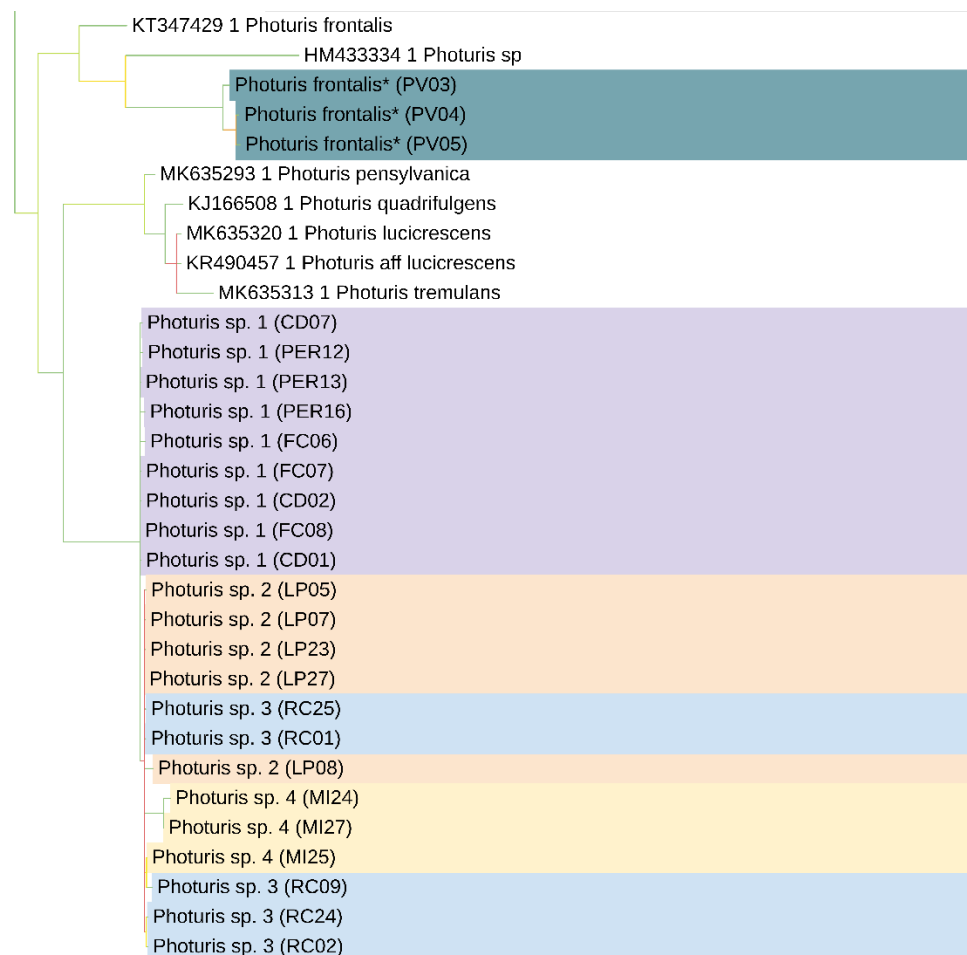


**Figura 24.** Árbol filogenético del gen COI generado por el método de Máxima Verosimilitud para la subfamilia Lampyrinae

Los valores de Bootstrap están representados por medio de coloraciones de rojo a verde. Las ramificaciones coloreadas corresponden a las secuencias generadas durante este estudio, en donde cada color corresponde a una morfoespecie identificada por medio de métodos convencionales. Rosado = *Photinus* sp. 1, Anaranjado = *Aspisma* sp., Lila = *Photinus* sp. 3, Verde = *Photinus* sp. 2, amarillo = *Photinus congruus*, Celeste = *Photinus* sp. 4, Rojo = *Photinus* sp. (\*) Identificación no confirmada.

Tree scale: 1

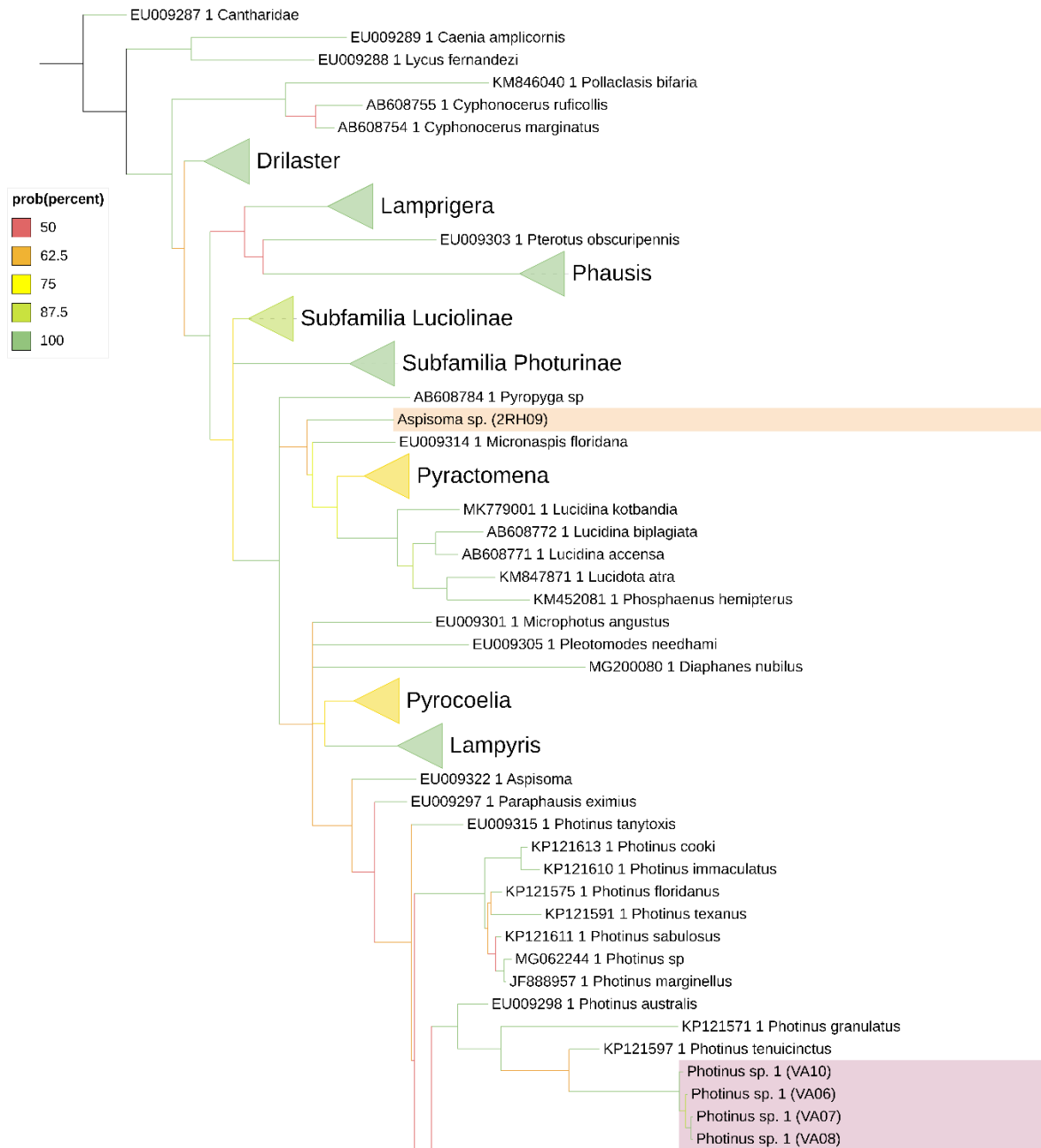


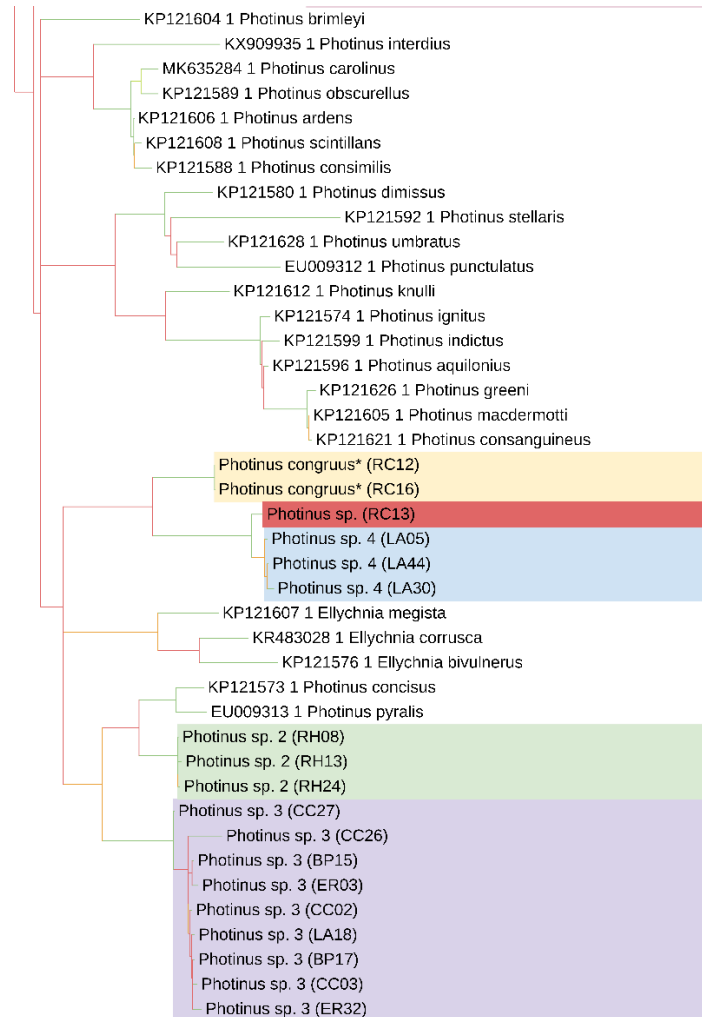


**Figura 25.** Árbol filogenético del gen COI generado por el método Bayesiano para la subfamilia Photurinae

Los valores de probabilidad (%) están representados por medio de coloraciones de rojo a verde. Las ramificaciones coloreadas corresponden a las secuencias generadas durante este estudio, en donde cada color corresponde a una morfoespecie identificada por medio de métodos convencionales. Rosado = *Bicellonycha sp. 4*, Amarillo = *Photuris sp. 4*, Lila = *Photuris sp. 1*, Verde = *Bicellonycha sp. 1*, Ladrillo = *Photuris sp. 6*, Celeste = *Photuris sp. 3*, Anaranjado = *Photuris sp. 2*, Azul = *Bicellonycha sp.*, Verde oscuro = *Photuris frontalis*, Rojo = *Bicellonycha sp.*, Gris = *Bicellonycha sp.* (\*) Identificación no confirmada.

