

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA  
Facultad de Ciencias y Humanidades



Evaluación de las relaciones filogenéticas entre *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) y *Triatoma dimidiata* Latreille, 1811 (Hemiptera: Reduviidae) en ambientes domésticos en Guatemala

Trabajo de graduación presentado por  
Jeffrey Roberto Reina Garciasalas  
Para optar al grado de académico de Licenciado en Biología

Guatemala

2013



Evaluación de las relaciones filogenéticas entre *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) y *Triatoma dimidiata* Latreille, 1811 (Hemiptera: Reduviidae) en ambientes domésticos en Guatemala

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Evaluación de las relaciones filogenéticas entre *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) y *Triatoma dimidiata* Latreille, 1811 (Hemiptera: Reduviidae) en ambientes domésticos en Guatemala

Trabajo de graduación presentado por


Jeffrey Roberto Reina Garciasalas

Para optar al grado de académico de Licenciado en Biología

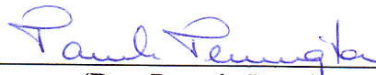
Guatemala


2013

Vo. Bo. Asesor Principal

(f)   
\_\_\_\_\_  
(Dra. Pamela Pennington)

Tribunal Examinador:

(f)   
\_\_\_\_\_  
(Dra. Pamela Pennington)

(f)   
\_\_\_\_\_  
(M.Sc. Enio Cano)

(f)   
\_\_\_\_\_  
(Licda. Margarita Palmieri)

Fecha de aprobación: 03 de junio de 2013



## PREFACIO

Esta tesis tiene su origen en el año 2010, cuando empecé a trabajar con la Dra. Pennington como encargado de mantener la colonia de chinches. Después de un poco más de un año cuidando chinches fue que la Dra. Pennington me ofreció realizar mi tesis en su laboratorio. Cabe mencionar que a estas chinches les tomé cierto aprecio, pues miraba como se desarrollaban desde huevo hasta adulto. A finales del 2011 comencé a trabajar en mi tesis y procuraba avanzar en el tiempo que pudiese, incluyendo vacaciones. Realmente no me puedo quejar de nada, pues siempre conté con el apoyo tanto económico como académico de la Dra. Pennington para guiarme durante la realización de este proyecto. Al principio estaba asustado que no amplificaran las muestras debido a que eran muy antiguas, pero después de algunas pruebas todo empezó a amplificar maravillosamente. Y después de haber conseguido esto, el resto fue historia.

Quiero agradecer a la Dra. Pennington por su apoyo no solo durante la realización de mi tesis si no durante toda mi carrera. También quiero agradecer a mi papá Roberto Reina, mi mamá Ruth de Reina, mi hermana Jenifer Reina y mi hermano Luis Fernando Reina, pues siempre estuvieron apoyándome durante el desarrollo de toda mi carrera. Además, quiero agradecer a mis amigos Daniela Da' Costa, Jonathan Morales, Ana Lucía Dubón y Erick López que siempre estuvieron oyendo mis quejas y me presionaron para poder terminar esta tesis lo más pronto posible. Igualmente, quiero agradecer a mis compañeros en el laboratorio que me ayudaron durante mi tesis y con los que compartí durante bastante tiempo.

Quiero agradecer a el Laboratorio de Protección Vegetal por haberme prestado el software Sequencher y especialmente al Lic. Andrés Ávalos y a la Licda. Elena Dardón, quienes a pesar de que este proyecto no era de su laboratorio, siempre estuvieron dispuestos a resolver cualquier duda que les preguntase. También quiero agradecer al M.Sc. Enio Cano, quien me ayudó con toda la parte de Sistemática y de Biogeografía. Asimismo agradezco a Ellen Dotson y a Gena Lawrence del CDC, quienes me ayudaron con la secuenciación de la casi todas mis muestras. También quiero agradecer a Louisa Messenger quien me ayudó asesorándome en la parte de genotipificación de *T. cruzi* con los genes de maxicírculo. Por último, quiero agradecer al Centro de Estudios en Salud de la UVG, a la Licda. Celia Córdón y al laboratorio de Malaria, quienes me prestaron sus instalaciones y equipo para poder llevar a cabo este trabajo.

## CONTENIDO

PREFACIO .....	V
CONTENIDO .....	VI
LISTA DE CUADROS .....	VIII
LISTA DE FIGURAS .....	IX
SINOPSIS .....	XII
ABSTRACT .....	XIV

### Capítulos

I. INTRODUCCIÓN .....	1
A. Antecedentes .....	2
B. Justificación .....	28
C. Objetivos .....	29
D. Hipótesis .....	29
II. METODOLOGÍA .....	31
A. Procedimientos .....	31
III. RESULTADOS .....	39
A. Inferencia filogenética de <i>T. cruzi</i> y <i>T. dimidiata</i> a partir de genes mitocondriales .....	39
B. Congruencia entre las filogenias de <i>T. cruzi</i> y <i>T. dimidiata</i> construidos con base a genes mitocondriales .....	46
C. Inferencia filogenética de <i>T. cruzi</i> a partir de microsatélites .....	54
D. Congruencia entre la filogenia de <i>T. cruzi</i> a partir de microsatélites y <i>T. dimidiata</i> a partir de genes mitocondriales .....	56
E. Tiempo de divergencia .....	56
F. Análisis biogeográfico .....	58
IV. DISCUSIÓN .....	67
V. CONCLUSIONES .....	73
VI. RECOMENDACIONES .....	75
VII. LITERATURA CITADA .....	77
VIII. APÉNDICE .....	87
A. Recetas de PCR .....	87
B. Electroforesis en geles de Agarosa de Productos de PCR .....	90
C. Secuencias de Consenso .....	95

D. Polimorfismos encontrados en las secuencias..... 92

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro No. 1.</b> Ciclo de desarrollo de huevo-adulto de <i>T. dimidiata</i> expresado en días (Reyes y Angulo 2009). .....	20
<b>Cuadro No. 2.</b> Muestras de <i>T. cruzi</i> seleccionadas para el análisis cofilogenético .....	31
<b>Cuadro No. 3.</b> Diversidad de nucleótidos y número efectivo de alelos determinados para cada marcador molecular. ....	46
<b>Cuadro No. 4.</b> Soluciones encontradas para la reconciliación de los árboles filogenéticos de <i>T. cruzi</i> y <i>T. dimidiata</i> .....	51

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura No. 1.</b> Prevalencia e iniciativas de control del vector en los países de Latinoamérica (Jannin y Salvatella 2006). .....	6
<b>Figura No. 2.</b> Taxonomía de <i>Trypanosoma cruzi</i> (Rassi <i>et al.</i> 2012). .....	7
<b>Figura No. 3.</b> Esquema general de un epimastigote de <i>T. cruzi</i> con sus principales estructuras celulares (Docampo <i>et al.</i> 2005). .....	7
<b>Figura No. 4.</b> Esquema de la organización del ADN dentro de un tripanosoma (Gott 2003). .....	8
<b>Figura No. 5.</b> Amastigotes de cultivos celulares teñidos con Giemsa (Carvalho 2010). .....	9
<b>Figura No. 6.</b> Epimastigotes de un cultivo axénico (Carvalho 2010). .....	9
<b>Figura No. 7.</b> Tripomastigotes de sangre teñida con Giemsa mostrando diferentes aspectos morfológicos (Carvalho 2010). .....	10
<b>Figura No. 8.</b> Diferencias entre los distintos estadios de <i>T. cruzi</i> (Docampo <i>et al.</i> 2005). .....	10
<b>Figura No. 9.</b> Ciclo de vida de <i>T. cruzi</i> transmitido (Rassi Jr <i>et al.</i> 2010). .....	12
<b>Figura No. 10.</b> Distribución de los 6 DTUs de <i>T. cruzi</i> (Llewellyn y Miles 2010). .....	14
<b>Figura No. 11.</b> Agrupamiento de 72 aislados de <i>T. cruzi</i> I, así como de grupos externos, basado en la concatenación de 9 secuencias de maxicírculo (Zumaya <i>et al.</i> 2012). .....	17
<b>Figura No. 12.</b> Distribución de las 3 especies de triatomíneos más importantes en América (Schofield y Gorla 2010). .....	18
<b>Figura No. 13.</b> Estadios de <i>Triatoma dimidiata</i> (OPS 2003). .....	19
<b>Figura No. 14.</b> Distribución geográfica de los grupos de haplotipos de ITS-2 de <i>T. dimidiata</i> . .....	21
<b>Figura No. 15.</b> Árboles filogenéticos de <i>T. dimidiata</i> utilizando el método de Maximum Likelihood. .....	22
<b>Figura No. 16.</b> Distribución geográfica de los 4 grupos de <i>T. dimidiata</i> según secuencias de <i>CYT b</i> y <i>ND4</i> (Monteiro <i>et al.</i> 2012). .....	23
<b>Figura No. 17.</b> Análisis filogenético de aislados de <i>T. cruzi</i> en Guatemala usando la distancia genética de Cavalli-Sforza y el método de Neighbor-Joining (Rivera <i>et al.</i> 2004). .....	27
<b>Figura No. 18.</b> Diagrama de flujo de la metodología .....	37
<b>Figura No. 19.</b> Árbol filogenético construido mediante el método de Maximum Likelihood a partir de la concatenación de las secuencias de genes de maxicírculo de <i>T. cruzi</i> . .....	40
<b>Figura No. 20.</b> Árbol filogenético construido mediante el método de inferencia Bayesiana a partir de la concatenación de las secuencias de maxicírculo de <i>T. cruzi</i> . .....	41
<b>Figura No. 21.</b> Árbol filogenético construido mediante el método de Maximum Likelihood a partir de la concatenación de las secuencias de <i>CYT b</i> y <i>ND4</i> de	

<i>T. dimidiata</i> .....	42
<b>Figura No. 22.</b> Árbol filogenético construido mediante el método de inferencia Bayesiana a partir de la concatenación de las secuencias de <i>CYT b</i> y <i>ND4</i> de <i>T. dimidiata</i> .....	43
<b>Figura No. 23.</b> Red de Haplotipos de <i>T. cruzi</i> utilizando secuencias de genes de maxícirculo mediante el método de Median-Joining. ....	44
<b>Figura No. 24.</b> Red de Haplotipos de <i>T. dimidiata</i> utilizando la concatenación de secuencias de los genes <i>CYTb</i> y <i>ND4</i> mediante el método de Median-Joining. ....	45
<b>Figura No. 25.</b> Tanglegram de la filogenia de <i>T. dimidiata</i> y la filogenia de <i>T. cruzi</i> construidos mediante Maximum Likelihood.....	47
<b>Figura No. 26.</b> Árboles reconciliados de <i>T. dimidiata</i> (negro) y <i>T. cruzi</i> (azul) construidos utilizando el método de Maximum Likelihood.....	48
<b>Figura No. 27.</b> Tanglegram de la filogenia de <i>T. dimidiata</i> y la filogenia de <i>T. cruzi</i> construidos mediante inferencia Bayesiana.....	49
<b>Figura No. 28.</b> Árboles reconciliados de <i>T. dimidiata</i> y <i>T. cruzi</i> construidos utilizando inferencia Bayesiana.....	50
<b>Figura No. 29.</b> Gráfico del análisis procusteano de coordinadas principales a partir de las filogenias de <i>T. cruzi</i> y <i>T. dimidiata</i> generados por Maximum Likelihood.....	52
<b>Figura No. 30.</b> Gráfico del análisis procusteano de coordinadas principales a partir de las filogenias de <i>T. cruzi</i> y <i>T. dimidiata</i> generados por inferencia Bayesiana.....	53
<b>Figura No. 31.</b> Prueba de mantel entre distancias genéticas de <i>T. dimidiata</i> y <i>T. cruzi</i> .....	54
<b>Figura No. 32.</b> Árbol filogenético de <i>T. cruzi</i> de distancias de Cavalli-Sforza construido por medio del método de Neighbor-Joining con base a los alelos obtenidos por los microsatélites MS3, MS5 y MS6 en el estudio de Rivera <i>et al.</i> (2004). ....	55
<b>Figura No. 33.</b> Estimación de tiempo de divergencia de <i>T. cruzi</i> mediante calibración del reloj molecular de los genes <i>ND1-COII</i> . ....	57
<b>Figura No. 34.</b> Estimación de tiempo de divergencia de <i>T. dimidiata</i> mediante calibración del reloj molecular del gen <i>CYT b</i> . ....	58
<b>Figura No. 35.</b> Prueba de Mantel entre distancias genéticas de <i>T.cruzi</i> y distancia geográfica. ....	59
<b>Figura No. 36.</b> Prueba de Mantel entre distancias genéticas de <i>T.cruzi</i> y el logaritmo de la distancia euclidiana de elevación.....	59
<b>Figura No. 37.</b> Prueba de Mantel entre distancias genéticas de <i>T. dimidiata</i> y distancia geográfica. ....	60
<b>Figura No. 38.</b> Prueba de Mantel entre distancias genéticas de <i>T. dimidiata</i> y el logaritmo de la distancia euclidiana de elevación. ....	60
<b>Figura No. 39.</b> Elevación de los sitios donde los individuos de <i>T. dimidiata</i> fueron muestreados.....	62
<b>Figura No. 40.</b> Distribución de las subpoblaciones de <i>T. dimidiata</i> determinadas por medio de las secuencias de los genes <i>CYT b</i> y <i>ND4</i> .....	63

<b>Figura No. 41.</b> Precipitación promedio anual de los sitios donde los individuos de <i>T. dimidiata</i> fueron muestreados. ....	64
<b>Figura No. 42.</b> Temperatura promedio anual de los sitios donde los individuos de <i>T. dimidiata</i> fueron muestreados .....	65
<b>Figura No. 43.</b> Brecha y toba volcánica presentes entre los Grupos del Norte y Sur de <i>T. dimidiata</i> según serie de Simmons .....	66

## SINOPSIS

La enfermedad de Chagas es una enfermedad endémica de Latinoamérica causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* y transmitido a través de las heces de triatomíneos, como *Triatoma dimidiata* el cual es el principal vector de Guatemala. La enfermedad afecta a un estimado de 10 millones de personas en el mundo y por lo tanto es necesario su control y prevención, principalmente a través de la eliminación del vector. En este estudio se pretendía determinar si distintos genotipos de *Trypanosoma cruzi* están asociados a distintos genotipos de *T. dimidiata* en ambientes domésticos. Los genotipos de *T. cruzi* se obtuvieron mediante la amplificación y secuenciación de 10 fragmentos del maxicírculo. Mientras que los de *T. dimidiata* se obtuvieron mediante la amplificación de los genes mitocondriales citocromo b (*CYT b*) y nicotinamida adenina dinucleótido deshidrogenasa 4 (*ND4*). Las secuencias se alinearon y se construyeron árboles filogenéticos mediante los métodos de Maximum Likelihood e Inferencia Bayesiana. Para determinar si existía congruencia de filogenias entre el parásito y el vector se utilizó el método de árboles reconciliados, una prueba de Mantel para distancias genéticas y un enfoque procusteano para cofilogenia (PACo por sus siglas en inglés). Se encontró que no existe una asociación entre genotipos de *T. cruzi* y *T. dimidiata* en los ambientes domésticos de Guatemala muestreados. Los genes de maxicírculo no presentaron suficiente variabilidad para separar genéticamente los individuos de *T. cruzi* utilizados en este estudio. Se encontró que existe homogeneidad en los genotipos de *T. cruzi* a lo largo de los sitios muestreados sin ninguna delimitación geográfica. Los genes mitocondriales *CYT b* y *ND4* tienen suficiente resolución para poder diferenciar subpoblaciones de *T. dimidiata* presentes en el país. Existen cuatro subpoblaciones de *T. dimidiata* delimitadas geográficamente. El primero compuesto por individuos del norte (Alta Verapaz, Baja Verapaz y Zacapa), el segundo por individuos del sur (Jutiapa, Chiquimula y Santa Rosa), el tercero formado por individuos a temperaturas templadas en Santa Rosa y el último formado por individuos de Chiquimula

con características de los grupos del norte y el sur. Se planteó que debido a su baja diversidad genética y el análisis de reloj molecular pareciera que la introducción de *T. cruzi* es más reciente a la evolución de *T. dimidiata* en los sitios muestreados del país. Probablemente *T. dimidiata* fue introducida cuando se formó Centroamérica. Se recomienda, incluir marcadores moleculares nucleares de *T. dimidiata* para poder tener un análisis más completo y probar con marcadores minisatélites de *T. cruzi* para obtener mayor variabilidad. Además, con mayor información se podrían establecer líneas del control del vector por separado en estas 4 subpoblaciones encontradas en las regiones muestreadas. También, se recomienda realizar un análisis de congruencia de filogenias entre el hospedero vertebrado y el parásito para poder determinar el rol del hospedero en la dispersión de genotipos del parásito. Por último, se recomienda incluir más muestras tanto de *T. cruzi* como de *T. dimidiata* para poder realizar pruebas como  $F_{st}$  en las que se puede medir si existe un flujo genético entre poblaciones.

## ABSTRACT

Chagas Disease is a Latin American endemic disease caused by the parasite *Trypanosoma cruzi* and transmitted by feces from triatomines such as *Triatoma dimidiata*, which is the principal vector for Guatemala. The disease affects around 10 million people worldwide, therefore, prevention and control is necessary, principally by vector elimination. This study pretended to determine if different genotypes of *T. cruzi* are associated with different genotypes of *T. dimidiata* in domestic environments. Genotypes of *T. cruzi* were obtained from amplification and sequencing of 10 maxicircle fragments. Meanwhile, genotypes of *T. dimidiata* were obtained by amplifying mitochondrial genes cytochrome b (*CYT b*) and nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase 4 (*ND4*). Sequences were aligned and phylogenetic trees were made by Maximum Likelihood and Bayesian Inference methods. To determine if phylogenetic congruence existed between the parasite and the vector, a reconciled trees analysis was performed, also a Mantel test for genetic distances correlation and a Procrustean Analysis for Cophylogeny (PACo). No association between *T. cruzi* and *T. dimidiata* was found in the samples analyzed. The maxicircle genes showed low variability between the individuals of *T. cruzi* analyzed. The genotypes of *T. cruzi* were homogeneous between them with no geographic delimitation. Instead, mitochondrial genes *CYT b* and *ND4* presented enough resolution to determine 4 geographic delimited subpopulations of *T. dimidiata*. The first composed by individuals from the North (Alta Verapaz, Baja Verapaz and Zacapa), the second by individuals from the South (Jutiapa, Chiquimula and Santa Rosa), the third composed by individuals from mild temperatures of Santa Rosa and the last one formed by individuals from Chiquimula with characteristics from both the North and South clades. Molecular clock analysis and low genetic diversity suggest that *T. cruzi* introduction is more recent than *T. dimidiata* evolution in the sites studied. *T. dimidiata* seems to have been introduced in the country when Central America was formed. Nuclear molecular markers are needed for *T. dimidiata* to complement the analysis done. Also, other molecular markers for *T. cruzi* need to be

tested, such as minisatellites, in order to obtain more variability. Moreover, with further studies, different control lines could be established for each of the 4 subpopulations found of *T. dimidiata*. Additionally, it is recommended to analyze the phylogeny congruence between the vertebrate host and the parasite to define the host role as the possible disperser of the parasite genotypes. Finally, more samples from *T. cruzi* and *T. dimidiata* could be included to test if genetic flux exists between populations by an Fst test.



## I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas, endémica de Latinoamérica, es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) y se transmite principalmente a través de las heces del vector. Estos vectores son chinches triatominas y el vector principal para Guatemala es *Triatoma dimidiata* Latreille, 1811. El parásito tiene una alta dispersión de hospederos por lo que realmente es difícil su eliminación (OMS 2010). Por el contrario, se han realizado grandes esfuerzos en el control químico del vector por medio de rociamientos de insecticida. A lo largo de los últimos años se han realizado varios estudios de genética de poblaciones del parásito para llegar a determinar si distintas cepas están relacionadas con distintos resultados clínicos, todavía no se ha encontrado una relación (Messenger *et al.* 2012). Luego de varios estudios con diferentes marcadores bioquímicos y moleculares se ha llegado al consenso que existen 6 DTUs (Discrete Typing Units) de *T. cruzi* (Zingales *et al.* 2009). Se han utilizado marcadores moleculares, sobre todo de genes mitocondriales presentes en el maxicírculo para llegar a conocer la diversidad intra-DTU. Este estudio busca llegar a determinar la diversidad intralínea de *T. cruzi* en el Norte y Sureste de Guatemala utilizando los genes de maxicírculo.

En el caso de *T. dimidiata* se han realizado estudios de genética de poblaciones para llegar a determinar la diversidad genética, y así determinar su grado de adaptación a cambios en el ambiente, y observar cómo es el flujo genético de poblaciones silvestres, peridomésticas y domésticas para determinar fuentes de reinfestación (Dorn *et al.* 2007). Algunos de los genes utilizados para llevar a cabo este análisis son citocromo b (*CYT b*) y nicotinamida adenina dinucleótido deshidrogenasa 4 (*ND4*) (Dorn *et al.* 2009, Monteiro *et al.* 2012). Aquí empleamos ambos marcadores moleculares para llegar a determinar las diferencias genéticas entre las *T. dimidiata* del Norte y Sureste de Guatemala de las cuales se aisló el parásito a caracterizar con genes de maxicírculo. Asimismo, se pretende demostrar que existe una asociación entre los diferentes genotipos encontrados con *T. cruzi* y las *T. dimidiata* de donde fueron aislados utilizando un análisis de coespeciación por medio de árboles reconciliados y por medio de distancias genéticas.

## A. Antecedentes

**1. Enfermedad de Chagas.** La enfermedad de Chagas, también conocida como tripanosomiasis americana, es una enfermedad causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*. Este parásito es transmitido a los humanos por medio de heces de triatomíneos. Un estimado de 10 millones de personas están infectadas a nivel mundial, principalmente en América Latina donde la enfermedad es endémica (OMS 2010). Más de 25 millones de personas se encuentran en riesgo de sufrir esta enfermedad (OMS 2010). Se estima que sólo en el 2008 la enfermedad de Chagas mató a más de 10,000 personas a nivel mundial (OMS 2010). La enfermedad fue nombrada así luego de su descubrimiento por el brasileño Carlos Chagas en 1909 (OMS 2010, OPS 2003).

**a. Transmisión.** La enfermedad de Chagas es transmitida a los humanos y más de 150 especies de animales domésticos, como perros, gatos, conejillos de india y a animales silvestres, como roedores, marsupiales y armadillos, principalmente por insectos reduvidos hematófagos de la subfamilia Triatominae. Los tres vectores más importantes en la transmisión de *T. cruzi* al ser humano son *Triatoma infestans* Klug, 1834, *Rhodnius prolixus* Stål, 1859 y *Triatoma dimidiata*. Históricamente, *T. infestans* ha sido el vector más importante principalmente en las regiones endémicas subamazónicas (sur de Suramérica). Por otro lado, *R. prolixus* esta presente típicamente en la zona norte de Sur América y en Centroamérica. *T. dimidiata* ocupa un área similar al de *R. prolixus* pero se extiende más al norte llegando hasta México. Los triatomíneos tienen 5 estadios ninfales antes de llegar a ser adultos. Tanto las ninfas como los adultos son capaces de transmitir a *T. cruzi* (Rassi Jr *et al.* 2010). La probabilidad de que un triatomíneo infectado pueda transmitir *T. cruzi* varía según la cantidad de ingesta sanguínea, por lo tanto, estadios más grandes y los adultos tienen una tasa de infectividad más alta (Rassi Jr *et al.* 2010). Estos insectos por lo general viven en grietas de casas con construcciones muy pobres en las áreas rurales o suburbanas. Normalmente se esconden durante el día y son activas durante la noche cuando aprovechan a alimentarse de sangre humana. Usualmente pican en áreas donde la piel está expuesta, como la cara (OMS 2010). El parásito entra al cuerpo de la

persona cuando las heces del insecto son restregadas dentro de la picadura, los ojos, la boca o cualquier cortadura en la superficie de la piel (OMS 2010).

Además de la transmisión por medio del vector, la enfermedad de Chagas puede ser transmitida por transfusiones sanguíneas y verticalmente de la madre al infante (congénita) (Rassi Jr *et al.* 2010)). La transmisión por donadores de órganos infectados crónicamente también es posible y ha sido bien documentado en Latinoamérica (Rassi Jr *et al.* 2010). En regiones no endémicas, como Estados Unidos, Canadá y en algunas partes de Europa, se han encontrado casos de infecciones mediadas por transfusión y trasplante (CDC 2006, Cimo *et al.* 1993, Leiby *et al.* 1999, Villalba *et al.* 1992). Sin embargo, el número de casos reportados se debe al incremento de inmigrantes de regiones endémicas de Latinoamérica (Rassi Jr *et al.* 2010). Raramente la enfermedad de Chagas puede ser transmitida por medio de comida o líquidos contaminados y por accidentes en laboratorios que manejan parásitos vivos (Rassi Jr *et al.* 2010). La transmisión oral de la enfermedad de Chagas está asociada con brotes regionales de infección aguda en áreas sin presencia domiciliar de los insectos vectores (Rassi Jr *et al.* 2010). La ingesta de comida contaminada como jugo de caña de azúcar, jugo de fruta de asái o carne cruda es asociada generalmente con una infestación parasítica masiva resultando en una infección más severa y una mayor mortalidad (Pereira *et al.* 2009).

**b. Fases de la enfermedad.** La enfermedad de Chagas presenta dos fases. La primera es conocida como la fase aguda y dura por aproximadamente 2 meses después de la infección. Durante la fase aguda un número alto de parásitos circulan a través del torrente sanguíneo. En la mayoría de los casos, no pueden haber síntomas o éstos son muy leves, pero pueden incluir fiebre, dolor de cabeza, agrandamiento de glándulas linfáticas, palidez, dolor muscular, dificultad en la respiración, hinchazón y dolor en el abdomen o en el pecho (Rassi Jr *et al.* 2010). Más del 50% de las personas picadas por un insecto vector presentan signos característicos como lesiones de piel o una hinchazón en el párpado del ojo (Signo de la Romaña) (Rassi Jr *et al.* 2010). La segunda fase o fase crónica, los parásitos se encuentran principalmente en el corazón o en los músculos del sistema digestivo (OMS 2010). Más del 30% de los pacientes sufren de desórdenes

cardíacos y más del 10% sufren de problemas digestivos, especialmente el agrandamiento del esófago o del colon, así como alteraciones neurológicas o mixtas (OMS 2010). Con el paso de los años, la enfermedad puede provocar una muerte súbita o un fallo cardíaco provocado por la destrucción progresiva del músculo cardíaco (OMS 2010). La enfermedad de Chagas también puede ser reactivada cuando un paciente crónicamente infectado está inmunosuprimido por una coinfección con VIH o porque está recibiendo tratamiento con medicamentos inmunosupresivos (Rassi Jr *et al.* 2010).

**c. Tratamiento.** Se puede utilizar benznidazole o nifurtimox como antiparasíticos para eliminar al *T. cruzi*. Ambas medicinas son 100% efectivas para curar la enfermedad si se dan al poco tiempo de haber ocurrido la infección durante la fase aguda. Sin embargo, la eficacia de ambos medicamentos disminuye según el tiempo de infección (OMS 2010). Este tratamiento también se les da a personas que tuvieron una reactivación de la infección, a infantes con infección congénita y a pacientes durante la fase crónica temprana (OMS 2010). Pacientes infectados sin síntomas deben de tomar el tratamiento. Sin embargo, el beneficio potencial de estos medicamentos en la prevención o en el retraso del desarrollo de la enfermedad de Chagas tiene algunas limitaciones como la larga duración del tratamiento (2 meses) y posibles reacciones adversas (ocurren en más del 40% de pacientes tratados) (OMS 2010). Tanto el Benznidazole como el Nifurtimox no deben de ser tomados por mujeres embarazadas o personas con un fallo en el hígado o el riñón. Nifurtimox tampoco es recomendado para personas con antecedentes neurológicos o desórdenes psiquiátricos (OMS 2010). Adicionalmente, se debe proveer tratamientos específicos para las distintas manifestaciones cardíacas o digestivas que el paciente llegue a presentar (OMS 2010).

**d. Diagnóstico.** En la fase aguda se puede diagnosticar por medio de la detección de tripomastigotes en la sangre. La técnica preferida para identificar la infección congénita es el microhematocrito por su alta sensibilidad y la pequeña cantidad de sangre que se necesita. También se pueden realizar pruebas serológicas para anti-*T. cruzi* IgG, aunque sólo para neonatos con más de 6 meses de edad debido a que los anticuerpos de la madre ya no están presentes. En algunos laboratorios, se pueden realizar

ensayos basados en la amplificación de ADN de *T. cruzi* mediante PCR, los cuales tienen una mayor sensibilidad que exámenes microscópicos. Durante la fase crónica, debido a que hay una baja parasitemia, la presencia de anticuerpos IgG en contra de *T. cruzi* solamente puede ser detectada por ELISA (Enzymelinked immunosorbent assay), inmunofluorescencia indirecta o hemaglutinación indirecta (Rassi Jr *et al.* 2010).

**e. Control y prevención.** No existe vacuna para la enfermedad de Chagas. El método más efectivo para prevenir la enfermedad de Chagas en Latinoamérica es a través del control del vector (Figura No. 1). Además, es necesaria la detección de la enfermedad en sangre para prevenir infecciones a través de la transfusión de sangre o en trasplantes de órganos. Existe una gran cantidad de reservorios de parásitos de *T. cruzi* en animales salvajes por lo tanto el parásito no puede ser erradicado. El control de la enfermedad se enfoca en eliminar el ciclo de transmisión y brindar atención médica para la población infectada y enferma. Entre las aproximaciones que recomienda la Organización Mundial de la Salud para la prevención y control de la enfermedad de Chagas está el rociamiento de insecticidas en casas y áreas aledañas, mejoramiento de las casas para prevenir infestación del vector, medidas de prevención personal como el uso de cedazo en ventanas o camas, buenas prácticas de higiene en la preparación, transporte, almacenamiento y consumo de alimentos, diagnóstico de la enfermedad en donadores de sangre u órganos y la detección de la enfermedad en neonatos infectados por sus madres para proveer un diagnóstico y tratamiento más temprano (OMS 2010).