Tree scale: 1





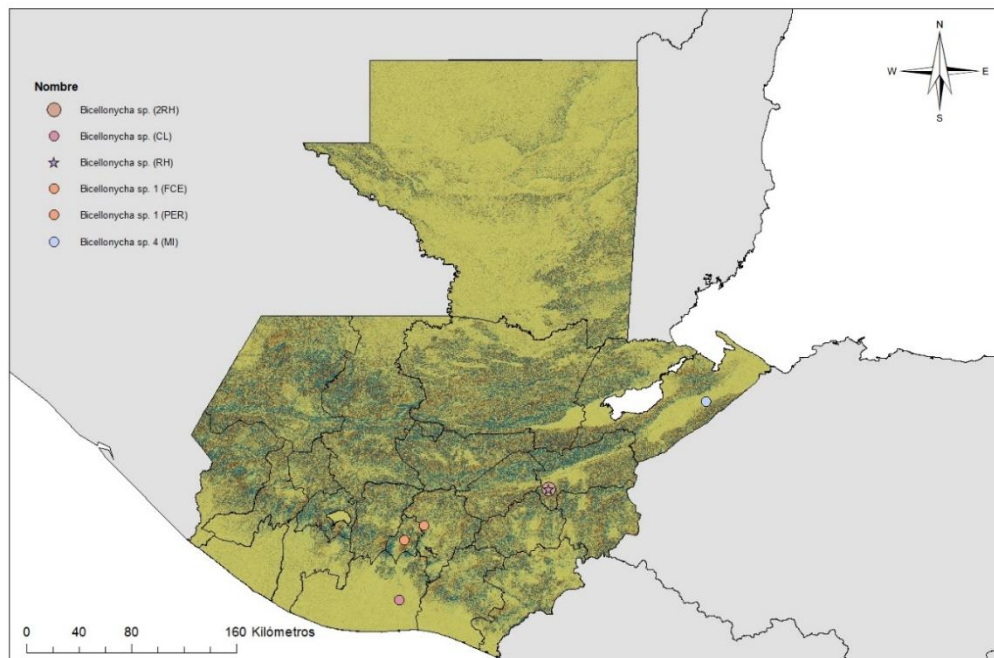
**Figura 26.** Árbol filogenético del gen COI generado por el método Bayesiano para la subfamilia Lampyrinae

Los valores de probabilidad (%) están representados por medio de coloraciones de rojo a verde. Las ramificaciones coloreadas corresponden a las secuencias generadas durante este estudio, en donde cada color corresponde a una morfoespecie identificada por medio de métodos convencionales. Rosado = *Photinus* sp. 1, Anaranjado = *Aspisma* sp., Lila = *Photinus* sp. 3, Verde = *Photinus* sp. 2, amarillo = *Photinus congruus*, Celeste = *Photinus* sp. 4, Rojo = *Photinus* sp. (\*) Identificación no confirmada.

## C. BIOGEOGRAFÍA, DISTRIBUCIÓN DE ESPECIES Y DIFERENCIACIÓN GENÉTICA

Luego de la identificación de las especies colectadas se realizaron múltiples mapas (figuras 26, 27 y 28) para obtener una representación visual de la distribución de las especies colectadas. A excepción de los individuos de *Bicellonycha* sp. 1, *Photuris* sp. 1 y *Photinus* sp. 3, ninguna especie estuvo presente en más de un punto de colecta.

Los análisis de diversidad genética para los géneros *Bicellonycha* (cuadro 2), *Photinus* (cuadro 4) y *Photuris* (cuadro 6) establecen una alta diferenciación genética entre las poblaciones muestreadas para cada género. Se calculó el índice de diferenciación genética ( $\phi_{st}$ ) para el gen COI entre las poblaciones de cada género (cuadros 3, 5 y 7). Adicionalmente, se realizaron redes de haplotipos con las secuencias generadas en este estudio para los 3 géneros (*Bicellonycha*, *Photinus* y *Photuris*).



**Figura 27.** Distribución de las especies de *Bicellonycha* colectadas en este estudio. Las especies colectadas se muestran dentro del mapa con diferentes coloraciones. Para los sitios de muestreo que presentaron más de una especie del mismo género, se utilizó una estrella para la correcta visualización de las especies dentro del mapa.

El análisis de diversidad genética de *Bicellonycha* presentó un bajo número de sitios segregantes (S) y haplotipos (h) dentro de poblaciones, pero un número total de 60 sitios segregantes entre poblaciones y 10 haplotipos. La población que presentó una diversidad más alta fue la de Morales, Izabal (MI) en donde se presentaron 4 sitios segregantes y 3 haplotipos diferentes dentro de la población. Las poblaciones de Reserva Heloderma y Costa Linda únicamente presentaron un haplotipo y no presentaron sitios segregantes debido a la baja cantidad de muestras disponibles para las mismas.

**Cuadro 2.** Análisis de diversidad genética del gen COI en poblaciones de *Bicellonycha*.

<b>Localidad</b>	<b>S</b>	<b>h</b>	<b>k</b>	<b><math>\pi</math></b>
<b>RH1</b>	0	1	0.0000	0.0000
<b>CL</b>	0	1	0.0000	0.0000
<b>RH2</b>	0	1	0.0000	0.0000
<b>RC</b>	1	2	1.0000	0.0029
<b>ER</b>	0	1	0.0000	0.0000
<b>MI</b>	4	3	1.6000	0.0046
<b>FC</b>	1	2	0.3333	0.0009
<b>General</b>	60	10	27.2727	0.0784

(S) Sitios polimórficos, (h) número de haplotipos, (k) número promedio de diferencias nucleotídicas y ( $\pi$ ) diversidad de nucleótidos

Con respecto al índice de fijación ( $\phi_{st}$ ) para las poblaciones de *Bicellonycha*, se observó una alta diferenciación en la estructura genética de las poblaciones muestreadas. Los valores cercanos a 1 indican que no existe un flujo genético entre poblaciones. Se puede observar un valor de  $\phi_{st}$  de 1.0 en varias de las poblaciones comparadas. Las poblaciones de Morales, Izabal (MI) y una de las poblaciones de Reserva de la Heloderma (RH1) presentaron en valor de fijación ( $\phi_{st}$ ) más bajo, siendo este de 0.2. Sin embargo, este valor aún se encuentra en el rango de diferenciación genética alta.

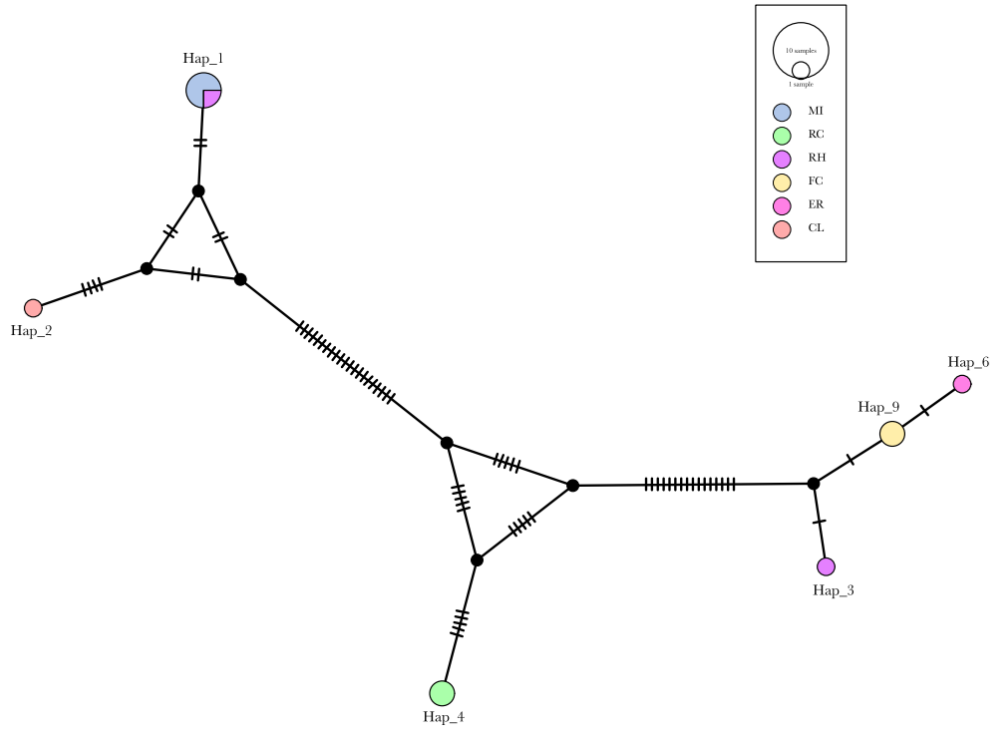
**Cuadro 3.** Índice de fijación ( $\phi_{st}$ ) del gen COI en poblaciones de *Bicellonycha*.

	<b>RH1</b>	<b>CL</b>	<b>RH2</b>	<b>RC</b>	<b>ER</b>	<b>MI</b>	<b>FC</b>
<b>RH1</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>CL</b>	1.0000	-	-	-	-	-	-
<b>RH2</b>	1.0000	1.0000	-	-	-	-	-
<b>RC</b>	0.9859	0.9867	0.9825	-	-	-	-
<b>ER</b>	1.0000	1.0000	1.0000	0.9831	-	-	-
<b>MI</b>	0.2000	0.9111	0.9833	0.9644	0.9833	-	-
<b>FC</b>	0.9965	0.9965	0.9231	0.9767	0.8571	0.9799	-

Los valores de 0 a 0.15 son considerados diferenciación genética moderada, de 0.15 a 0.25 diferenciación genética alta y los valores mayores a 0.25 diferenciación genética muy grande.

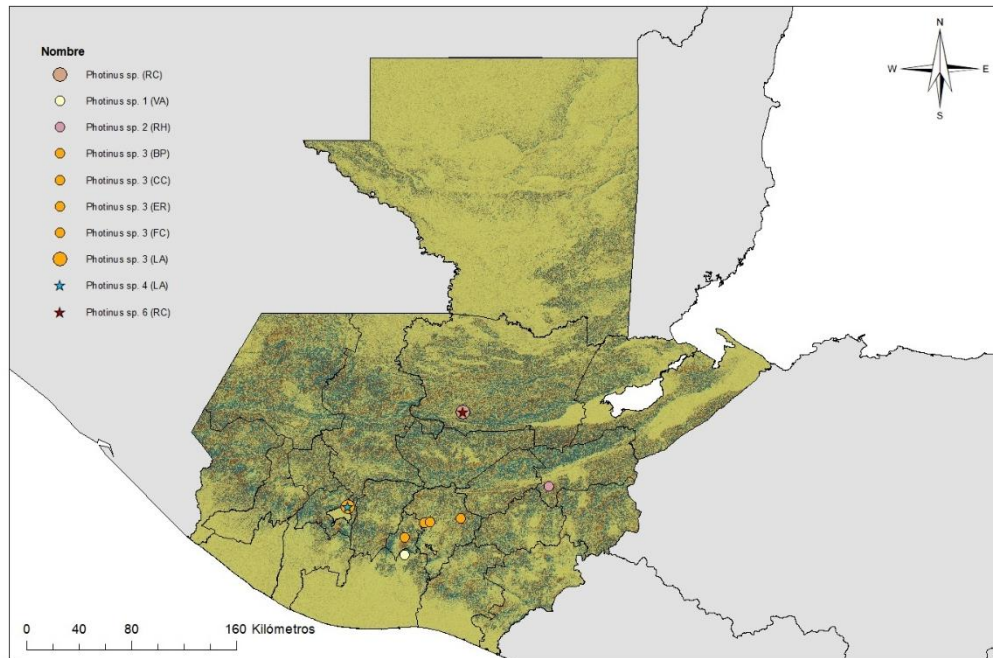
La red de haplotipos generada para *Bicellonycha* presentó una estructura congruente a lo observado en las reconstrucciones filogenéticas de máxima verosimilitud y método Bayesiano. Se puede observar que el haplotipo 1 es compartido entre las poblaciones de Morales, Izabal (MI) y Reserva de la Heloderma (RH); mientras que el resto de los haplotipos están presentes únicamente en una población. Los haplotipos de las poblaciones de la meseta central (FC y ER) presentaron únicamente 2 mutaciones entre ellos, siendo más cercanamente relacionados con uno de los haplotipos presentes en Reserva de la Heloderma. Por otro lado, el haplotipo correspondiente a la población de Rubel Chaim presentó una mayor distancia genética al resto de los haplotipos, siendo separado por más de 10 mutaciones de los haplotipos que lo rodean.





**Figura 28.** Red de haplotipos para las especies de *Bicellonycha* colectadas en este estudio.

Los haplotipos se muestran en círculos naranjas, con tamaños correspondientes a la cantidad de individuos que pertenecen a cada uno de ellos. Las mutaciones presentes entre los haplotipos se muestran como líneas transversales sobre las ramificaciones en la red.



**Figura 29.** Distribución de las especies de *Photinus* colectadas en este estudio.

Las especies colectadas se muestran dentro del mapa con diferentes coloraciones. Para los sitios de muestreo que presentaron más de una especie del mismo género, se utilizó una estrella para la correcta visualización de las especies dentro del mapa.

El análisis de diversidad genética de *Photinus* presentó un bajo número de sitios segregantes (S) dentro de poblaciones, a excepción de la población de Casa Claudia (CC). Se obtuvo un número total de 108 sitios segregantes entre poblaciones y 14 haplotipos identificados. La población que presentó una diversidad más alta fue la de Casa Claudia (CC) en donde se presentaron 8 sitios segregantes y 3 haplotipos diferentes dentro de la población. Las poblaciones de Reserva Heloderma, Bosque Palencia y Rubel Chaim únicamente presentaron un haplotipo y no presentaron sitios segregantes debido a la baja cantidad de muestras disponibles para las mismas.

**Cuadro 4.** Análisis de diversidad genética del gen COI en poblaciones de *Photinus*

<b>Localidad</b>	<b>S</b>	<b>h</b>	<b>k</b>	<b><math>\pi</math></b>
<b>VA</b>	3	3	1.4256	0.0041
<b>LA1</b>	1	2	0.5333	0.0015
<b>LA2</b>	0	1	0.0000	0.0000
<b>RH</b>	0	1	0.0000	0.0000
<b>CC</b>	8	3	3.5714	0.0103
<b>ER</b>	1	2	0.6666	0.0019
<b>BP</b>	0	1	0.0000	0.0000
<b>RC1</b>	3	2	3.0000	0.0086
<b>RC2</b>	0	1	0.0000	0.0000
<b>General</b>	108	14	41.2780	0.1186

(S) Sitios polimórficos, (h) número de haplotipos, (k) número promedio de diferencias nucleotídicas y ( $\pi$ ) diversidad de nucleótidos

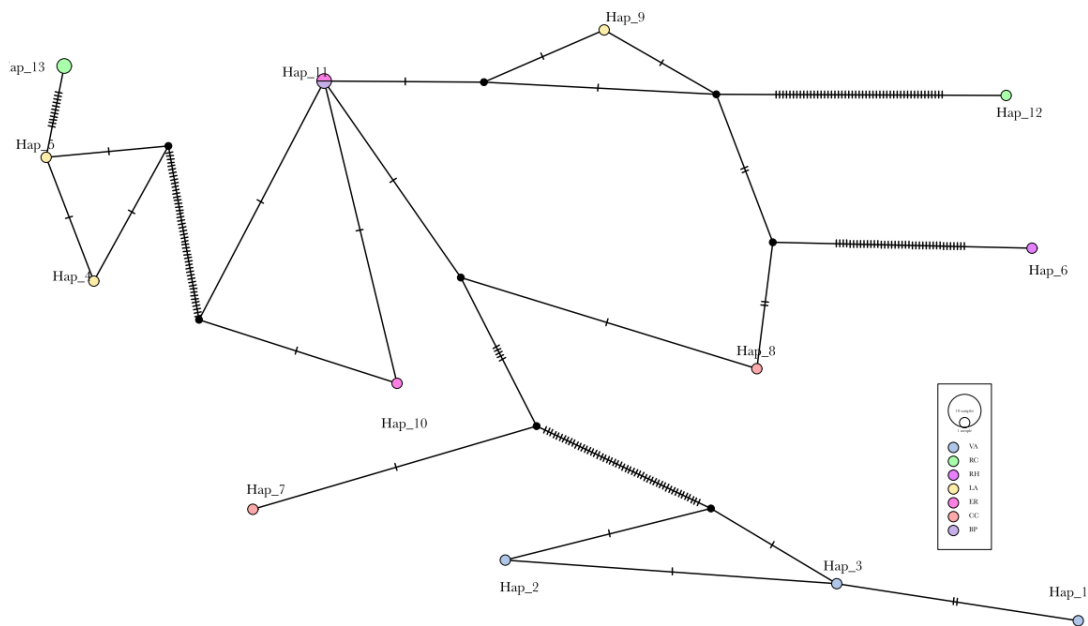
Con respecto al índice de fijación ( $\phi_{st}$ ) para las poblaciones de *Photinus*, se observó una alta diferenciación en la estructura genética de las poblaciones muestreadas. Los valores cercanos a 1 indican que no existe un flujo genético entre poblaciones. Se puede observar un valor de  $\phi_{st}$  de 1.0 en varias de las poblaciones comparadas. Las poblaciones de Casa Claudia (CC), El Roconal (ER) y Bosque Palencia (BP) presentaron en valor de fijación ( $\phi_{st}$ ) más bajo al compararse entre ellas, siendo este entre 0.2 y 0.35. Sin embargo, estos valores aún se encuentran en el rango de diferenciación genética alta.

**Cuadro 5.** Índice de fijación ( $\phi_{st}$ ) del gen COI en poblaciones de *Photinus*.

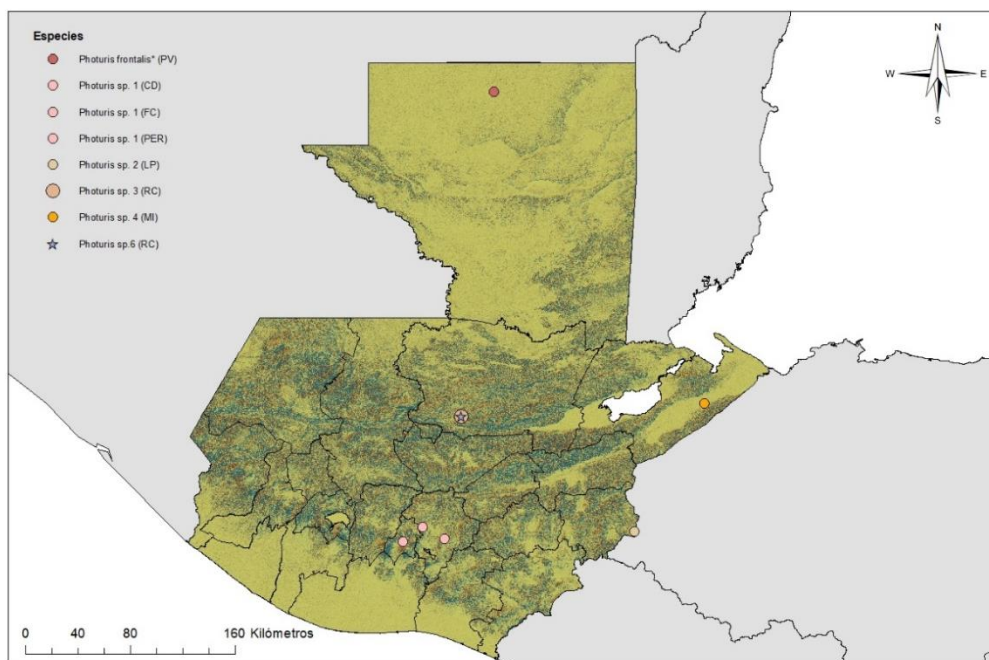
	<b>VA</b>	<b>LA1</b>	<b>LA2</b>	<b>RH</b>	<b>CC</b>	<b>ER</b>	<b>BP</b>	<b>RC1</b>	<b>RC2</b>
<b>VA</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>LA1</b>	0.9839	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>LA2</b>	0.9877	0.9950	-	-	-	-	-	-	-
<b>RH</b>	0.9880	0.9948	1.0000	-	-	-	-	-	-
<b>CC</b>	0.9558	0.9605	0.5798	0.9570	-	-	-	-	-
<b>ER</b>	0.9819	0.9882	0.8667	0.9921	0.2294	-	-	-	-
<b>BP</b>	0.9875	0.9948	1.0000	1.0000	0.2064	0.3333	-	-	-
<b>RC1</b>	0.9653	0.8623	0.9744	0.9735	0.9429	0.9676	0.9735	-	-
<b>RC2</b>	0.9892	0.9949	1.0000	1.0000	0.9657	0.9935	1.0000	0.9764	-

Los valores de 0 a 0.15 son considerados diferenciación genética moderada, de 0.15 a 0.25 diferenciación genética alta y los valores mayores a 0.25 diferenciación genética muy grande.