## **2. *Trypanosoma cruzi***

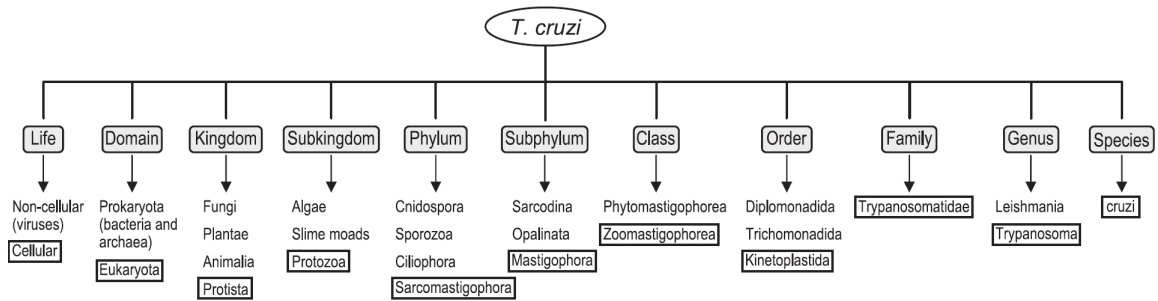
**a. Clasificación taxonómica.** *Trypanosoma cruzi*, es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas. Es un protozoo caracterizado por la presencia de un flagelo y una mitocondria con cinetoplasto, un organelo que contiene ADN. Fue descubierto por Carlos Chagas en 1909 (de Lana y de Menezes 2010). *Trypanosoma cruzi* es un organismo bastante antiguo, se ha encontrado ADN de *T. cruzi* en tejidos de momias de hace 9,000 años (Aufderheide *et al.* 2004). *T. cruzi* pertenece al phylum

Sarcomastigophora, subphylum Mastigophora, orden Kinetoplastida y familia Trypanosomatidae (Figura No. 2) (Rassi *et al.* 2012).

**Figura No. 1.** Prevalencia e iniciativas de control del vector en los países de Latinoamérica (Jannin y Salvatella 2006).

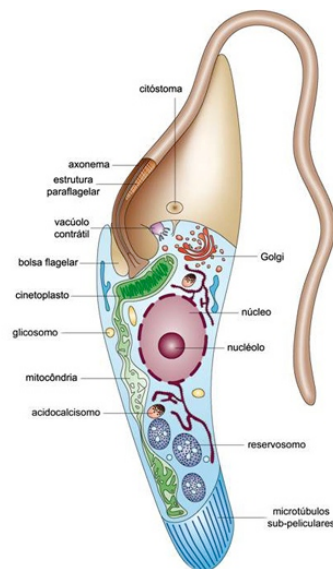


**Figura No. 2.** Taxonomía de *Trypanosoma cruzi* (Rassi *et al.* 2012).

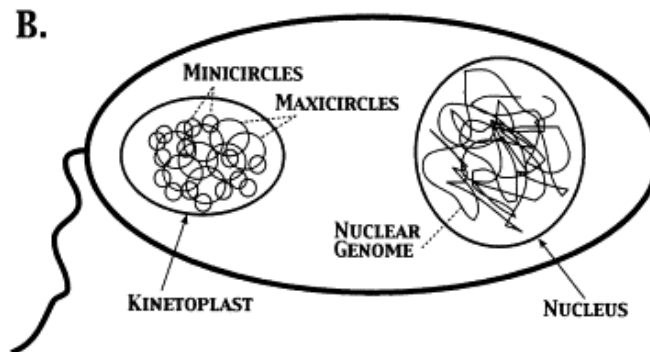


**b. Cinetoplasto.** Es un organelo único de flagelados unicelulares del orden Kinetoplastida. Éste contiene ADN, conocido como ADNk (Kinetoplastid DNA) el cual contiene una red gigante de ADN circular concatenado (Figura No. 3). Los círculos de ADNk pueden ser de dos tipos, maxicírculos y minicírculos. Los maxicírculos generalmente son de 20 a 40 kb, y presentan una docena de copias idénticas por red (Figura No. 4). En cambio, los minicírculos tienen miles de copias por red, tienen un tamaño de 0.5 a 10 kb y son casi del mismo tamaño, pero heterogéneos en su secuencia. Los maxicírculos codifican los productos típicos de genes mitocondriales como ARN ribosomal y subunidades de complejos de la cadena respiratoria (Lukes *et al.* 2002).

**Figura No. 3.** Esquema general de un epimastigote de *T. cruzi* con sus principales estructuras celulares (Docampo *et al.* 2005).



**Figura No. 4.** Esquema de la organización del ADN dentro de un tripanosoma (Gott 2003).

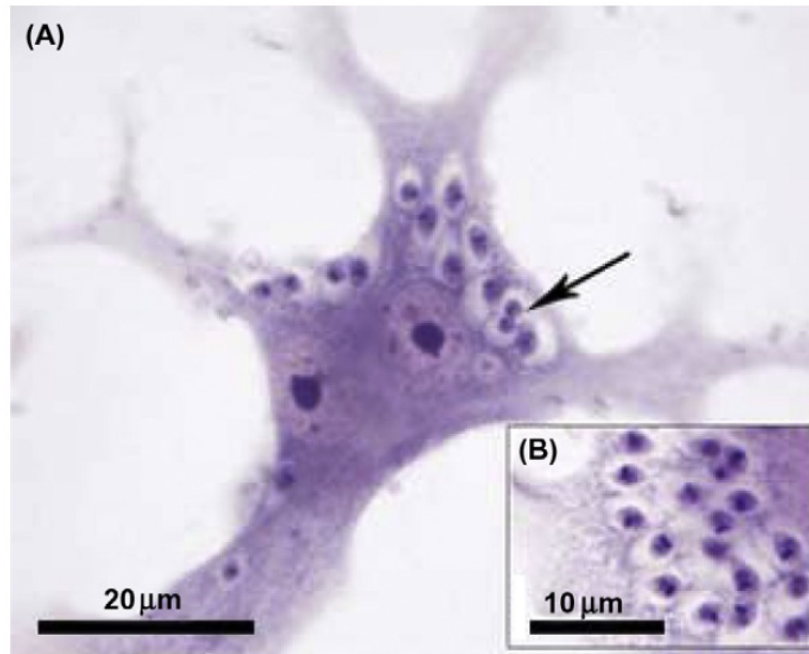


**c. Morfología.** *T. cruzi* tiene tres fases morfológicas y físicas distintas durante su ciclo, las cuales son identificadas por la posición relativa del cinetoplasto en comparación en relación al núcleo y el flagelo. Todas estas formas se pueden detectar fácilmente en el microscopio por preparaciones teñidas con Giemsa (de Lana y de Menezes 2010).

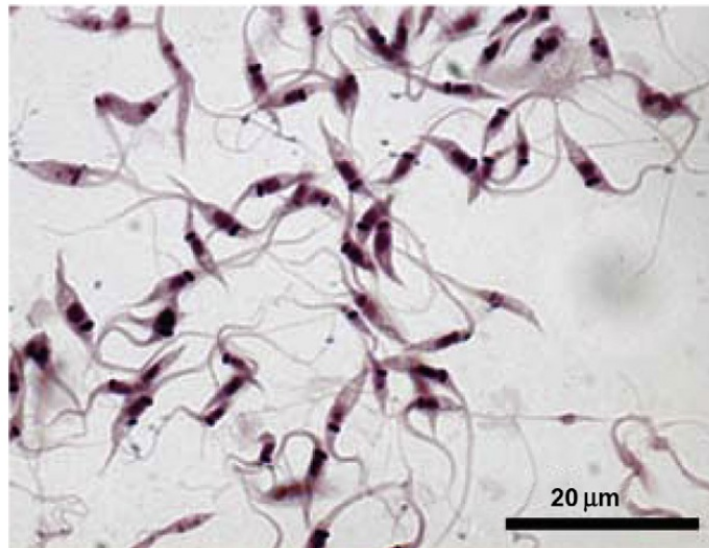
**1) Amastigotes.** Son estadios redondos dentro de las células de mamíferos, despliegan un flagelo corto y que no es libre del cuerpo celular en microscopía electrónica (Figura No. 5). Estas formas se pueden replicar mediante fisión binaria. Este estadio puede ser reproducido en cultivos celulares de distintas células de mamíferos, son de aproximadamente 25  $\mu\text{m}$  de largo y 2  $\mu\text{m}$  de diámetro e infectivas para mamíferos (de Lana y de Menezes 2010).

**2) Epimastigotes.** Son de 20-40  $\mu\text{m}$  de largo y están presentes en el tracto intestinal y urinario del vector. Estos se multiplican por fisión binaria y tienen un flagelo libre que se origina en la posición anterior del núcleo (Figura No. 6). Este estadio se puede reproducir en medios de cultivo líquidos y no son infectivos para mamíferos (de Lana y de Menezes 2010).

**Figura No. 5.** Amastigotes de cultivos celulares teñidos con Giemsa (Carvalho 2010).



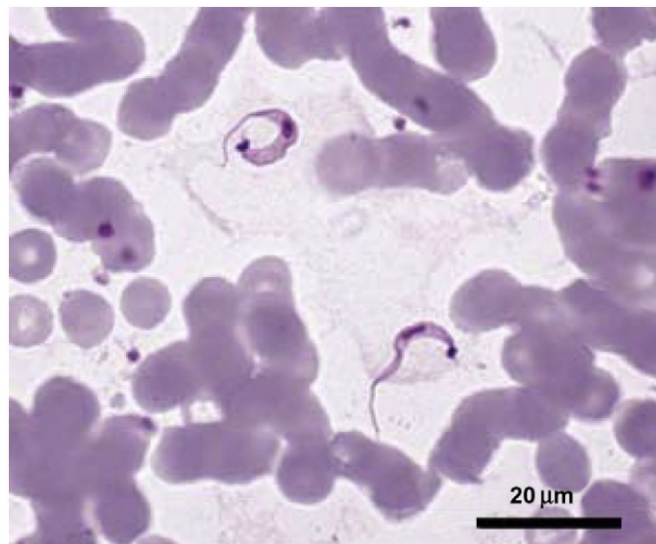
**Figura No. 6.** Epimastigotes de un cultivo axénico (Carvalho 2010).



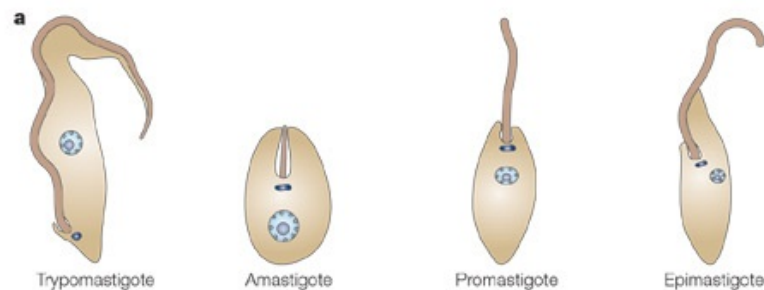
**3) Tripomastigotes.** Presentan un flagelo libre largo que se origina después del núcleo (Figura No. 7). Este estadio es el más importante, son infectivos y están presentes en la sangre de los mamíferos hospederos. Pueden infectar triatominos durante la ingesta sanguínea. Este estadio está presente en las heces y orina del vector, donde se

les conoce como tripomastigotes metacíclicos y son liberados hacia el exterior durante la alimentación del vector. Estos se originan de epimastigotes que sufren un proceso de metaciclogénesis durante la fase estacionaria de crecimiento en un cultivo axénico o de amastigotes de un cultivo celular. Este estadio no se puede multiplicar (de Lana y de Menezes 2010).

**Figura No. 7.** Tripomastigotes de sangre teñida con Giemsa mostrando diferentes aspectos morfológicos (Carvalho 2010).



**Figura No. 8.** Diferencias entre los distintos estadios de *T. cruzi* (Docampo *et al.* 2005)



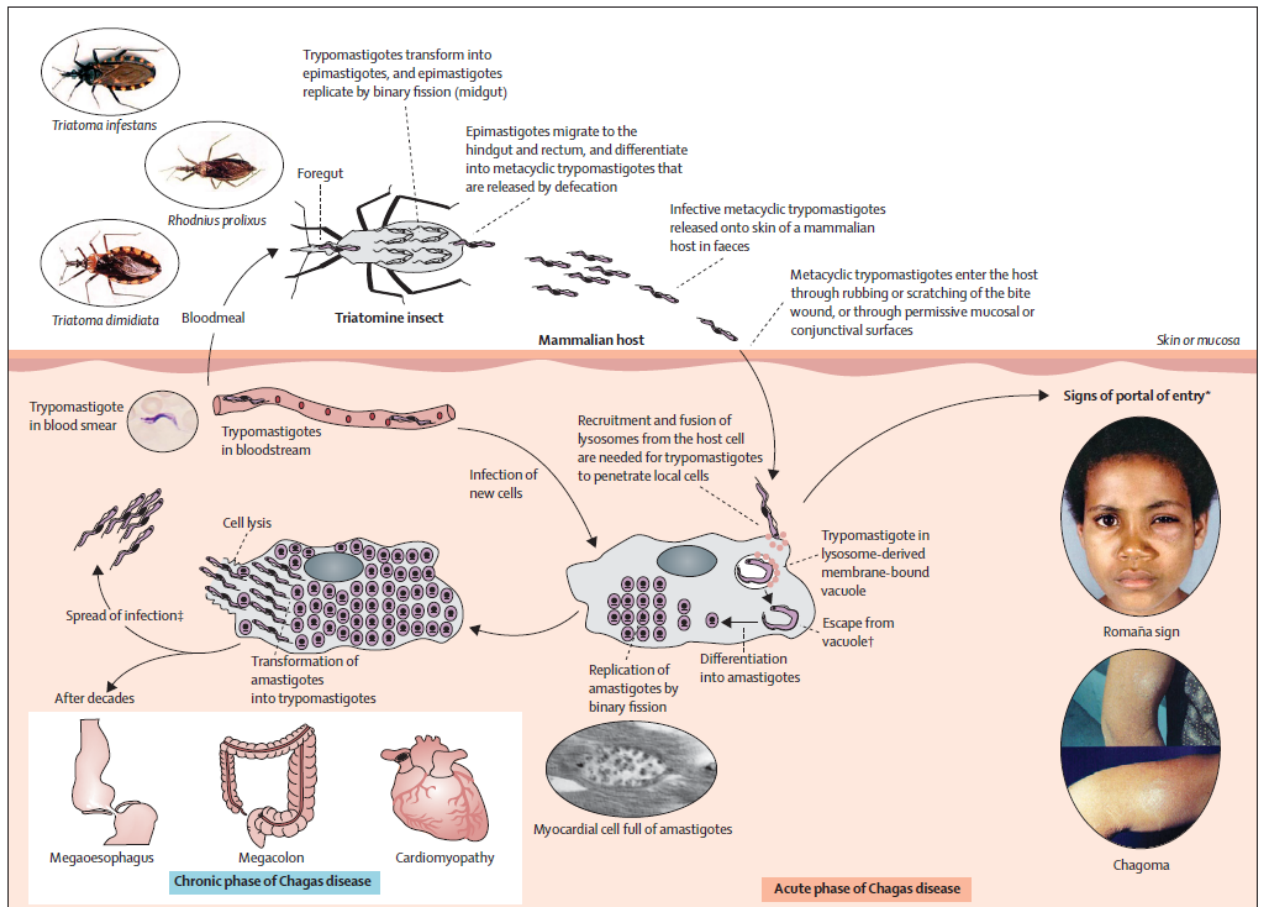
**d. Ciclo de vida.** La enfermedad de Chagas originalmente era sólo una enfermedad enzootica, sin embargo, se transformó en una antropozoonosis cuando el ser humano invadió el ecotopo salvaje derribando los bosques y por lo tanto removiendo los animales salvajes. Los triatomíneos se adaptaron fácilmente a las nuevas viviendas

construidas y empezaron a utilizar a sus habitantes tanto humanos como animales como fuente de alimento. De esta manera se establecen tres ciclos intercomunicados: el ciclo salvaje, el ciclo peridoméstico y el ciclo doméstico (Coura y Borges-Pereira 2010).

El ciclo de vida de *T. cruzi* es complejo, con varias fases de desarrollo en los insectos vectores y en los hospederos (Figura No. 9). El ciclo inicia cuando un triatomino se alimenta de sangre de un hospedero o reservorio. Los tripomastigotes se transforman en epimastigotes y los epimastigotes se replican por medio de fisión binaria en el intestino medio de la chinche.

Los epimastigotes migran hacia el intestino grueso y el recto y se diferencian en tripomastigotes metacíclicos que son liberados en las heces. Los tripomastigotes metacíclicos infectivos son liberados a la piel del hospedero y pueden entrar al hospedero mediante el frotamiento o rascado de la herida producida por la picadura, o por superficies mucosas o conjuntivales. Cuando estos entran a través de superficies conjuntivales se observa el signo de Romaña, el cual es una inflamación en los párpados. También se pueden observar chagomas, que son inflamaciones en el sitio de entrada del parásito. Para que los tripomastigotes puedan penetrar la célula hospedera se necesita del reclutamiento y fusión de lisosomas. Los tripomastigotes dentro de la célula se diferencian en amastigotes y éstos se replican dentro de la célula por medio de fisión binaria. Los amastigotes se transforman de nuevo en tripomastigotes y pueden esparcir la infección a otras células a través del torrente sanguíneo. Los amastigotes dentro de las células son los causantes de las patologías observadas en la fase crónica de la enfermedad como megaesófago, megacolon o cardiomiopatía. Un nuevo vector puede tener una ingesta sanguínea del hospedero infectado y por lo tanto ingiere los tripomastigotes presentes en el torrente sanguíneo y se repite el ciclo (Rassi Jr *et al.* 2010).

**Figura No. 9.** Ciclo de vida de *T. cruzi* transmitido (Rassi Jr *et al.* 2010).

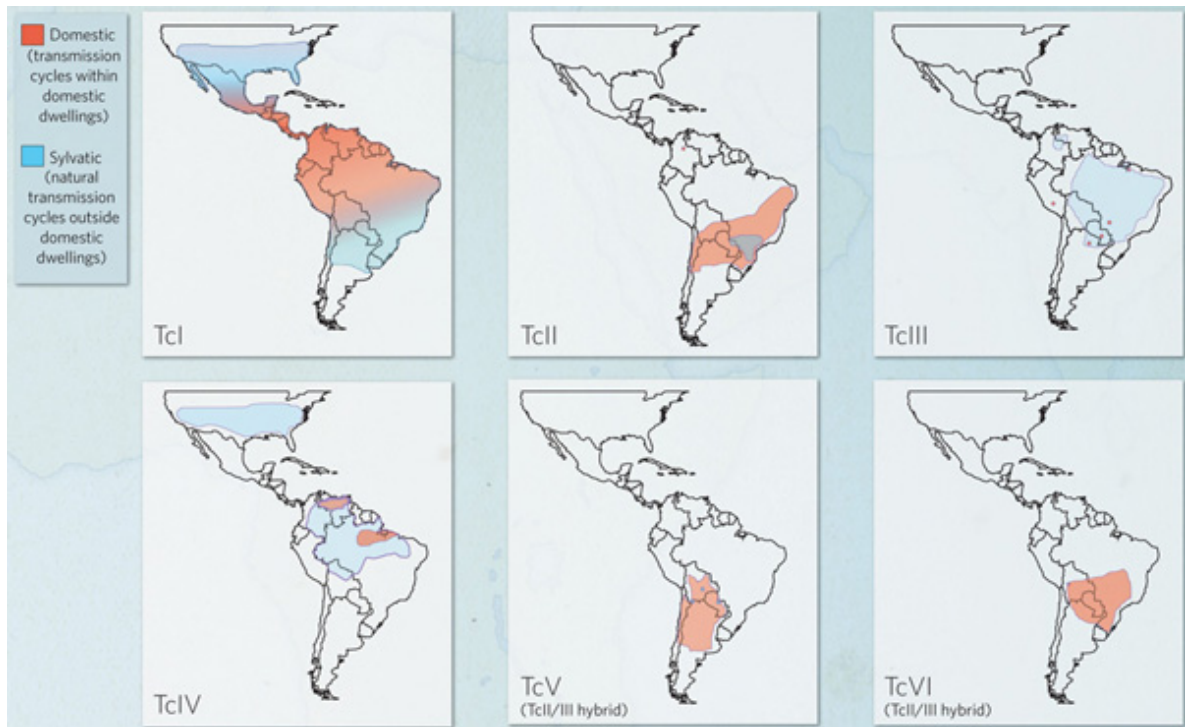


e. **Diversidad genética de *T. cruzi*.** La diversidad biológica, bioquímica y genética de *T. cruzi* ha sido reconocida desde hace mucho tiempo, así como su complejidad ecoepidemiológica. A lo largo de los años, se han realizado varias aproximaciones para caracterizar la diversidad de *T. cruzi* y definir varios subgrupos. Estos subgrupos han recibido diferentes denominaciones, ya sea zimodemos (Miles *et al.* 1977, Miles *et al.* 1978, Miles *et al.* 1981, Romanha *et al.* 1979), esquizodemos (Morel *et al.* 1980), biodemos (Andrade 1974, Andrade y Magalhães 1997), clonets (Tibayrenc y Ayala 1991), linajes (Souto *et al.* 1996), clados (Kawashita *et al.* 2001) y más recientemente, DTUs (Discrete typing units) (Tibayrenc 1998) y haplotipos (de Freitas *et al.* 2006, Herrera *et al.* 2007).

En 1999, en una reunión satélite del Simposio Internacional para conmemorar el 90 aniversario del descubrimiento de la enfermedad de Chagas, se determinó que con toda la información que había disponible se podía llegar al consenso que las cepas de *T. cruzi* están agrupadas en dos grupos mayores. En base a la caracterización bioquímica con biodemos y zimodemos y técnicas moleculares como MLEE (Multilocus Enzyme electrophoresis), RAPD, miniexón y 24Sa, se nombraron los dos grupos principales como *T. cruzi* I y *T. cruzi* II (Zingales *et al.* 2009). Después de 10 años de dicha reunión, se avanzó aún más sobre el conocimiento de la diversidad de *T. cruzi*. Utilizando la genotipificación de multilocus se determinó que existían seis distintos DTUs, que se podían agrupar en dos subdivisiones DTU I y DTU II. Un DTU (Discrete Typing Unit) está definido como un set de stocks que están genéticamente más relacionados entre sí que con otro stock y que son identificados por marcadores genéticos, moleculares o inmunológicos comunes (Tibayrenc 1998). El DTU II luego se dividió en cinco DTUs más, DTU IIa, IIb, IIc, IId y IIE, basado en información filogenética de marcadores MLEE y RAPD. Los DTUs I y IIb corresponden a los grupos *T. cruzi* I y *T. cruzi* II del consenso de 1999 (Zingales *et al.* 2009).

En una segunda reunión Satélite en 2009 se llegó al consenso por un comité experto en reconocer las cepas de *T. cruzi* en seis DTUs (Figura No. 10), siendo nombrados desde *T. cruzi* I, II, III, IV, V y VI respectivamente (Zingales *et al.* 2009). La nueva nomenclatura de *T. cruzi* permite una mayor facilidad para la comunicación de los científicos involucrados en la investigación de la enfermedad de Chagas. Actualmente, se han hecho intentos de estandarizar un método para la determinación de los distintos genotipos de *T. cruzi*. Lewis *et al.* (2009) recomiendan el uso de tres ensayos utilizando PCR de ADN<sub>r</sub>, y PCRRFLP de los loci HSP60 y GPI. Aunque la variabilidad genética de *T. cruzi* ha sido propuesta como el resultado de una evolución clonal (Tibayrenc *et al.* 1986), se ha ido incrementando la evidencia que existen intercambios genéticos entre los parásitos mediante el análisis de genes de maxicírculo (Messenger *et al.* 2012).

**Figura No. 10.** Distribución de los 6 DTUs de *T. cruzi* (Llewellyn y Miles 2010).



**1) Genotipificación con genes de maxicírculo.** Los genes de maxicírculo se han utilizado para estudiar la diversidad intralíneas de *T. cruzi*. Sin embargo, nunca se incluyen análisis con genes nucleares. Por lo tanto, se puede incluir la información de genes mitocondriales con otros componentes nucleares para la realización de estudios filogenéticos (Messenger *et al.* 2012). Un estudio filogenético, busca usar datos morfológicos o genéticos para poder crear árboles que permitan entender las relaciones evolutivas entre especies (Black IV y Barker 2005).

Los genes mitocondriales son bastante populares en el estudio de filogenias debido a que tienen un número alto de copias, un tamaño pequeño y una tasa de mutación más rápida en comparación con el ADN nuclear. Messenger *et al.* (2012) utilizaron 10 fragmentos de genes mitocondriales del maxicírculo para describir la diversidad intraDTU de *T. cruzi*. Se determinó que esta técnica era una herramienta poderosa para la genotipificación a un nivel sub-DTU. Así mismo, utilizando estos marcadores Messenger *et al.* (2012) demostraron la primera evidencia de heteroplasmia mitocondrial en *T. cruzi* contrario al paradigma tradicional de la clonalidad. En este estudio, Messenger *et al.*

(2012), realizaron un árbol filogenético a partir de secuencias de los genes de maxicírculo concatenados. El método de Maximum Likelihood es uno de los cuatro métodos utilizados para la reconstrucción de filogenias, los otros 3 son máxima parsimonia, Neighbor-Joining e inferencia Bayesiana (Challis 2006). El método de Maximum Likelihood fue creado por Felstein (1981) y es similar al método de máxima parsimonia, en el hecho que evalúa todos los árboles posibles. Sin embargo, diferencia entre todos los árboles en base a la probabilidad de que el árbol bajo consideración produzca los datos observados. Es decir, el árbol que mejor explique los patrones de variación observados en los datos es el de mayor verosimilitud (Maximum Likelihood) (Black IV y Barker 2005). La principal limitación de este método es que el análisis de grandes sets de datos requiere bastante tiempo (Challis 2006).

Para evaluar el árbol filogenético creado, Messenger *et al.* (2012) utilizaron bootstraps (1000 réplicas) y probabilidades posteriores bayesianas. El método de bootstrap es un método donde los datos usados para generar la filogenia original son reordenados al azar y se crean un nuevo set de datos. Con el nuevo set de datos se crea un árbol filogenético y se registra el número de veces que una rama es resuelta en la misma posición del cladograma. El producto final es un árbol que indica las ramas que aparecen en la mayoría de las replicaciones del bootstrap y la frecuencia de estas replicaciones. Por lo tanto, el bootstrap indica la consistencia con la que un set de datos apoya la posición de una rama en particular (Black IV y Barker 2005). Por el otro lado, las probabilidades posteriores bayesianas parte del hecho que el método de inferencia Bayesiana se basa en el cálculo posterior de probabilidades de un árbol preliminar utilizando el método numérico de la cadena de Markov Monte Carlo. A diferencia de otros métodos, la inferencia Bayesiana puede incorporar información previa a la filogenia a través de la especificación de las probabilidades de la distribución de los árboles (Huelsenbeck *et al.* 2002).