La red de haplotipos generada para *Photinus* presentó una estructura poco definida, con haplotipos intermedios y múltiples orígenes para los haplotipos encontrados. Debido a ello, la red no fue congruente a lo observado en las reconstrucciones filogenéticas de máxima verosimilitud y método Bayesiano. Se puede observar que el haplotipo 11 es compartido entre las poblaciones de El Roconal (ER) y Bosque Palencia (BP); mientras que el resto de los haplotipos están presentes únicamente en una población. Los haplotipos de la población del Volcán de Agua (VA) se agruparon juntos, teniendo más de 10 mutaciones entre ellos y su haplotipo más cercano.



**Figura 30.** Rede de haplotipos para las especies de *Photinus* colectadas en este estudio. Los haplotipos se muestran en círculos naranjas, con tamaños correspondientes a la cantidad de individuos que pertenecen a cada uno de ellos. Las mutaciones presentes entre los haplotipos se muestran como líneas transversales sobre las ramificaciones en la red.



**Figura 31.** Distribución de las especies de *Photuris* colectadas en este estudio. Las especies colectadas se muestran dentro del mapa con diferentes coloraciones. Para los sitios de muestreo que presentaron más de una especie del mismo género, se utilizó una estrella para la correcta visualización de las especies dentro del mapa.

El análisis de diversidad genética de *Photuris* presentó un bajo número de sitios segregantes (S) dentro de las poblaciones de RC (2), CD (0), PER (0) y FC (1), presentando. Se obtuvo un número total de 60 sitios segregantes entre poblaciones y 14 haplotipos identificados. Las poblaciones que presentaron una diversidad más alta fueron las de Las Pozas (LP) con 5 sitios segregantes (S) y 3 haplotipos, Puente Viejo (PV) con 6 sitios segregantes (6) y 4 haplotipos (h) y Morales, Izabal (MI) con 9 sitios segregantes y 3 haplotipos (h).

**Cuadro 6.** Análisis de diversidad genética del gen COI en poblaciones de *Photuris*

<b>Localidad</b>	<b>S</b>	<b>h</b>	<b>k</b>	<b><math>\pi</math></b>
<b>LP</b>	5	3	1.6222	0.0047
<b>RC</b>	2	3	0.5555	0.0016
<b>CD</b>	0	1	0.0000	0.0000
<b>FC</b>	1	2	0.5333	0.0015
<b>PV</b>	6	4	2.6000	0.0075
<b>PER</b>	0	1	0.0000	0.0000
<b>MI</b>	9	3	4.8000	0.0138
<b>General</b>	60	14	14.1322	0.0406

(S) Sitios polimórficos, (h) número de haplotipos, (k) número promedio de diferencias nucleotídicas y ( $\pi$ ) diversidad de nucleótidos

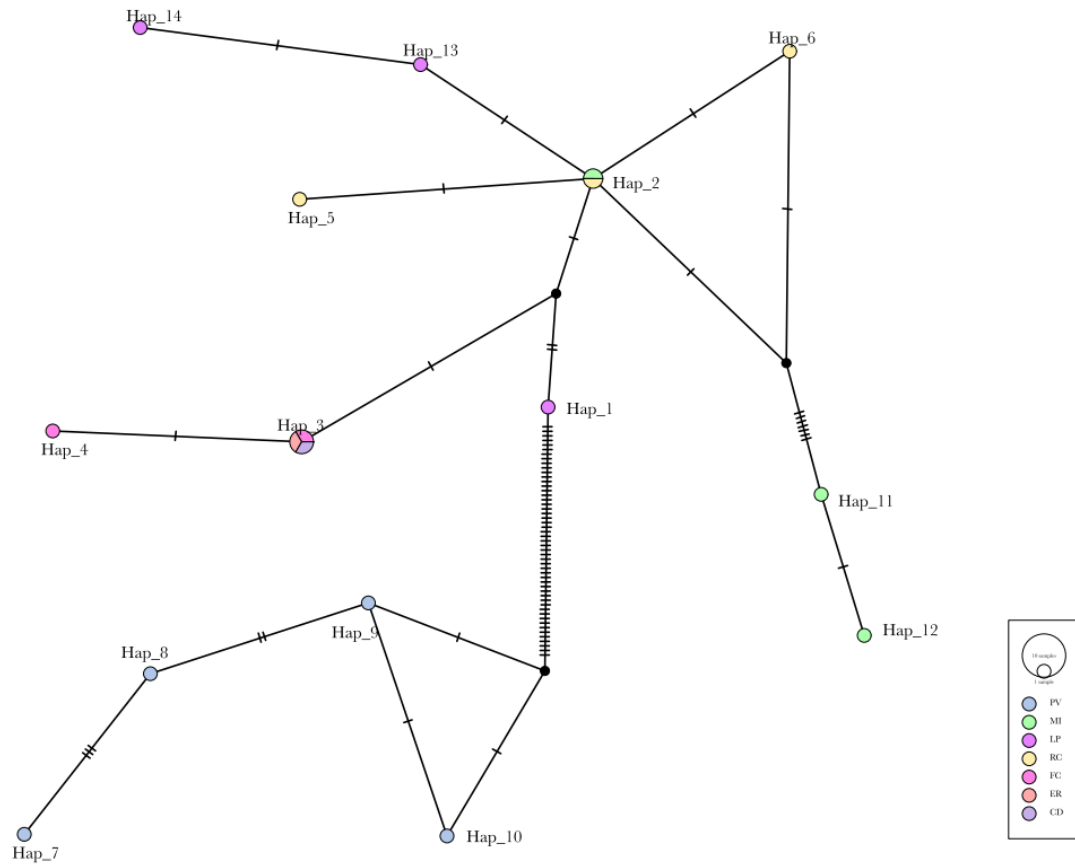
Con respecto al índice de fijación ( $\phi_{st}$ ) para las poblaciones de *Photuris*, se observó una alta diferenciación en la estructura genética de las poblaciones muestreadas. Los valores cercanos a 1 indican que no existe un flujo genético entre poblaciones. Se puede observar un valor de  $\phi_{st}$  de 1.0 en varias de las poblaciones comparadas. Las poblaciones de Casa Dr. Schuster (CD), El Roconal (PER) y Finca Colombia (FC) presentaron en valor de fijación ( $\phi_{st}$ ) más bajo al compararse entre ellas, siendo este entre 0.0 y 0.2. El valor de 0 indica que las poblaciones pueden cruzarse libremente entre ellas y que existe un flujo genético entre los individuos. Por otro lado, el valor de 0.2 aún se encuentra en el rango de diferenciación genética alta, por lo que se infiere que la población de Finca Colombia no presenta un flujo genético libre como en el caso de las otras dos poblaciones.

**Cuadro 7.** Índice de fijación ( $\phi_{st}$ ) del gen COI en poblaciones de *Photuris*.

	<b>LP</b>	<b>RC</b>	<b>CD</b>	<b>FC</b>	<b>PV</b>	<b>PER</b>	<b>MI</b>
<b>LP</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>RC</b>	0.3951	-	-	-	-	-	-
<b>CD</b>	0.7384	0.8792	-	-	-	-	-
<b>FC</b>	0.6284	0.7933	0.2000	-	-	-	-
<b>PV</b>	0.9609	0.9710	0.9761	0.9712	-	-	-
<b>PER</b>	0.7384	0.8792	0.0000	0.2000	0.9761	-	-
<b>MI</b>	0.5346	0.5410	0.6870	0.6667	0.9311	0.6870	-

Los valores de 0 a 0.15 son considerados diferenciación genética moderada, de 0.15 a 0.25 diferenciación genética alta y los valores mayores a 0.25 diferenciación genética muy grande.

La red de haplotipos generada para *Photuris* presentó una estructura congruente a lo observado en las reconstrucciones filogenéticas de máxima verosimilitud y método Bayesiano. Se puede observar que el haplotipo 2 es compartido entre las poblaciones de Morales, Izabal (MI) y Rubel Chaim (RC); mientras que el haplotipo 3 es compartido entre las poblaciones de la meseta central Finca Colombia (FC), Casa Dr. Schuster (CD) y El Roconal (ER). Los haplotipos correspondientes a la población de Puente Viejo (PV) fueron los que presentaron una mayor distancia al resto de los haplotipos, teniendo más de 30 mutaciones entre ellos y el próximo haplotipo más cercano. Por otro lado, los haplotipos correspondientes a las poblaciones de Rubel Chaim (RC) y Morales, Izabal (MI) se agruparon juntas, teniendo en promedio dos mutaciones entre cada haplotipo encontrado.



**Figura 32.** Red de haplotipos para las especies de *Photuris* colectadas en este estudio. Los haplotipos se muestran en círculos naranjas, con tamaños correspondientes a la cantidad de individuos que pertenecen a cada uno de ellos. Las mutaciones presentes entre los haplotipos se muestran como líneas transversales sobre las ramificaciones en la red.

## IX. DISCUSIÓN

### A. COLECTA E IDENTIFICACIÓN DE MORFOESPECIES

De las 24 especies identificadas por medio de morfología, múltiples morfoespecies presentaban únicamente un espécimen colectado, por lo que su identificación por métodos moleculares y las extracciones de edeagos no fueron posibles durante la investigación. Es importante mencionar que en la actualidad no existen claves taxonómicas enfocadas a las especies de Guatemala, por lo que se utilizó únicamente la realizadas por Zaragoza-Caballero et al. (2020) para México y las descripciones de especies encontradas en *Biología Centrali Americana*.

Únicamente una de las especies de *Photinus* colectadas pudo ser identificada hasta nivel de especie utilizando Zaragoza-Caballero et al. (2020) siendo esta *Photinus congruus*. A pesar de que esta especie presenta los caracteres morfológicos externos necesarios para ser identificada como *Photinus congruus*, la morfología del edeago de los individuos colectados en Guatemala no concuerda con la morfología de los edeagos extraídos para los individuos de México. Los individuos de Rubel Chaim presentaron un proceso en la parte ventral del edeago que no está presente en las descripciones del edeago de *Photinus congruus* para México. Debido a ello, la identificación de *Photinus congruus* no es oficial y se deberá realizar una mayor cantidad de análisis para poder establecer la presencia de *Photinus congruus* en Guatemala.

Por otro lado, para el género *Photuris* se pudo identificar a los individuos de Puente Viejo, Petén como *Photuris frontalis* debido a su similitud morfológica. Cabe destacar que la mayoría de las especies de *Photuris* tienen una identificación por métodos convencionales complicada debido a la gran similitud entre sus edeagos, morfología y patrones de luz (Fallon et al., 2019). *Photuris frontalis* está presente en Estados Unidos, y es conocida en el turismo de luciérnagas por su sincronización en patrones de flash (Lewis, et al., 2021). Sin embargo, esta no está reportada en México ni Centroamérica por lo que su identificación debe ser confirmada por medio de un mayor análisis genético y morfológico.