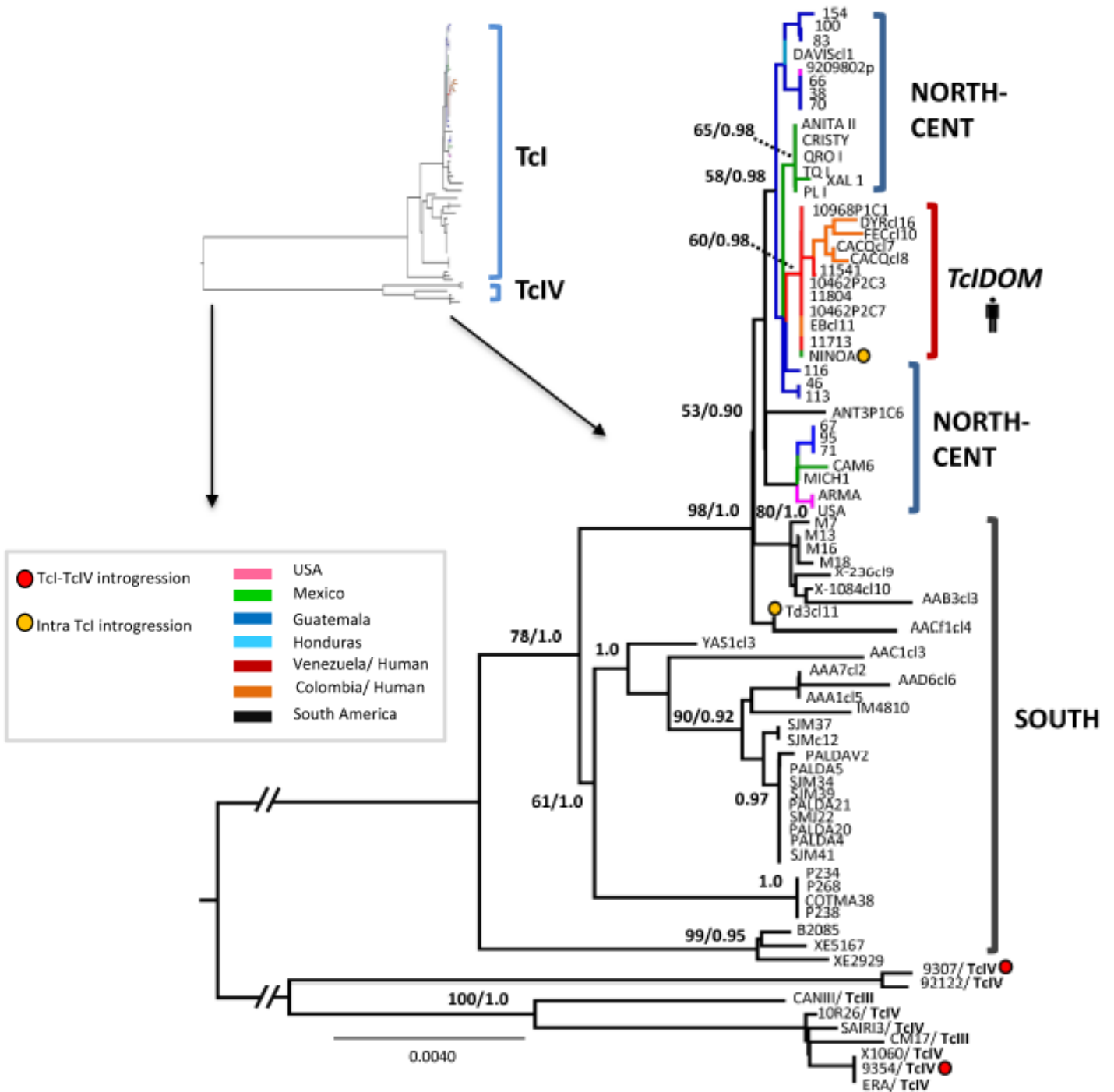
Zumaya *et al.* (2012) utilizaron los mismos fragmentos de maxicírculo (Messenger *et al.* 2012) y marcadores nucleares para determinar el origen de un genotipo doméstico de TcI. Para llevar a cabo este estudio utilizaron 72 muestras de TcI, dentro de

las cuales se encontraban 12 muestras de ADN de *T. cruzi* provenientes de Guatemala. Para estas 12 muestras ya se tienen las secuencias de 9 fragmentos de genes de maxicírculo, con excepción del gen ND4. Al igual que Messenger *et al.* (2012), Zumaya *et al.* (2012) usaron el método de Maximum Likelihood, bootstrap y probabilidad bayesiana posterior para reconstruir su filogenia. Zumaya *et al.* (2012) encontraron que los aislados pueden ser agrupados en tres poblaciones: Suramérica, Norte y Centroamérica y TcI doméstica (Figura No. 11). Una disminución en la diversidad genética a través de las poblaciones y el análisis de agrupamiento correspondiente sugieren que el origen del genotipo doméstico de TcI ocurrió en Norte y Centroamérica y luego se dispersó hacia al sur.

### **3. *Triatoma dimidiata***

**a. Distribución.** El vector de la enfermedad de Chagas *Triatoma dimidiata* es una especie altamente variable con una amplia distribución geográfica, desde México y Centroamérica hasta Venezuela, Colombia, Ecuador y el norte de Perú (Figura No. 12) (Dorn *et al.* 2007). El origen de esta especie aparenta ser el sur de México y el Norte de Guatemala (Schofield 2002). Actualmente es el vector de la enfermedad de Chagas más importante en Guatemala, El Salvador, Nicaragua y Costa Rica y el segundo de mayor importancia en Honduras y Colombia (Dorn *et al.* 2007). Para el control de esta especie se debe de tomar en cuenta su enorme variación y la diversidad de su hábitat, que incluye diferentes tipos de ecotopos silvestres, peridomésticos y domésticos (Monroy *et al.* 2003b, Petana 1971, Zeledon *et al.* 1973). *T. dimidiata* pertenece a un grupo de insectos redúvidos que pueden ser encontrados en ambientes silvestres y artificiales como gallineros o pilas de madera y colonizando casas (Schofield 2002).

**Figura No. 11.** Agrupamiento de 72 aislados de *T. cruzi* I, así como de grupos externos, basado en la concatenación de 9 secuencias de maxicírculo (Zumaya *et al.* 2012).



El primer número indica el bootstrap de Maximum Likelihood y el segundo es la probabilidad Bayesiana posterior.

**Figura No. 12.** Distribución de las 3 especies de triatominos más importantes en América (Schofield y Gorla 2010).



**b. Ecología.** *T. dimidiata* se puede encontrar en varias zonas de vida y ecosistemas (Dorn *et al.* 2007). En Guatemala, el vector es más abundante en bosque tropical seco cerca de la frontera con El Salvador (Monroy *et al.* 2003a, Tabaru *et al.* 1999). Sin embargo, las poblaciones en Guatemala son bastante dispersas y diferentes y no se ha determinado que los factores climáticos puedan predecir de manera adecuada su distribución. Esta especie tiene mayor distribución en alturas a más de 1000 metros sobre el nivel del mar, sin embargo, se puede encontrar de 0 a 1750 msnm en Guatemala (Tabaru *et al.* 1999) y de 1000 a 2000 msnm en Costa Rica (Zeledon *et al.* 2001a). Diferentes poblaciones de *T. dimidiata* han sido encontradas en distintos microhábitats, como estiércol de vaca, en troncos podridos (Campos 1931), en cuevas ocupadas por

murciélagos, en pilas de rocas, en ruinas mayas, en huecos de árboles, palmeras y nidos de mamíferos como zarigüeyas y armadillo (Monroy *et al.* 2003b, Petana 1971, Zeledon y Rabinovich 1981). Las poblaciones de *T. dimidiata* también tienen preferencias en cuanto a su alimentación (Dorn *et al.* 2007). Entre las fuentes de alimentaciones más importantes son ratas (Arzube 1966) y otros mamíferos y aves (Christensen *et al.* 1988), en los que se incluyen humanos y animales asociados como perros (Christensen *et al.* 1988, Sasaki *et al.* 2003) y gallinas (Quintanal y Polanco 1977).

**c. Ciclo biológico.** Los triatominos son insectos exopterigotas (Noireau y Dujardin 2010). No tienen una pupa y son hemimetábolos, es decir, tienen metamorfosis incompleta (Noireau y Dujardin 2010). Tienen 5 estadios ninfales que tienen un parecido a la fase adulta presentando alas rudimentarias en los últimos estadios (Noireau y Dujardin 2010). El ciclo está compuesto por huevos, 5 estadios ninfales y los adultos femeninos o masculinos (Noireau y Dujardin 2010). El ciclo completo desde huevo a adulto dura aproximadamente 269 días (Reyes y Angulo 2009) (Cuadro No. 1). Las ninfas difieren de adultos principalmente por la falta de alas desarrolladas o genitales. No obstante, ocupan el mismo hábitat y se alimentan de los mismos hospederos (Noireau y Dujardin 2010). Esto significa que todos los estadios ninfales y ambos sexos se alimentan de sangre de vertebrados y son capaces de transmitir *T. cruzi* (Noireau y Dujardin 2010). El tiempo de desarrollo de *T. dimidiata* toma alrededor de 1 año, aunque esto varía según las condiciones ambientales como temperatura, humedad y la alimentación (Noireau y Dujardin 2010).

**Figura No. 13.** Estadios de *Triatoma dimidiata* (OPS 2003).



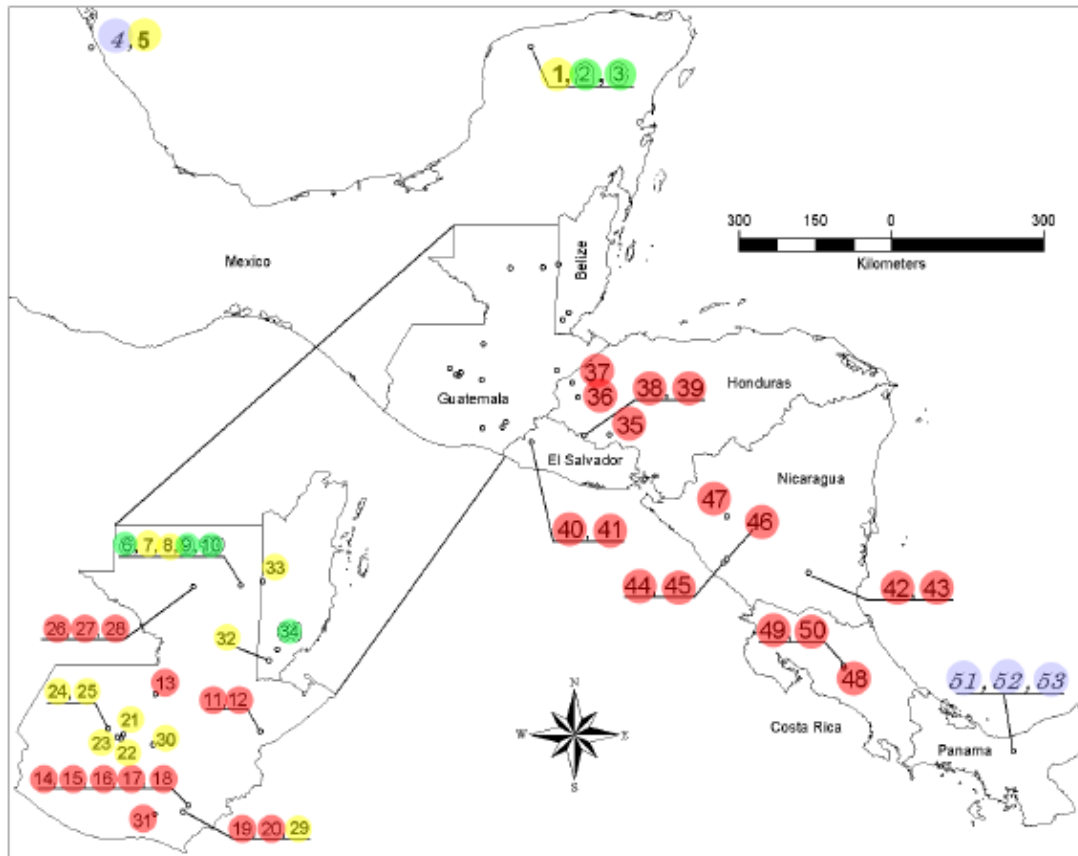
**Cuadro No. 1.** Ciclo de desarrollo de huevo-adulto de *T. dimidiata* expresado en días (Reyes y Angulo 2009).

Estadio	n	Duración en días			% Mortalidad
		Mínimo	Máximo	Media±DE	
Huevo a NI	102	24	30	27,9 ± 2,0	0
NI-NII	96	17	105	33,0 ± 15,5	6
NII-NIII	92	22	128	37,6 ± 14,1	4
NIII-NIV	87	30	104	41,0 ± 10,6	5
NIV-NV	83	30	142	60,7 ± 21,4	4
NV-AD	80	51	89	68,5 ± 8,4	3
Huevo-adulto	80	174	598	268,91	22

**d. Diversidad genética de *T. dimidiata*.** El primer estudio genético que determinaba la presencia de nuevas especies crípticas de *T. dimidiata* fue realizado por Marcilla *et al.* (2001). En este estudio se utilizó el espacio interno transcrito 2 (Internal Transcribed Spacer 2, ITS-2) para identificar dos clados de Triatomini (Marcilla *et al.* 2001). Un clado consiste en especies de Norte y Centroamérica y el otro de las especies de Suramérica. Éste ha sido útil para demostrar que ciertas poblaciones fueron introducidas de otras partes y desafiar arreglos taxonómicos previos.

Así mismo, *CYT b* ha sido utilizado para relaciones filogenéticas, estudiar estructuras genéticas de la población, desafiar estados taxonómicos, inferir poblaciones ancestrales y fuentes de reinfestación (Almeida *et al.* 2008, Giordano *et al.* 2005, Lyman *et al.* 1999, Martinez *et al.* 2006, Monteiro *et al.* 2000, Monteiro *et al.* 1999, Pfeiler *et al.* 2006). Dorn *et al.* (2009) utilizaron el ITS-2 y *CYT b* para analizar la taxonomía de *T. dimidiata* de México y Centroamérica. En este estudio se encontró que *T. dimidiata* se dividía en 4 taxa: uno formado por el centro de México y noroeste de México, Guatemala y Belice (Grupo 2), el otro formado por Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicaragua y Costa Rica (Grupo 1A), el tercero está formado por Panamá y Colombia (Grupo 1B) y el cuarto (Grupo 3) se encuentra en México y el norte de Guatemala y Belice (Figura No. 14). Estos grupos corresponden a las subespecies propuestas por Usinger (1944): el Grupo 1A corresponde a *T. dimidiata dimidiata*, el Grupo 1B corresponde a *T. dimidiata capitata* y el Grupo 2 corresponde a *T. dimidiata maculipennis*.

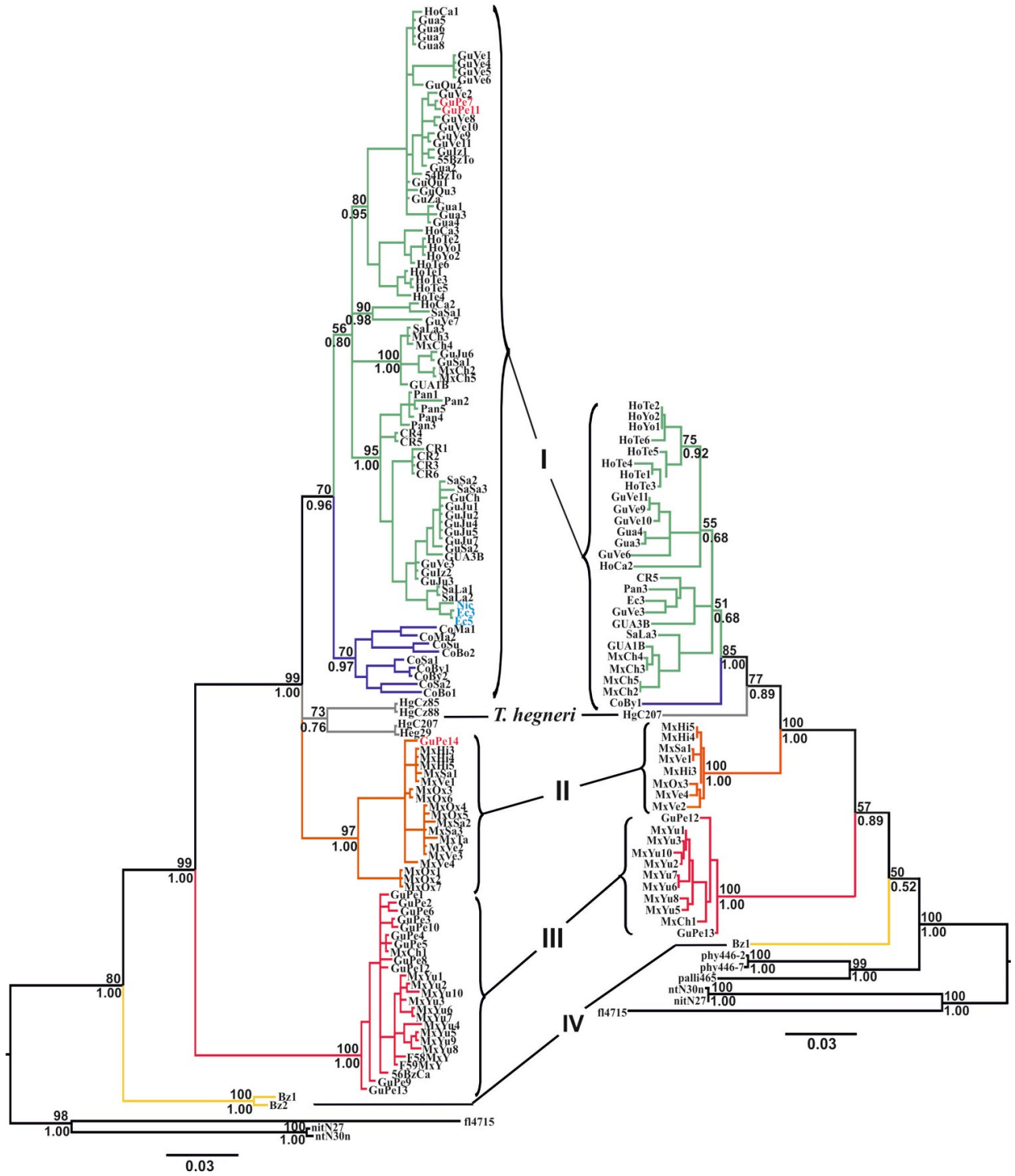
**Figura No. 14.** Distribución geográfica de los grupos de haplotipos de ITS-2 de *T. dimidiata*.