Los individuos presentes en la Meseta Central (Localidades CC, FC, CD) de *Photuris* fueron identificados como *Photuris pennsylvanica* o *P. trilineata* al inicio del estudio debido a sus similitudes morfológicas con las encontradas dentro de Colecciones del Laboratorio de Entomología Sistemática, UVG. Posteriormente se revisó la descripción para *P. trivittata* realizada por Lloyd y Ballantyne (2003), en donde se pudieron observar similitudes con los individuos colectados dentro del país. Sin embargo, debido a la complicada identificación del género y a las múltiples posibles identificaciones, esta fue tratada como morfoespecie 1.

Adicionalmente, los individuos de *Photuris* colectados dentro de las localidades Las Pozas (LP) y Rubel Chaim (RC) presentaron morfologías externas muy similares; sin embargo, los edeagos de los individuos de Las Pozas poseen excreciones en la parte dorsal del edeago que no están presentes en los individuos de Rubel Chaim. Asimismo, los individuos de Rubel Chaim presentaron procesos laterales más largos y desarrollados al compararse con los individuos de Las Pozas. Debido a estas diferencias en los edeagos, se establecieron dos morfoespecies: *Photuris* sp. 2 para los individuos de Las Pozas y *Photuris* sp. 3 para los individuos de Rubel Chaim.

En el caso de *Photuris* sp. 4, se pudo observar una diferencia en los caracteres morfológicos presentes en los individuos MI24 (Figura 20a, 20b) y MI26 (Figura 20c, 20d). Estas diferencias inicialmente fueron atribuidas al sexo de los individuos; sin embargo, se pueden apreciar diferencias en las marcas de los élitros, tamaño de mandíbulas, tamaño de ojos, tamaño del individuo y forma del pronoto. Debido a que hubo pocos individuos para esta morfoespecie, no se pudo realizar una comparación a fondo con más de un individuo. Se recomienda llevar a cabo un muestreo más exhaustivo en esta localidad para obtener un mayor número de muestra y poder determinar si se trata únicamente de una especie o de dos especies que coocurren en el área.

Los individuos de *Bicellonycha* colectados dentro del estudio fueron identificados por medio de la clave taxonómica Zaragoza-Caballero (2020). Se identificaron dos especies: *B. discicollis* y *B. gorhami*. Sin embargo, estas identificaciones fueron hechas a

partir de únicamente 1 individuo cada una, y por medio de los caracteres morfológicos externos. Se recomienda realizar un mayor esfuerzo de muestreo en el área de colecta de estas especies para obtener más individuos y realizar extracciones de edeagos y análisis genéticos.

## **B. RECONSTRUCCIONES FILOGENÉTICAS**

Se pudo observar una topología similar entre los árboles generados por medio del método de máxima verosimilitud y bayesiano para ambas familias analizadas. En el caso de Photurinae, se observaron politomías para el género *Photuris* en las especies 2 y 3 en el método bayesiano. Las politomías pueden ser causadas debido a un bajo valor de nodos, usualmente menor al 50%. Otra causa probable es que las secuencias analizadas son muy similares entre sí, lo cual causa que no se pueda crear una bifurcación dentro del árbol (Lewis, Holder y Holsinger, 2005).

Estas especies presentaron una división más clara al analizarse por medio de máxima verosimilitud; al contrario de lo observado en el árbol bayesiano en donde se presentó una mezcla de las especies. Al relacionar estas especies con sus caracteres morfológicos, se puede observar una diferencia en los edeagos de las especies a pesar de presentar una morfología externa bastante parecida (Figuras 17 y 18). Con respecto a la distribución de las especies, estas no ocurren en el mismo tipo de hábitat ni comparten un bloque biogeográfico (Figura 27). Se requiere de un mayor análisis genético utilizando más genes para establecer si realmente estas morfoespecies son válidas o si conforman únicamente una especie.

En el estudio realizado por Martin et al. (2019) se puede observar una topología similar a la obtenida dentro de este estudio para las subfamilias Photurinae y Lampyrinae. Para el género *Photuris* se presentó una agrupación de las morfoespecies sp. 1, sp. 2, sp. 3 y sp. 4 en la parte inferior del árbol generado por ambos métodos; mientras que la especie identificada tentativamente como *Photuris frontalis* se agrupó con el grupo que contiene las secuencias disponibles para *P. frontalis* provenientes de Estados Unidos, Miami. Esto significa que los individuos colectados en Guatemala tienen un ancestro en común con el

que dio origen a la especie *P. frontalis*, pero es poco probable que sean miembro de esta especie debido a la distancia genética observada entre los individuos colectados y las secuencias disponibles para *P. frontalis* de USA.

La agrupación de las cuatro morfoespecies en un grupo monofilético en la parte inferior del árbol es debido a que presentan una mayor similitud entre ellas que entre las demás especies del género. Esto puede ser ocasionado debido a que la mayoría de las secuencias recuperadas por medio de NCBI son provenientes de Estados Unidos, y no se cuenta con secuencias generadas en Centroamérica. Cabe mencionar que *Photuris* sp. 1, fue inicialmente identificada como una posible *P. pennsylvanica*; sin embargo, las secuencias para estos individuos no fueron agrupadas con el grupo que contiene a *P. pennsylvanica* en ninguna de las reconstrucciones filogenéticas realizadas.

El mismo comportamiento fue observado con los individuos de *Bicellonycha* sp. 2 y sp. 3, en donde ambos clados fueron agrupados juntos en todos los análisis (Máxima verosimilitud y Bayesiano). Es importante mencionar que solamente se contaba con una secuencia de *Bicellonycha wickershamorum* para el análisis, por lo que las relaciones filogenéticas representadas en el presente estudio pueden no ser exactas. Se recomienda realizar una filogenética para el género con una mayor cantidad de muestras y varios genes.

El individuo *Photuris* sp. 6 presentó una mayor relación con *Bicellonycha* sp. 1 y *Bicellonycha* sp. tanto para la reconstrucción por medio del método de máxima verosimilitud como para el método Bayesiano. Debido a que los caracteres morfológicos de este individuo corresponden a los encontrados en *Photuris* (un par de uñas bifurcadas en hembras y machos) (MacDermott, 1962) este individuo fue clasificado como *Photuris*. Sin embargo, la identificación fue realizada con una hembra y las hembras de *Bicellonycha* no tienen ambas uñas bifurcadas. Luego de una consulta con la experta en taxonomía de luciérnagas, *Photuris* sp. 6 fue identificada como una morfoespecie de *Bicellonycha*, lo cual explica su agrupación con este género.

## C. BIOGEOGRAFÍA, DIFERENCIACIÓN GENÉTICA Y DISTRIBUCIÓN DE ESPECIES

Con respecto a las especies encontradas dentro del país, se pudo observar que las localidades en su mayoría no compartían especies entre ellas. Las localidades de la meseta central (FC, CC, CD, ER) presentaron las mismas especies siendo ellas: *Bicellonycha* sp. 1, *Photuris* sp. 1 y *Photinus* sp. 3. Esto es debido a la cercanía entre ellas y a que los hábitats que se muestrearon fueron muy similares. Cabe destacar que *Bicellonycha* sp. 1 fue colectada en la localidad ER en junio del 2021, mientras que en la localidad FC en enero de 2022. El agrupamiento de estas especies era esperado no solo debido a la cercanía de las poblaciones sino debido a que se encuentran en una misma región de endemismo (Schuster y Cano, 2000) y una misma región biogeográfica (Jiménez, 2021) y se ha observado este mismo patrón en aves y coleópteros.

Con respecto a *Bicellonycha* sp. 1, presente en la localidad de Finca Colombia y El Roconal, se pudo observar un índice de fijación  $\phi_{st}$  mayor al 0.8 (Cuadro 3). Este índice indica que existe una alta diferenciación genética entre poblaciones y que estas probablemente no tienen un libre flujo genético. Debido a que las luciérnagas presentan un tiempo de vida adulta reducido (alrededor de dos semanas), los adultos no buscan moverse largas distancias en búsqueda de hembras para aparearse. Esto se traduce en que las poblaciones que tienen una distancia de kilómetros entre ellas, probablemente no presenten un intercambio genético causado por machos que viajan en busca de hembras o viceversa (Lower, Stanger-Hall y Hall, 2018).

Lo opuesto ocurrió para *Photuris* sp. 1, presente en Finca Colombia, El Roconal y Casa Dr. Schuster. Para las poblaciones de El Roconal y Casa Dr. Schuster se obtuvo un índice de fijación  $\phi_{st}$  de 0.0000 (Cuadro 7), indicando que las poblaciones poseen un libre flujo genético y comparten su diversidad. Este resultado es poco probable debido a que dentro de estas poblaciones se obtuvo únicamente un haplotipo para cada una de ellas, con 0 sitios segregantes e índices de diversidad de nucleótidos de 0.0000 (Cuadro 6). Se recomienda realizar un mayor esfuerzo de muestreo en estas poblaciones para poder evaluarlas de una manera más completa y observar de manera certera la cantidad y

diversidad de haplotipos presentes en cada una de las poblaciones. Por otro lado, la población correspondiente a Finca Colombia de *Photuris* sp. 1, presentó un índice de fijación  $\phi_{st}$  de 0.2 (Cuadro 7), 1 sitio segregante y 2 haplotipos para la población (Cuadro 6). Si bien el índice de fijación no es tan alto como el presente entre otras poblaciones, este aún se encuentra dentro del rango de diferenciación genética alto, indicando que existe un flujo genético restringido de esta población hacia las presentes en El Roconal y Casa Dr. Schuster.

Los ejemplares de *Photuris* encontrados en las localidades de Las Pozas y Rubel Chaim parecen estar relacionados debido a su similitud morfológica y genética. Sin embargo, la población de Las Pozas está comprendida dentro del bloque Chorti, el cual se compone por el sureste de Guatemala, El Salvador y Honduras (Donnelly, et al., 1990; Ellis, 2019) y presenta una barrera biogeográfica para las especies (Jiménez, 2021; Schuster y Cano, 2000; Cano, Schuster y Cardona, 2000). Esto hace que sea poco probable que la especie presente en Las Pozas sea compartida con la localidad de Rubel Chaim. Al evaluar el índice de fijación  $\phi_{st}$  de la población de Las Pozas al ser comparada con otras poblaciones, se puede notar claramente que existe un flujo genético restringido de esta población hacia las otras; presentando valores mayores a 0.3 para todas las comparaciones, y teniendo una diferenciación genética alta.