Grupo 1A (rojo), Grupo 1B (Azul), Grupo 2 (amarillo) y Grupo 3 (verde) (Dorn et al. 2009).

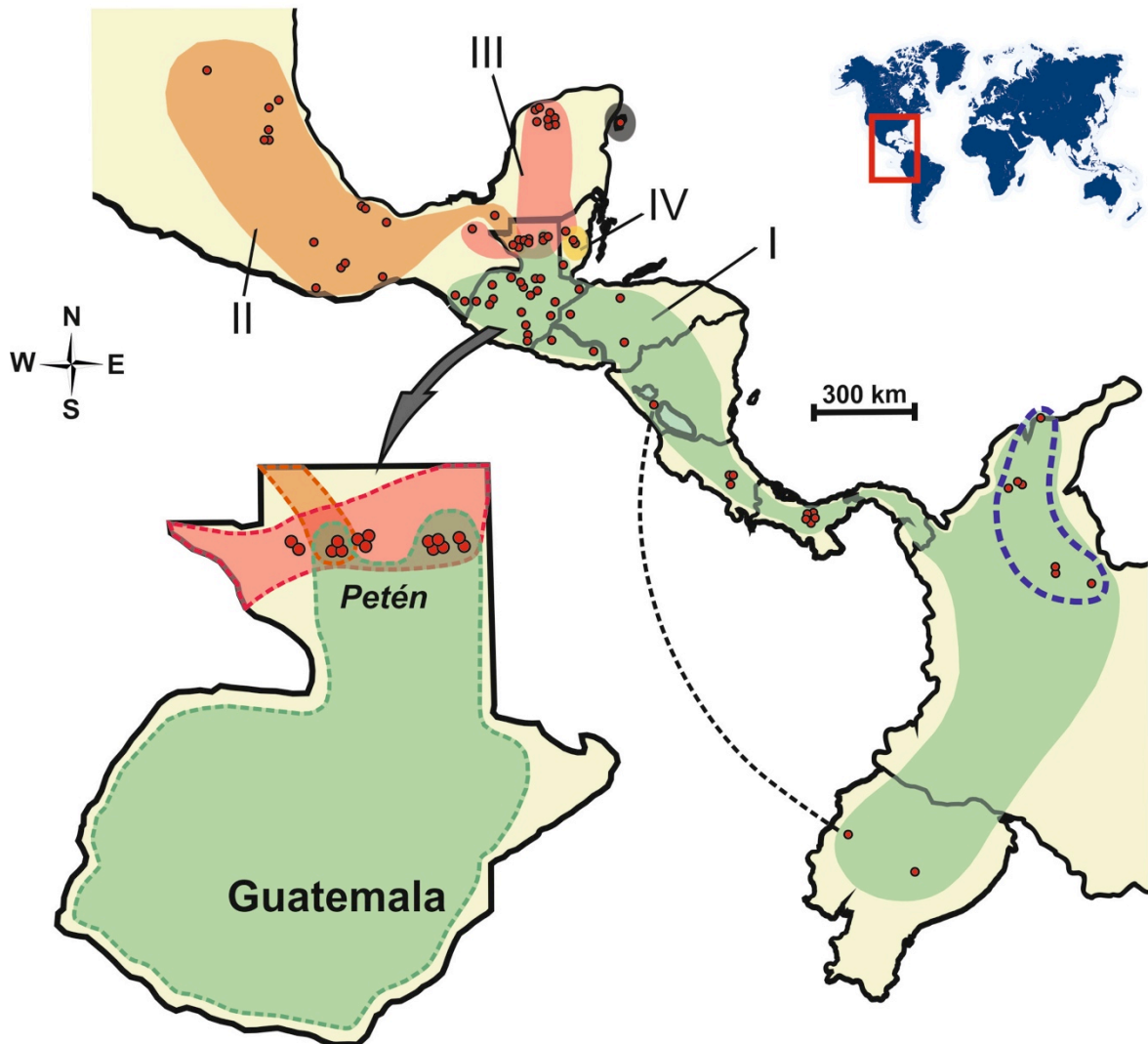
Monteiro *et al.* (2012) utilizaron fragmentos de los genes mitocondriales citocromo b (*CYT b*) y nicotinamida adenina dinucleótido deshidrogenasa 4 (*ND4*) para analizar las poblaciones de *T. dimidiata* y contribuir a la comprensión de este complejo de subespecies y entender mejor su distribución en el continente americano. En este estudio encontraron 4 grupos monofiléticos (Figura No. 15): grupo I, distribuido en el sur de México y a través de Centroamérica, y llega hasta Colombia y Ecuador; grupo II, que incluye poblaciones del oeste y suroeste de México; grupo III que comprende la península de Yucatán y el grupo IV que está ubicado en Belice (Figura No. 16). También se determinó el tiempo de divergencia de estos 4 grupos siendo estos de 2.81, 1.91, 0.87 y 0.69 millones de años para los grupos I, II, III y IV respectivamente.

Figura No. 15. Árboles filogenéticos de *T. dimidiata* utilizando el método de Maximum Likelihood.



El árbol de la izquierda es basado en secuencias de *CYT b* mientras que el de la derecha es basado en secuencias de *ND4* (Monteiro *et al.* 2012).

**Figura No. 16.** Distribución geográfica de los 4 grupos de *T. dimidiata* según secuencias de *CYT b* y *ND4* (Monteiro *et al.* 2012).



**4. Coespeciación vector-parásito en enfermedad de Chagas.** Un estudio de coespeciación busca determinar las asociaciones geográficas o ecológicas entre dos clados. En el caso de coespeciación entre parásito y huésped se han formulado varias reglas, entre ellas la más utilizada es la regla de Fahrenholz. Esta regla establece que la filogenia de un linaje de parásitos refleja la filogenia de sus huéspedes (Brooks 1979). La coespeciación entre dos taxones puede deberse a la descendencia, en la que los ancestros de los clados se asociaron y la asociación se heredó o por el proceso de colonización, en el que las especies se originaron en contextos distintos y luego se relacionaron por

transferencia o dispersión. Maia Da Silva *et al.* (2007) realizaron un estudio para identificar las relaciones evolutivas entre linajes de *Trypanosoma rangeli* e insectos vectores del género *Rhodnius*. Para esto se comparó la filogenia de aislados del parásito con la de las especies del vector.

Se utilizaron 33 aislados de *T. rangeli*, se les realizó un análisis filogenético utilizando secuencias del spliced-leader gene y se comparó con la filogenia de especies de *Rhodnius* utilizando el gen *CYT b*. Maia Da Silva *et al.* (2007) encontraron una congruencia entre el análisis filogeográfico de linajes *T. rangeli* y diferentes complejos de *Rhodnius*, con lo que apoyan la hipótesis de una larga coexistencia entre parásitos y vectores, con una divergencia en linajes asociada a especies simpátricas de *Rhodnius* aparentemente sin ninguna asociación a hospederos vertebrados particulares. Para determinar la coespeciación entre vector y parásito se utilizó el programa Treemap 2.02 (Page y Charleston 1998).

La congruencia entre las filogenias de parásitos y de los huéspedes se pueden clasificar en dos métodos: basados en eventos y de ajuste global (Desdevises 2007). Entre los métodos basados en eventos está el análisis de parsimonia de Brooks y el de árboles reconciliados. Este último fue el utilizado por Maia Da Silva *et al.* (2007). El análisis de parsimonia de Brooks es un método cladístico propuesto por Brooks (1979), 1990), Wiley (1987), 1988a), b) para analizar la coespeciación entre dos o más taxones diferentes. En este método se marcan los nodos en los cladogramas y se construye una matriz de datos donde las filas representan las especies de huéspedes y en cada columna se marca presencia-ausencia del parásito. Un problema con este método es que no siempre produce reconstrucciones biológicamente razonables (Page 1994b). Una metodología alternativa fue propuesta por (Page 1993, 1994a) basado en la idea de reconciliar las filogenias de dos diferentes taxones. En este método se determinan las incongruencias entre cladogramas del huésped y el parásito y se construye un solo cladograma por medio de duplicaciones, pérdidas, eventos de coespeciación y cambios de huéspedes que permita reconciliar ambas filogenias (Morrone 2010).

Por el otro lado, los métodos de ajuste global cuantifican el nivel de congruencia entre las filogenias del hospedero y del parásito. Estos análisis por lo general están basados en distancias genéticas a diferencia de los basados en eventos ((Balbuena *et al.* 2013, Hommola *et al.* 2009, Legendre *et al.* 2002). Entre los métodos más usados es ParaFit (Legendre *et al.* 2002), HCT (Hommola *et al.* 2009) y PACo (“Procrustean Approach to Cophylogeny”) que tiene un enfoque procusteano para cofilogenia (Balbuena *et al.* 2013). Este último método se basa en el análisis procusteano, que es una técnica utilizada para desplegar dos o más datos multivariados en una superimposición óptima (Balbuena *et al.* 2013). Este método provee un gráfico construido a partir de coordenadas creadas con un enfoque procusteano en el que se pueden observar asociaciones existentes entre hospedero y parásito (Balbuena *et al.* 2013).

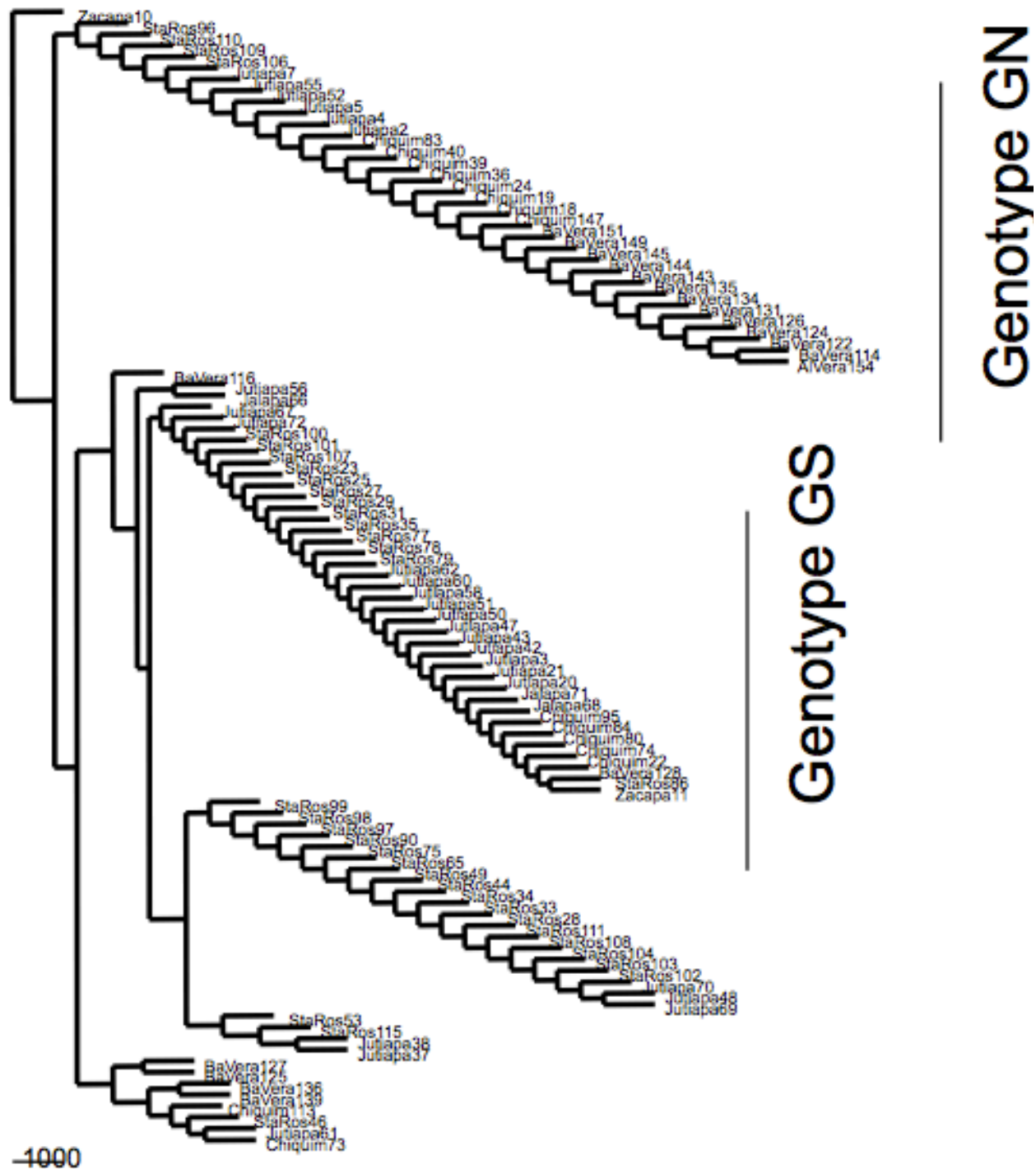
**5. Trabajos previos realizados en Guatemala.** King *et al.* (2011) encontraron que los factores de riesgo ambientales y domiciliarios para la infestación de *Triatoma dimidiata* en Baja Verapaz diferían de los factores de riesgo de Jutiapa. Respecto a los factores ambientales, en Baja Verapaz se determinó que un incremento en el promedio de la temperatura de la superficie durante el día, en el promedio de infrarrojo medio y en la proporción de cultivos a 2 km de las aldeas estaban asociados con un incremento en el riesgo de infestación. En Jutiapa, el índice normalizado de diferencia de vegetación (NDVI), tenía un efecto positivo en el riesgo de infestación, mientras que el promedio de infrarrojo medio, el promedio de la temperatura durante el día y las proporciones de cultivos y asentamientos a 2 km de las aldeas, estaban asociados con una disminución en el riesgo de infestación. En el caso de los factores de riesgo domiciliarios, en Baja Verapaz había un mayor riesgo en construcciones con adobe y menor en las casas con techo de aluminio. En Jutiapa, el riesgo es mayor en casas con suelos sucios y techos de aluminio o teja y más bajo en domicilios con piso de cerámica o concreto. Así mismo, se encontró que paredes construidas de bajareque fueron asociadas con un incremento en el riesgo de infestación, mientras que paredes de ladrillo y block tuvieron disminuían el riesgo de infestación. Contrastantemente, los efectos de materiales como techos de aluminio o teja fueron diferentes entre los dos departamentos. El hecho de que existan distintos factores de riesgo ambientales y domiciliarios para la infestación entre estos dos

departamentos, apoya la idea de que existen distintos ecosistemas relacionados al vector, lo que podría representar distintos ciclos de transmisión y verse reflejado en asociaciones de genotipos del vector con genotipos del parásito.

Rivera (2003) identificó 3 microsatélites polimórficos (MS3, MS5 y MS6) para *T. cruzi* aislados de *T. dimidiata*, *R. prolixus* y *Rhodnius pallescens*; reservorios y humanos de 6 departamentos endémicos de Guatemala, Panamá, Ecuador y Brasil. Con estos 3 microsatélites polimórficos, Rivera *et al.* (2004) identificaron dos genotipos en Guatemala según su distribución geográfica (Figura No. 17). En el norte de Guatemala, específicamente en el departamento de Baja Verapaz, la mayoría de los aislados de *T. cruzi* (14/30) pertenecían al genotipo GN (Guatemala North), mientras que solamente 1/30 pertenecía al genotipo GS (Guatemala South). Por el otro lado, en el sureste de Guatemala, principalmente en los departamentos de Chiquimula, Jalapa, Jutiapa y Santa Rosa, los aislados pertenecían principalmente al genotipo GS (29/73) y solamente 9/73 al genotipo GN. La diferencia en la distribución geográfica de cada cepa fue significativa ( $\chi^2= 20.9$ ,  $df=2$ ,  $p<0.0001$ ).

Entre algunos estudios utilizados para encontrar asociaciones entre parásito y vector está el de Paiz (2008) en el que se utilizó el miniexón para caracterizar los linajes de *T. cruzi* presentes en *T. dimidiata* y *R. prolixus*. No se encontró una diferencia significativa entre los linajes de *T. cruzi* aislados de *T. dimidiata* y los aislados de *R. prolixus*, lo que indica un traslape entre los ciclos domésticos y silvestres. Así mismo, Grajeda (2006) utilizó genes de minicírculo para encontrar diferencias en la infección con *T. cruzi* y *T. rangeli* y microsatélites para encontrar diferencias entre los parásitos aislados de *T. dimidiata* y *R. prolixus*. Se determinó que *R. prolixus* está principalmente infectado con *T. rangeli* y *T. dimidiata* está principalmente infectado con *T. cruzi*. Además, se encontró que existía diferencia entre las poblaciones de *T. cruzi* aisladas de distintas especies de vectores, sugiriendo que los ciclos de transmisión son distintos para ambos.

**Figura No. 17.** Análisis filogenético de aislados de *T. cruzi* en Guatemala usando la distancia genética de Cavalli-Sforza y el método de Neighbor-Joining (Rivera *et al.* 2004).



## B. Justificación

Los estudios de genética de poblaciones son una gran herramienta para entender la epidemiología de la enfermedad de Chagas y establecer estrategias más efectivas del control vectorial y del parásito. Estos estudios permiten tener estimados de la diversidad genética presente en las poblaciones, por lo que sirven para predecir la adaptabilidad del vector (por ejemplo, a la domesticación o resistencia a insecticidas). Además, estudios de flujos genéticos entre las poblaciones son útiles para definir la cobertura geográfica para un control exitoso del vector, la importancia de las poblaciones silvestres en la infestación del área doméstica o las fuentes de reinfestación luego de un rociamiento con insecticida. Cuando una población de triatomíneos está presente de manera doméstica, peridoméstica y selvática y el flujo genético entre ellos es significativo, el rociamiento de insecticida es de una eficacia limitada. Es importante conocer las poblaciones del vector antes de la aplicación de químicos para establecer líneas base y poder monitorear mejor la incidencia y prevalencia de esta enfermedad. Además, el entender la variabilidad genética de *T. cruzi* ayuda a elucidar respuestas sobre la variabilidad en los resultados clínicos, en los cuales se tiene desde infecciones asintomáticas hasta enfermedades crónicas severas en las que un genotipo puede estar asociado con la preferencia por el tejido cardiovascular o gastrointestinal. No obstante, aún no se ha encontrado ninguna relación de estas variables clínicas con una variedad del parásito en específico.

En Guatemala, según datos del Ministerio de Salud Pública del año 2009, hay aproximadamente 4 millones de personas en riesgo de adquirir esta enfermedad y 730,000 se encuentran infectadas. Luego de haber seguido un programa de rociamiento de insecticida se necesitan de estudios de genética de poblaciones para llegar a comprender la prevalencia de esta enfermedad en algunas regiones del país sobre todo en las regiones Central (Alta y Baja Verapaz) y del Sureste (Zacapa, Chiquimula, Jalapa, Jutiapa y Santa Rosa). Además, en Guatemala son pocos los estudios realizados sobre la diversidad genética tanto del parásito como del vector. No existe ningún estudio previo de diversidad genética utilizando genes del maxicírculo para *T. cruzi* los cuales han demostrado tener una mayor resolución que muchos genes nucleares. Así mismo, no

existen estudios que integren aspectos como las interacciones vector-parásito con datos de genética de poblaciones para poder entender la relación existente entre la estructura de una población vectorial y la transmisión del parásito. El realizar estudios de variabilidad genética tanto del vector como del parásito son de gran importancia para poder llegar a comprender mejor la enfermedad de Chagas en el país y poder erradicarla de una manera más fácil y efectiva.

### C. Objetivos

#### 1. General

- a. Determinar si existe asociación entre genotipos de *T. cruzi* y de *T. dimidiata* en ambientes domésticos de Guatemala

#### 2. Específicos

- a. Implementación de un PCR para genes de maxicírculo de *T. cruzi*.
- b. Generación de árboles filogenético de *T. cruzi* en Guatemala con base al alineamiento de las secuencias de los genes de maxicírculo de *T. cruzi*.
- c. Implementación de un PCR para los genes mitocondriales *ND4* y *CYT b* a partir de patas conservadas en etanol al 70% de *T. dimidiata* de las cuales se aislaron los parásitos.
- d. Generación de árboles filogenéticos de *T. dimidiata* en Guatemala con base al alineamiento de las secuencias de *ND4* y *CYT b*.
- e. Determinar si existe congruencia de filogenias entre *T. dimidiata* y sus aislados de *T. cruzi*.

### D. Hipótesis

**1. Hipótesis nula:** No existen asociaciones entre genotipos de *T. cruzi* y genotipos de *T. dimidiata* en ambientes domésticos en Guatemala.

**2. Hipótesis de trabajo:** Existen asociaciones entre genotipos de *T. cruzi* y genotipos de *T. dimidiata* en ambientes domésticos en Guatemala.



## II. METODOLOGÍA

### A. Procedimientos

#### 1. Genotipificación de *T. cruzi*

a. **Selección de muestras de ADN.** Se seleccionaron 15 muestras de ADN conservadas a -20°C extraídas de cultivos de *T. cruzi* realizadas por Rivera (2003). Estas muestras se seleccionaron con base a los distintos genotipos encontrados por medio de microsatélites (Rivera *et al.* (2004) y con base a las muestras de las cuales ya se tenía una secuencia de los genes de maxicírculo (Zumaya *et al.* 2012). Asimismo, se utilizó ADN previamente aislado de humano (H7) como control positivo.

**Cuadro No. 2.** Muestras de *T. cruzi* seleccionadas para el análisis cofilogenético

ID	Genotipo MS <i>T. cruzi</i>	Depto.	Municipio	Aldea	Lat.	Long.	Altitud (msnm)
11	GS	Zacapa	Zacapa	Plan del Morro	14.88231	-89.6043	706
38	G2	Jutiapa	Yupiltepeque	La Perla	14.15724	-89.768	775
46	G3	Sta. Rosa	Sta. Cruz el Naranjo	Agua Blanca	14.39431	-90.3633	1170
53	G2	Sta. Rosa	Oratorio	El Amatillo	14.19525	-90.1096	605
61	G3	Jutiapa	Atescatempa	Contepeque	14.13732	-89.7511	875
67	GS	Jutiapa	Conguaco	Los Díaz	14.01862	-90.0083	731
70	G1	Jutiapa	Moyuta	El Rodeo	14.287	-89.844	778
83	GN	Chiquimula	Olopa	Carrizal	14.7171	-89.2523	747
99	G1	Sta. Rosa	Sta. María Ixhuitán	El Cuje	14.10114	-90.2203	739
100	GS	Sta. Rosa	Sta. María Ixhuitán	Cerro Grande	14.23131	-90.2746	1134
113	G3	Chiquimula	Esquipulas	Belén	14.60164	-89.3575	1088
127	G3	Baja Verapaz	San Miguel Chicaj	Las Minas	15.14406	-90.4511	1055
128	GS	Baja Verapaz	Cubulco	Xinacatí I	15.15036	-90.6095	975
151	GS	Baja Verapaz	San Jerónimo	Bodega	15.06975	-90.1867	1485
154	GN	Alta Verapaz	Fray Bartolomé de Las Casas	El Cacao	15.594	-90.149	143

b. **PCR para genes de maxicírculo de *T. cruzi*.** Se amplificaron 10 fragmentos de genes de maxicírculo: *ND4* (NADH deshidrogenasa subunidad 4), *ND1* (NADH deshidrogenasa subunidad 1), *COII* (Citocromo *c* oxidasa subunidad II), *MURF1* (Maxicircle unidentified Reading frame 1, dos fragmentos), *CYT b* (Citocromo *b*), *12S ARNr*, *9S ARNr* y *ND5* (NADH deshidrogenasa subunidad 5, dos fragmentos). Los primers fueron diseñados según Messenger *et al.* (2012). Las amplificaciones para todos

los 10 fragmentos se llevaron a cabo mediante una reacción en cadena de la polimerasa con un volumen final de 25  $\mu$ l conteniendo: Buffer de reacción 1X,  $MgCl_2$  1.5mM, dNTPs 0.2 mM, 10 pmol de cada primer, 1 U de *Taq* polimerasa y de 10100 ng de ADN. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo mediante una desnaturalización inicial a 94°C durante 3 min., 30 ciclos de amplificación (94°C por 30s, 50°C por 30s, 72°C por 30s) y una elongación final a 72°C durante 10 min. Todos los primers cuentan con la misma temperatura de alineamiento.

**c. Electroforesis en gel de agarosa del producto amplificado.** Los productos del PCR de genes de maxicirculo se visualizaron en un gel de agarosa al 1.5%, se corrieron a 100V durante 30 min y se tiñeron con bromuro de etidio. Como referencia se utilizó un marcador de peso molecular de 1Kb (Invitrogen).

**d. Purificación de producto de PCR para genes de maxicirculo de *T. cruzi*.** Se utilizó el kit PCR – Wizard® SV Gel and PCR CleanUp System (Promega)

**e. Secuenciación de los genes de maxicirculo amplificados.** Los fragmentos amplificados se secuenciaron en el Center for Disease Control (CDC), Atlanta, USA, utilizando un secuenciador ABI PRISM®3100 Genetic Analyzer.

**f. Análisis filogenético.** Las secuencias de cada fragmento amplificado para cada una de las 15 muestras se alinearon mediante el método de ClustalW. Se determinó el modelo de sustitución de nucleótidos que más se ajustaba a los datos evaluando su significancia mediante el Criterio de Información de Akaike (AIC). El modelo seleccionado para estos datos fue el General de Tiempo Reversible (GTR). Posteriormente, se creó un árbol filogenético utilizando el algoritmo de Maximum Likelihood con 1,000 bootstraps utilizando ese modelo de sustitución de nucleótidos. Para todos los análisis, desde el alineamiento hasta el árbol filogenético, se empleó el programa MEGA5.1 (Tamura *et al.* 2011). Además, se realizaron arboles filogenéticos utilizando inferencia Bayesiana con el programa Mr. Bayes 3.2.1 utilizando el mismo modelo evolutivo por 10,000,000 generaciones. Como grupo externo se utilizaron las

secuencias publicadas en línea del individuo M13 proveniente de Barinas, Venezuela que también es de linaje TcI pero pertenece a un genotipo encontrado solo en Suramérica (Messenger *et al.* 2012). Se construyeron arboles de microsatélites a partir de los alelos encontrados por Rivera *et al.* (2004) utilizando la distancia de Cavalli-Sforza y el método de Neighbor-Joining con 1,000 bootstraps mediante el software Populations 1.2.31 (<http://bioinformatics.org/~tryphon/populations/>). Como grupo externo se utilizaron los individuos CAN3 y la CepaY provenientes de Brasil.

Se realizó una red de haplotipos mediante un análisis de redes de Median-Joining (Bandelt *et al.* 1999) utilizando el programa NETWORK 4.5.1.6 (<http://www.fluxus-engineering.com>). También, se calculó la diversidad de nucleótidos ( $\pi$ ) (Tabaru *et al.* 1999) de las secuencias obtenidas de los genes de maxicírculo utilizando el programa DnaSP v5 (Zeledon *et al.* 2001b). Por último, se determinó el número efectivo de alelos mediante el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse 2012).

## 2. Genotipificación de *T. dimidiata*

**a. Selección de las muestras de patas.** Se seleccionaron muestras de patas de *T. dimidiata* a partir de las cuales se aisló el parásito utilizado en la extracción de ADN de *T. cruzi*. Se incluyeron también las muestras de patas de *T. dimidiata* de las muestras de las que ya se tenía secuencia de los fragmentos del maxicírculo según Zumaya *et al.* (2012). Estas muestras se encontraban almacenadas en etanol al 70%.