Por otro lado, las especies de Morales y Reserva de la Heloderma están dentro de la falla del Motagua-Polochic-Jocotán (Jiménez, 2021), y en el caso de Morales, están comprendidas dentro de una de las áreas de endemismo reportadas por Cano y Schuster (2000) (Figura 2). La especie *Photuris* sp. 4 podría estar compartida con las especies presentes en Rubel Chaim debido a que se ha documentado la similitud genética de individuos entre estas áreas en anfibios y aves (Jiménez, 2021). Únicamente uno de los individuos de *Photuris* sp. 4 (MI25) se agrupó con los individuos de *Photuris* sp. 3 dentro de ambos árboles.

Con respecto a los haplotipos de las poblaciones de Morales y Rubel Chaim (Figura 31), se puede observar la existencia de un haplotipo compartido entre ambas poblaciones. Este haplotipo corresponde al presentado por el individuo MI25 que fue agrupado con los

individuos de RC dentro de las reconstrucciones filogenéticas. Es posible que dentro de la localidad coocuran dos especies diferentes del género que presenten morfologías muy similares. Se recomienda utilizar un set más grande individuos, así como más genes, para realizar un análisis más a fondo acerca de esta población. Por otro lado, de acuerdo con Schuster y Cano (2000) estas áreas se encuentran en diferentes regiones de endemismo para coleópteros, por lo que de esta manera se explica la separación del resto de los individuos dentro de ambas reconstrucciones filogenéticas.

## X. CONCLUSIONES

- Se identificaron 17 especies de luciérnagas comprendidas dentro de los géneros *Aspisoma*, *Bicellonycha*, *Photinus* y *Photuris* dentro de este estudio por medio de reconstrucciones filogenéticas basadas en el gen COI y caracteres morfológicos.
- Se generaron 28 nuevas secuencias del gen COI para nueve especies que no se encontraban en la base de datos de NCBI.
- Las especies de *Photuris* analizadas dentro de este estudio presentaron una mayor similitud entre ellas que con las especies disponibles en la base de datos genéticos NCBI, a excepción de la especie *Photuris frontalis*\*
- Las especies de *Bicellonycha* analizadas dentro de este estudio representan las únicas secuencias para el gen COI de Centroamérica disponibles en NCBI.
- Se pudo observar el mismo patrón de endemismo planteado por Schuster y Cano (2000) para las luciérnagas muestreadas en este estudio.
- Las poblaciones de luciérnagas de los tres géneros evaluados presentan un alto grado de diferenciación genética debido al reducido flujo genético entre ellas.

## **XI. RECOMENDACIONES**

Las luciérnagas son un grupo de insectos bastante adaptables a áreas perturbadas, por lo que la colecta de estas puede darse en lugares tanto rurales como urbanizados. Debido a que están presentes en todo el país, el muestreo de todas las áreas es complicado. Dentro de esta investigación se buscó realizar muestreos en la mayor cantidad de sitios posibles; sin embargo, debido al difícil acceso y por motivos de seguridad hubo áreas que no pudieron ser muestreadas, especialmente en el occidente del país. Cabe mencionar que no en todas las áreas muestreadas se logró colectar suficientes especímenes para el análisis tanto morfológico como genético, habiendo localidades en donde no se logró colectar más de un individuo por especie aún con varias noches de muestreo. Dentro de la metodología se presentaron complicaciones con la toma del patrón de luz de los organismos, debido a que al acercarse a ellos estos cambiaban su patrón o cesaban la luminiscencia por completo. En otros casos, la gran abundancia de individuos de diferentes especies señalizando simultáneamente, dificultó el seguimiento del patrón de luz de cada individuo.

Se recomienda que, para futuros trabajos con estos organismos, se tome en cuenta las características de los hábitats en los cuales fueron encontrados en el presente estudio. Asimismo, se recomienda hacer muestreos más extensos en cada una de las áreas consideradas dentro de este estudio para observar las variaciones en composición de especies y reportar datos acerca de la etología de las luciérnagas. Los individuos fueron depositados dentro de las colecciones entomológicas del Laboratorio de Entomología Sistemática, Universidad del Valle de Guatemala para su futuro análisis morfológico y descripción.



## XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arnett, R.H. Jr.; M. C. Thomas; P. E. Skelley; J. H. Frank, eds. (2002). *Escarabajos americanos, Volumen II: Polyphaga: Scarabaeoidea a Curculionoidea*. Boca Raton, Florida: CRC Press. ISBN 0849309549.
2. Capinera, J. (2008) *Encyclopedia of Entomology (vol. 4)* Springer: USA
3. Chen, X. et al. (2019) Phylogenetic analysis provides insights into the evolution of Asian fireflies and adult bioluminescence. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 106600, 140(2018)
4. Eisner, T. et al. (1997) Firefly “femme fatales” acquire defensive steroids (lucibufagins) from their firefly prey. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94. Pp. 9723-9728
5. Fallon, C., Hoyle, S., Lewis, S., Owens, A., Black, S. H., & Jepsen, S. (2019). Conserving the Jewels of the Night Guidelines for Protecting Fireflies in the United States and Canada. Xerces Society, October.
6. Fallon, T. R., Lower, S. E., Chang, C., Bessho-Uehara, M., Martin, G. J., Bewick, A. J., Behringer, M., Debat, H. J., Wong, I., Day, J. C., Suvorov, A., Silva, C. J., Stanger-Hall, K. F., Hall, D. W., Schmitz, R. J., Nelson, D. R., Lewis, S. M., Shigenobu, S., Bybee, S. M., ... Robert, J. (2018). Firefly genomes illuminate the origin and evolution of bioluminescence. *ELife*, 7, 1–146. <https://doi.org/10.7554/eLife.36495>
7. Freyman, W. A. (2015). SUMAC: Constructing phylogenetic supermatrices and assessing partially decisive taxon coverage. *Evolutionary Bioinformatics*, 11(1), 263–266. <https://doi.org/10.4137/EBO.S35384>
8. Goh, K., Lee, C. y Wang, T. (2021) Species-Specific Flash Patterns Track the Nocturnal Behavior of Sympatric Taiwanese Fireflies. *Biology*. 11(58)
9. Jiménez, R. (2021) Biogeography and evolution of biodiversity in Guatemala, what has DNA told us? *Revista Científica de la Universidad de San Carlos de Guatemala*. ISSN-e: 2224-5545
10. Kato, D. et al. (2020) Evaluation of the population structure and phylogeography of the Japanese Genji firefly, *Luciola cruciata*, at the nuclear DNA level using RAD-Seq análisis. *Scientific Reports*. 10(1), 1-12.
11. Katoh, K., Rozewicki, J., & Yamada, K. D. (2019). MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. 20(4), 1160–1166. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx108>
12. Kozlov, A. M., Darriba, D., Flouri, T., Morel, B., & Stamatakis, A. (2019). RAxML-NG: A fast, scalable and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference. *Bioinformatics*, 35(21), 4453–4455. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz305>
13. Leavell, B., Rubin, J., McClure, C., Miner, K., Branham, M. y Barber, J. (2018) Fireflies thwart bat attack with multisensory warnings. *Science Advances*. 4(8).
14. Lewis, S. M., & Cratsley, C. K. (2008). Flash signal evolution, mate choice, and predation in fireflies. *Annual Review of Entomology*, 53, 293–321. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.53.103106.093346>
15. Lewis, S. et al. (2020). A Global Perspective on Firefly Extinction Threats. *BioScience*, 70(2), 157–167. <https://doi.org/10.1093/biosci/biz157>
16. Lewis, S. et al. (2021). Firefly tourism: Advancing a global phenomenon toward a brighter future. *Conservation Science and Practice*, 3(5). <https://doi.org/10.1111/csp2.391>
17. Lewis, S., Cratsley, C. y Demary, K. (2004) Mate recognition and choice in *Photinus* fireflies. *Annales Zoologici Fennici*. 41(41)
18. Lloyd, J. (1973) Firefly Parasites and Predators. *The Coleopterists Bulletin*, 27(2), 91–106. <http://www.jstor.org/stable/3999442>

19. Lloyd, J. E. (1980). Male Photuris fireflies mimic sexual signals of their females' prey. *Science*, 210(4470), 669–671. <https://doi.org/10.1126/science.210.4470.669>
20. Lower, S., Stanger-Hall, K. y Hall, D. (2018) Molecular variation across populations of a widespread North American firefly, *Photinus pyralis*, reveals that coding changes do not underlie flash color variation or associated visual sensitivity. *BMC Evolutionary Biology*. 18(129).
21. Lower, S. et al. (2017) Genome size in North American fireflies: Substantial variation likely driven by neutral processes. *Genome Biology and Evolution*. 9(6). Pp. 1499-1512
22. Luk, S., Marshall, S., & Branham, M. (2011). The Fireflies of Ontario (Coleoptera: Lampyridae). *Canadian Journal of Arthropod Identification*, 16(16), 1–105. <https://doi.org/10.3752/cjai.2011.16>
23. Martin, G. et al. (2019) Higher-Level Phylogeny and Reclassification of Lampyridae (Coleoptera: Elateroidea) *Insect Systematics and Diversity*. 3(6)
24. Martin, G., Branham, M., Whiting, M. y Bybee, S. (2017) Total evidence phylogeny and the evolution of adult bioluminescence in fireflies (Coleoptera: Lampyridae) *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 107
25. Pearsons, K., Lower, S. y Tooker, J. (2021) Toxicity of clothianidin to common Eastern North American fireflies. *Zoological Science*. 34820205
26. Posada, D. (2008). LETTERS jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. <https://doi.org/10.1093/molbev/msn083>
27. Ratcliffe, B. y Cave, R. (2006) The dynastine scarab beetles of Honduras, Nicaragua and El Salvador (Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae). *Bulletin of the University of Nebraska State Museum* 21:1-424. [A well-illustrated guide to the species of dynastines of a portion of northern Central America]
28. Ratcliffe, B. , Cave, R. y Cano, E. (2014) The dynastine scarab beetles of Mexico, Guatemala and Belize (Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae).
29. Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Ohna, S. H. , Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., & Huelsenbeck, J. P. (2012). Software for Systematics and Evolution MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. *Syst. Biol*, 61(3), 539–542.
30. Schuster, J. (1997) Seasonal diversity of fireflies (Coleoptera: Lampyridae) in a montane area of Guatemala. *International Symposium on Biodiversity and Systematics in Tropical Ecosystems*. 281-284
31. Schuster, J. y Cano, E. (2000) La distribución mesoamericana de montaña: Síntesis de Passalidae (Coleoptera: Scarabaeoidea) para Mesoamérica Nuclear. *Encyclopedia of Life Support Systems*, VI.
32. Schuster, J. y Cano, E. (2006) What can Scarabaeoidea contribute to the knowledge of the Biogeography of Guatemala? *Coleopterists Society Monograph*. 5, 57-70
33. Stanger-Hall, K. F., & Lloyd, J. E. (2015). Flash signal evolution in Photinus fireflies: Character displacement and signal exploitation in a visual communication system. *Evolution*, 69(3), 666–682. <https://doi.org/10.1111/evo.12606>
34. Stanger-Hall, K. F., Lloyd, J. E., & Hillis, D. M. (2007). Phylogeny of North American fireflies (Coleoptera: Lampyridae): Implications for the evolution of light signals. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45(1), 33–49. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.05.013>
35. Stanger-Hall, K. y Lloyd, J. (2015) Flash signal evolution in *Photinus* fireflies: Character displacement and signal exploitation in a visual communication system. *Evolution*. 69(3). Pp. 666-682

36. Tathawee, T., Wattanachaiyingcharoen, W., Suwannakom, A. y Prasarnpun, S. (2020) Flash communication pattern analysis of fireflies based on computer vision. *International Journal of Advances in Intelligent Informatics*. 6(1) pp. 60-71.
37. Vend, F., Blasko, B. y Carison, D. (1994) Flash Behavior of Femala *Photuris versicolos* Fireflies (Coleoptera: Lampyridae) in Simulated Courtship and Predatory Dialogues. *Journal of Insect Behavior*. 7(6)
38. Wagener, O. (1957) Revision of the Nearctic Species of *Pyractomena* (Coleoptera: Lampyridae). *The Wasmann Journal of Biology*. 15(2).
39. Zaragoza-Caballero, S., López-Pérez, S., Vega-Badillo, V., Domínguez-León, D. E., Rodríguez-Mirón, G. M., González-Ramírez, M., Gutiérrez-Carranza, I. G., Cifuentes-Ruiz, P., & Zurita-García, M. L. (2020). Luciérnagas del centro de México (Coleoptera: Lampyridae): descripción de 37 especies nuevas. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 91(0). <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2020.91.3104>
- 40.

## XIII. APÉNDICES

<b>Apéndice</b>	<b>Página</b>
1. Listado de localidades utilizadas para este estudio	78
2. Listado de abreviaciones utilizadas para este estudio	78
3. Mapa departamental de Alta Verapaz	79
4. Mapa departamental de Chiquimula	79
5. Mapa departamental de Escuintla	80
6. Mapa departamental de Guatemala	80
7. Mapa departamental de Izabal	81
8. Mapa departamental de Petén	81
9. Mapa departamental de Sacatepéquez	82
10. Mapa departamental de Zacapa	82
11. Árbol filogenético del gen COI generado por el método de Máxima Verosimilitud para la familia Lampyridae	83
12. Árbol filogenético del gen COI generado por el método Bayesiano para la familia Lampyridae	84
13. Ejemplo de gel de electroforesis del marcador COI al 1% para las muestras de este estudio	85

**Apéndice 1.** Listado de localidades utilizadas para este estudio

<b>Departamento</b>	<b>Localidad</b>	<b>Latitud</b>	<b>Longitud</b>
Guatemala	El Roconal	14.636047	-90.615943
Sacatepéquez	Finca Colombia	14.534969	-90.748608
Guatemala	Casa Dr. Schuster	14.556649	-90.463117
Escuintla	Volcán de Agua	14.414657	-90.748566
Alta Verapaz	Rubel Chaim	15.371131	-90.349016
Zacapa	Reserva del Heloderma	14.873803	-89.756986
Izabal	Morales	15.482405	-88.686491
Chiquimula	Finca las Pozas	14.604685	-89.163631
Petén	Concesión Forestal Carmelita	17.61639	-90.12384

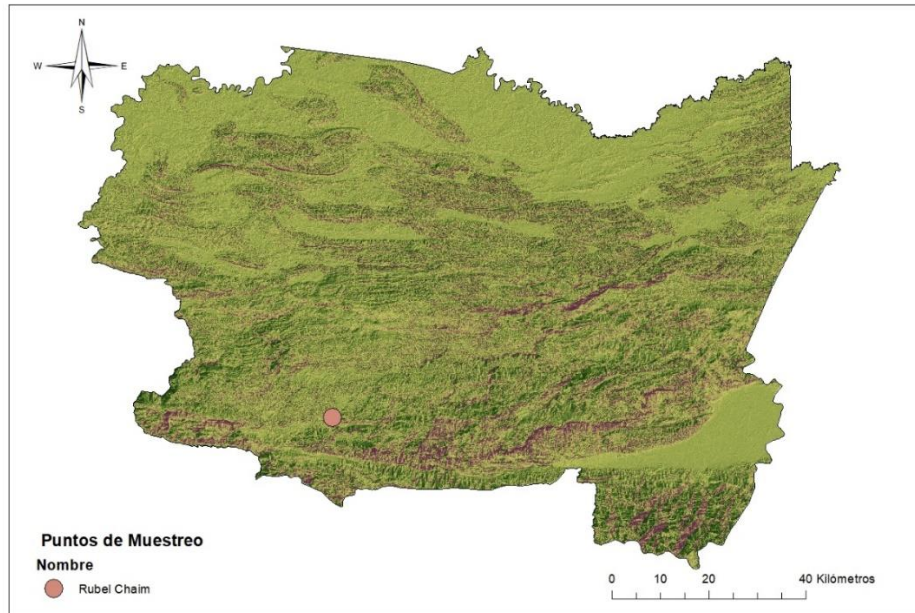
En el cuadro se muestran las localidades en las cuales se muestreo para este estudio junto con sus coordenadas. Las coordenadas se encuentran en WGS94, d.dddd°

**Apéndice 2.** Listado de abreviaturas utilizadas para este estudio

<b>Localidad</b>	<b>Abreviatura</b>
<b>El Roconal</b>	ER, PER
<b>Finca Colombia</b>	FC, FCE, FCJ
<b>Casa Dr. Schuster</b>	CD
<b>Volcán de Agua</b>	VA
<b>Rubel Chaim</b>	RC
<b>Reserva del Heloderma</b>	RH, 2RH
<b>Morales</b>	MI
<b>Finca las Pozas</b>	LP, MLP
<b>Concesión Forestal Carmelita</b>	PV

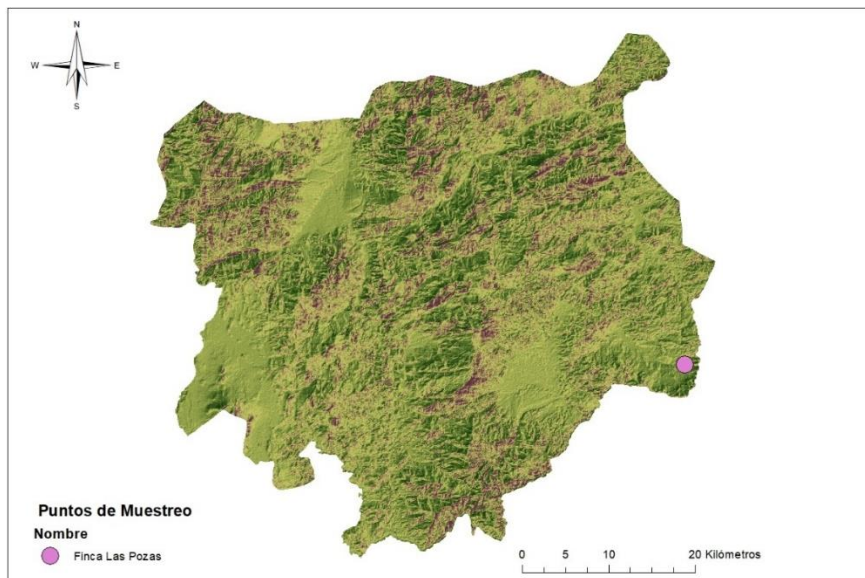
En el cuadro se muestran las localidades en las cuales se muestreo para este estudio junto con sus abreviaturas. Las localidades con más de una abreviatura corresponden a varios periodos de muestreos

### Anexo 3. Mapa departamental de Alta Verapaz



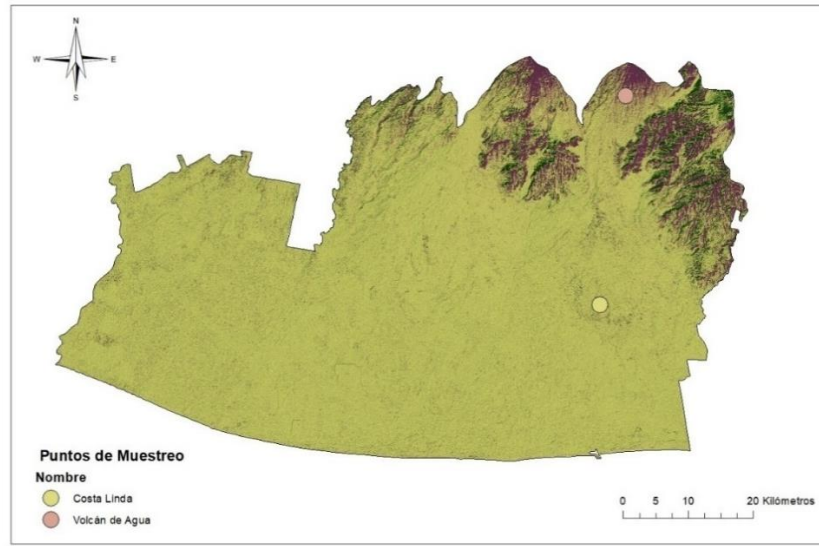
En el mapa se muestran las localidades muestreadas para Alta Verapaz dentro de este estudio, junto con una capa de elevación para mostrar la topografía del departamento.

### Anexo 4. Mapa departamental de Chiquimula



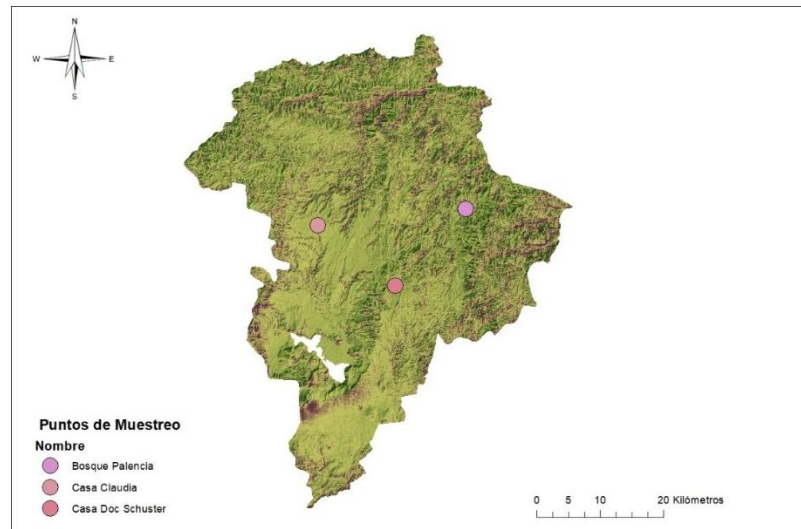
En el mapa se muestran las localidades muestreadas para Chiquimula dentro de este estudio, junto con una capa de elevación para mostrar la topografía del departamento.

### Anexo 5. Mapa departamental de Escuintla



En el mapa se muestran las localidades muestreadas para Escuintla dentro de este estudio, junto con una capa de elevación para mostrar la topografía del departamento.

### Anexo 6. Mapa departamental de Guatemala



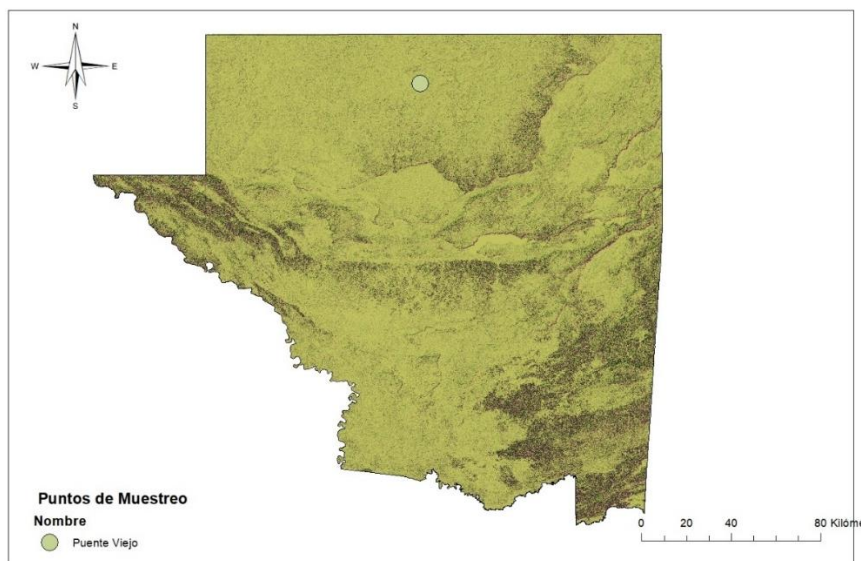
En el mapa se muestran las localidades muestreadas para Guatemala dentro de este estudio, junto con una capa de elevación para mostrar la topografía del departamento.

### Anexo 7. Mapa departamental de Izabal



En el mapa se muestran las localidades muestreadas para Izabal dentro de este estudio, junto con una capa de elevación para mostrar la topografía del departamento.

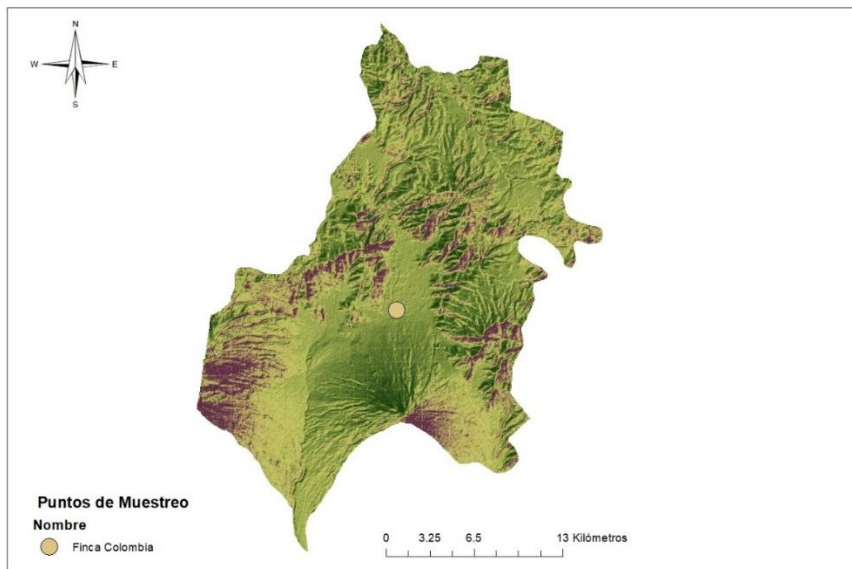
### Anexo 8. Mapa departamental de Petén



En el mapa se muestran las localidades muestreadas para Petén dentro de este estudio, junto con una capa de elevación para mostrar la topografía del departamento.



### Anexo 9. Mapa departamental de Sacatepéquez

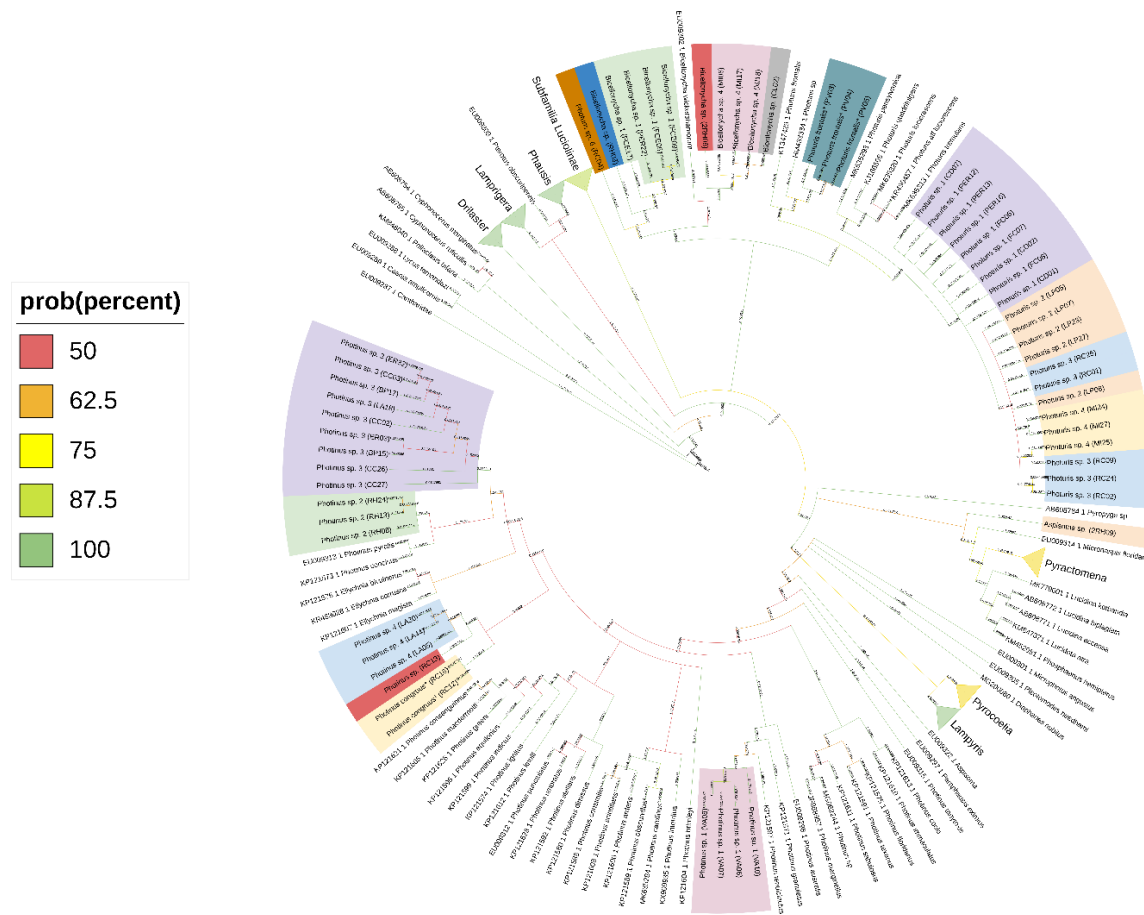


En el mapa se muestran las localidades muestreadas para Sacatepéquez dentro de este estudio, junto con una capa de elevación para mostrar la topografía del departamento.

### Anexo 10. Mapa departamental de Zacapa



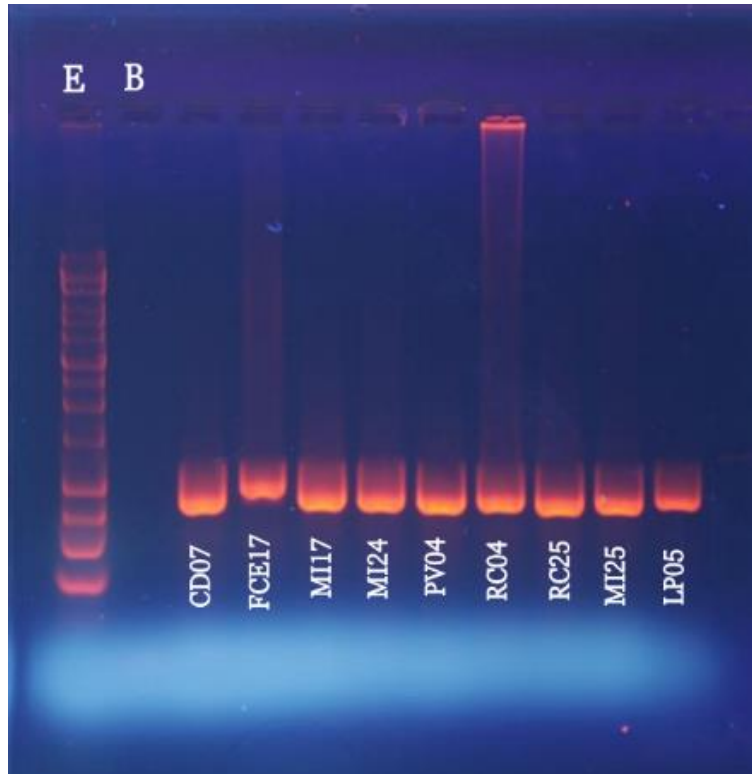
En el mapa se muestran las localidades muestreadas para Zacapa dentro de este estudio, junto con una capa de elevación para mostrar la topografía del departamento.



**Anexo 11.** Árbol filogenético del gen COI generado por el método Bayesiano para la familia Lampyridae

Los valores de probabilidad (%) están representados por medio de coloraciones de rojo a verde. Las ramificaciones coloreadas corresponden a las secuencias generadas durante este estudio, en donde cada color corresponde a una morfoespecie identificada por medio de métodos convencionales. (\*) Identificación no confirmada.





**Anexo 12.** Ejemplo de gel de electroforesis del marcador COI al 1% para las muestras de este estudio

E = escalera 1kb DNA Ladder (Promega); B = blanco. Se pueden observar las bandas de amplificación en un tamaño aproximado de 750 pb