**b. Extracción de ADN de patas de *T. dimidiata*.** Se extrajo el ADN a partir de patas almacenadas en etanol 70% a partir de un protocolo adaptado (Marcet 2012) del kit Wizard® Genomic DNA purification kit (Promega). Las patas se dejaron secando sobre papel absorbente durante toda la noche a temperatura ambiente. Las patas secas se sumergieron en nitrógeno líquido y se maceraron. Se agregaron 500 ul de buffer de lisis (“Nuclei Lysis solution”) y se mezclaron con vortex. Se incubaron en un baño térmico a 65°C por 30 min. y luego se dejaron reposando a temperatura ambiente por 10 min. Se agregaron 3 ul de “RNase” y se mezclaron por inversión. Se incubaron en baño térmico a

37°C por 30 min y luego se dejaron reposando a temperatura ambiente por 10 min. Se agregaron 200 ul de “Protein precipitation solution”, se mezclaron con vortex y se dejaron reposando en hielo por 20 min. Se centrifugaron por 15 min a 15,000 g. Se descartó el sobrenadante y se agregó 500 ul de Isopropanol y se mezcló por inversión. Se dejó reposar las muestras a 20°C durante 2h. Se centrifugó a 15 min. a 15,000 g y se descartó el sobrenadante. Se agregaron 500 ul de etanol 70% y se mezcló por inversión. Se centrifugo otra vez 15 minutos a 15,000 g. Se descartó el sobrenadante y se dejó secando en papel absorbente. Por último, ya secas las muestras se resuspendieron en buffer TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8).

**c. PCR anidado para ND4 de *T. dimidiata*.** Se amplificó el gen *ND4* utilizando los primers ND4deg01F y ND4b02R y para el PCR anidado los primers ND4deg y ND4neR según Monteiro *et al.* (2012). La amplificación se realizó mediante PCR anidado con un volumen final de 25 ul conteniendo: Buffer de reacción 1X, MgCl<sub>2</sub> 2mM, dNTPs 0.2 mM, 10 pmol de cada primer, 1 U de *Taq* polimerasa y de 10100 ng de ADN. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo mediante una desnaturalización inicial a 94°C durante 5 min., seguido por 35 ciclos de amplificación (94°C por 30s, 47°C por 30s, 72°C por 1 min) y una elongación final a 72°C durante 10 min.

**d. PCR para *CYT b* de *T. dimidiata*.** Se amplificó el gen *CYT b* utilizando los primers CYTB7432F y CYTB7433R diseñados según Monteiro *et al.* (2003). Se amplificó este fragmento mediante PCR con un volumen final de 25 ul conteniendo: Buffer de reacción 1X, MgCl<sub>2</sub> 2mM, dNTPs 0.2 mM, 10 pmol de cada primer, 1 U de *Taq* polimerasa y de 10100 ng de ADN. Debido a las bajas concentraciones de ADN obtenido, se realizó un segundo PCR con las mismas condiciones utilizando como ADN templado 1 ul de producto de PCR. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo mediante una desnaturalización inicial a 94°C durante 3 min., seguido por 30 ciclos de amplificación (94°C por 1 min, 45°C por 1 min, 72°C por 1 min) y una elongación final a 72°C durante 10 min.

**e. Electroforesis en gel de agarosa del producto amplificado.** Los productos del PCR de genes de maxicírculo se visualizaron en un gel de agarosa al 1.5%, se corrieron a 100V durante 30 min y se tiñeron con bromuro de etidio. Como referencia se utilizó una escalera molecular de 1Kb (Invitrogen).

**f. Purificación de producto de PCR para genes de maxicírculo de *T. cruzi*.** Se utilizó el kit PCR – Wizard® SV Gel and PCR CleanUp System (Promega)

**g. Secuenciación de los fragmentos amplificados de *ND4* y *CYT b*.** Los fragmentos amplificados se secuenciaron en el Center for Disease Control (CDC), Atlanta, USA utilizando un secuenciador ABI PRISM®3100 Genetic Analyzer.

**h. Análisis filogenético.** Las secuencias de cada fragmento amplificado para cada una de las 20 muestras se alinearon mediante el método de ClustalW. Se determinó el modelo de sustitución de nucleótidos que más se ajustaba a los datos evaluando su significancia mediante el Criterio de Información de Akaike (AIC). El modelo seleccionado para estos datos fue el de Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) con distribución Gamma con sitios invariables (HKY+G+I). Posteriormente, se creó un árbol filogenético utilizando el algoritmo de Maximum Likelihood con 1,000 bootstraps utilizando ese modelo de sustitución de nucleótidos. Para todos los análisis, desde el alineamiento hasta el árbol filogenético, se empleó el programa MEGA5.1 (Tamura *et al.* 2011). Además, se realizaron arboles filogenéticos utilizando inferencia Bayesiana con el programa Mr. Bayes 3.2.1 utilizando el mismo modelo evolutivo por 10,000,000 de generaciones. Como grupo externo se utilizaron las secuencias publicadas en línea para *Triatoma hegneri* hgC207 (Monteiro *et al.* 2012). Además, se realizó una red de haplotipos mediante un análisis de redes de Median-Joining (Bandelt *et al.* 1999) utilizando el programa NETWORK 4.5.1.6 (<http://www.fluxus-engineering.com>). También, se calculó la diversidad de nucleótidos ( $\pi$ ) (Tabaru *et al.* 1999) de las secuencias obtenidas de los genes de maxicírculo utilizando el programa DnaSP v5 (Zeledon *et al.* 2001b). Por último, se determinó el número efectivo de alelos mediante el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse 2012).

### 3. Asociación vector-parásito

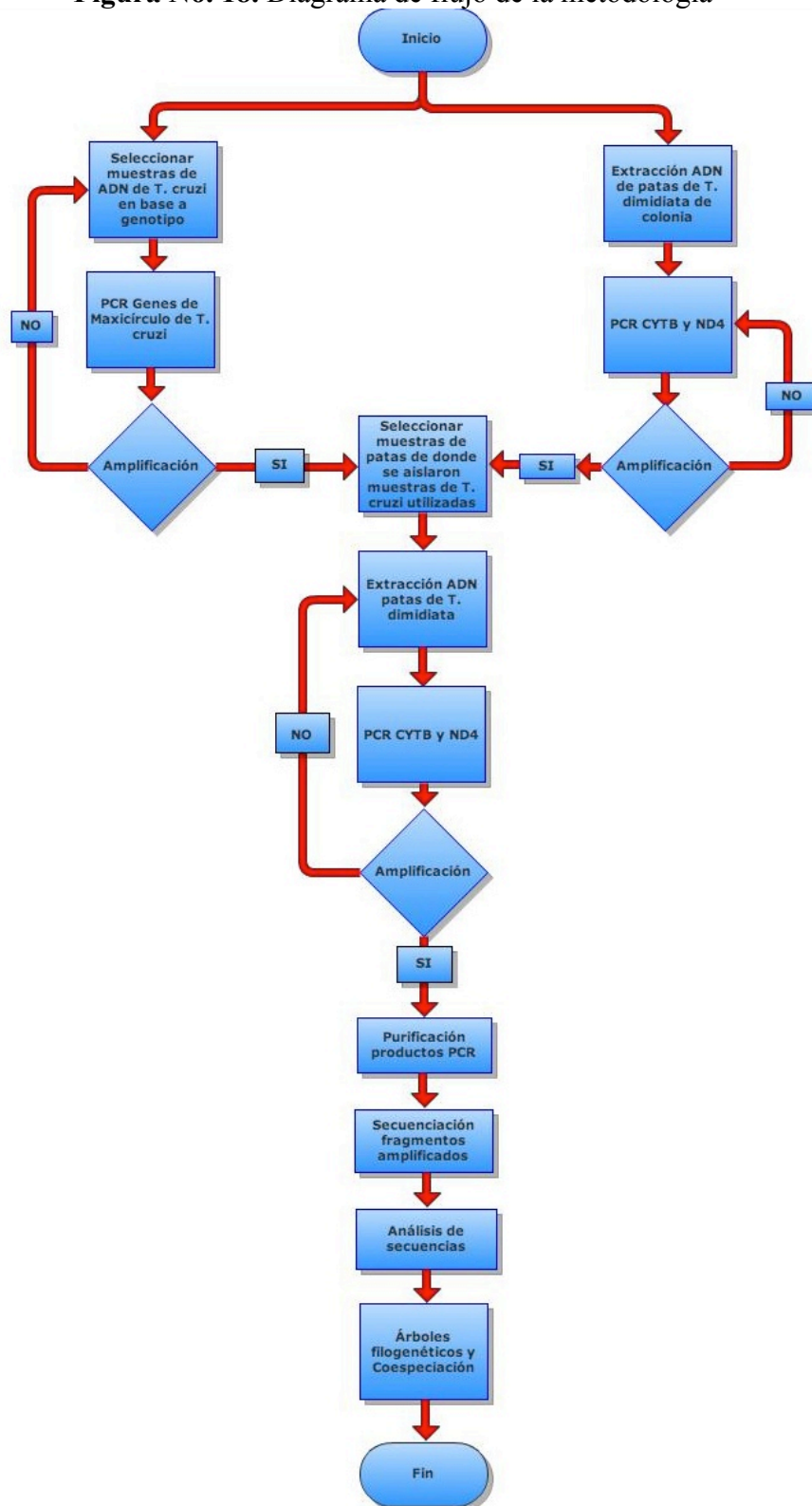
**a. Congruencia de filogenias entre vector y parásito.** Se realizaron tanglegrams utilizando el programa Treemap 3.0b (Charleston y Robertson 2002) y se realizó un análisis de congruencia de filogenias utilizando el método de árboles reconciliados por medio del programa Jane (Conow *et al.* 2010) usando los parámetros por defecto. Se realizó una prueba de Mantel de 999 permutaciones utilizando el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse 2012) para distancias genéticas de *T. cruzi* y *T. dimidiata* calculadas por el modelo de 2 parámetros de Kimura. Por último, se realizó un análisis de enfoque procusteano para cofilogenia (PACo) (Balbuena *et al.* 2013) de 10,000 permutaciones con modificaciones a las gráficas.

**4. Reloj Molecular.** Se estimó el tiempo de divergencia de *T. cruzi* con base a las secuencias de los genes *ND1-COII* según los parámetros establecidos por Lewis *et al.* (2011) calibrando el reloj molecular según el tiempo de divergencia entre *T. cruzi* y *T. cruzi marinkellei*. Para esto se utilizaron los programas BEAST v.1.5.3 (Monroy *et al.* 2003a) y Tracer v1.5 (Rambaut y Drummond 2007). También se estimó el tiempo de divergencia de *T. dimidiata* calibrando el reloj molecular con las tasas de evolución determinadas para el gen *CYT b* según Pfeiler *et al.* (2006). Esto se realizó mediante el programa MEGA5.1 (Tamura *et al.* 2011).

**5. Análisis biogeográfico.** Se realizaron pruebas de Mantel para las distancias genéticas de *T. cruzi* y *T. dimidiata* junto con datos de elevación y distancia geográfica utilizando el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse 2012). Para los datos de elevación se utilizó la distancia euclidiana y se transformaron a una escala logarítmica con el programa SPSS versión 20. Se intentó encontrar posibles relaciones de los sitios muestreados con la elevación, precipitación y temperatura mediante sistemas de información geográfica utilizando el programa ArcGis 9.3.1 y la base de datos de Villalba *et al.* (1992).

Un resumen de la metodología a seguir se encuentra representada en la Figura No. 18.

**Figura No. 18.** Diagrama de flujo de la metodología





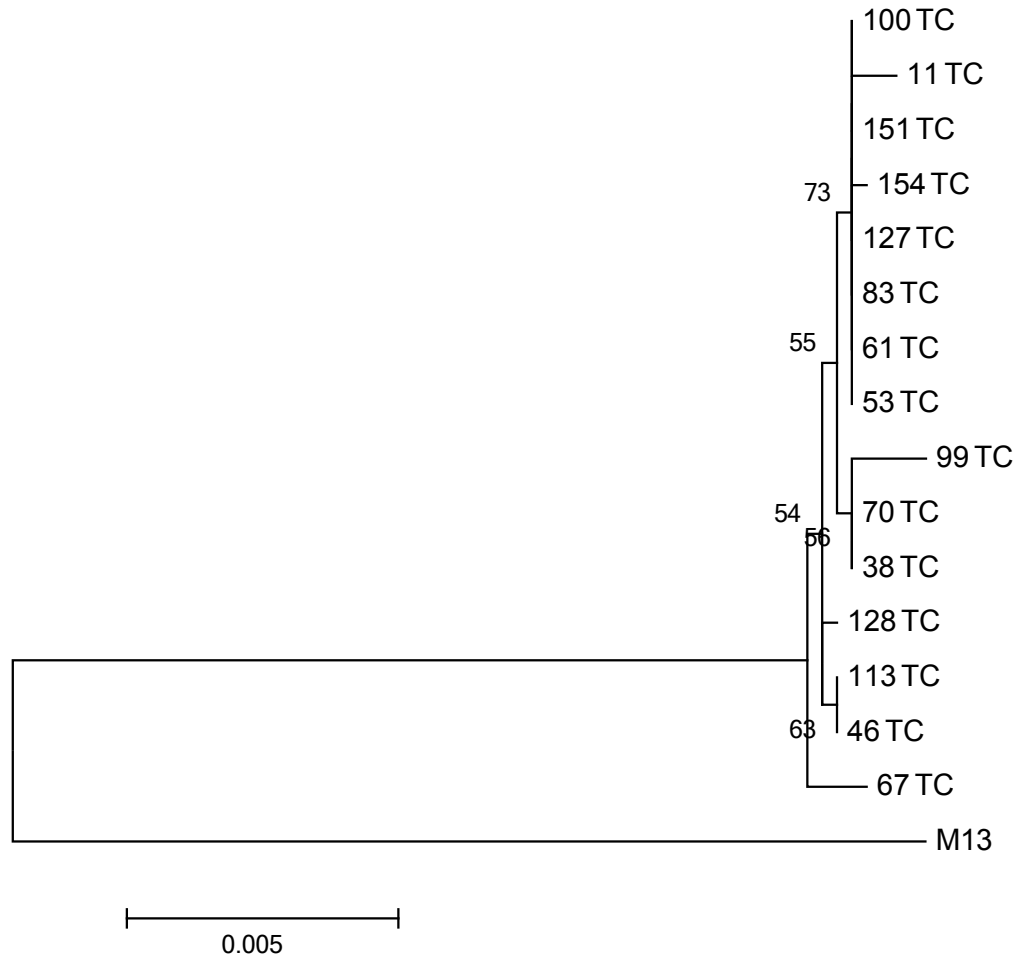
### III. RESULTADOS

#### A. Inferencia filogenética de *T. cruzi* y *T. dimidiata* a partir de genes mitocondriales

**1. Inferencia filogenética de *T. cruzi*.** El análisis filogenético de la concatenación de los genes de maxicírculo de *T. cruzi* mostró una gran homogeneidad dentro de los individuos. Esto se puede verificar en el árbol filogenético construido mediante el método de Maximum Likelihood (Figura No. 19) e Inferencia Bayesiana (Figura No. 20). Las agrupaciones obtenidas con ambos métodos coinciden, obteniéndose 4 clados. El primer clado está formado por los individuos 100, 11, 154, 151, 127, 83, 61 y 53; el segundo clado formado por los individuos 99, 70 y 38; el tercero formado por los individuos 128, 113 y 46; y el último formado por el individuo 67. Sin embargo, cabe mencionar que estos clados a pesar de tener una probabilidad posterior bayesiana alta (con excepción del clado 3), no mostraron valores de bootstraps fuertes siendo estos de 73, 54, 56 y 63 respectivamente.

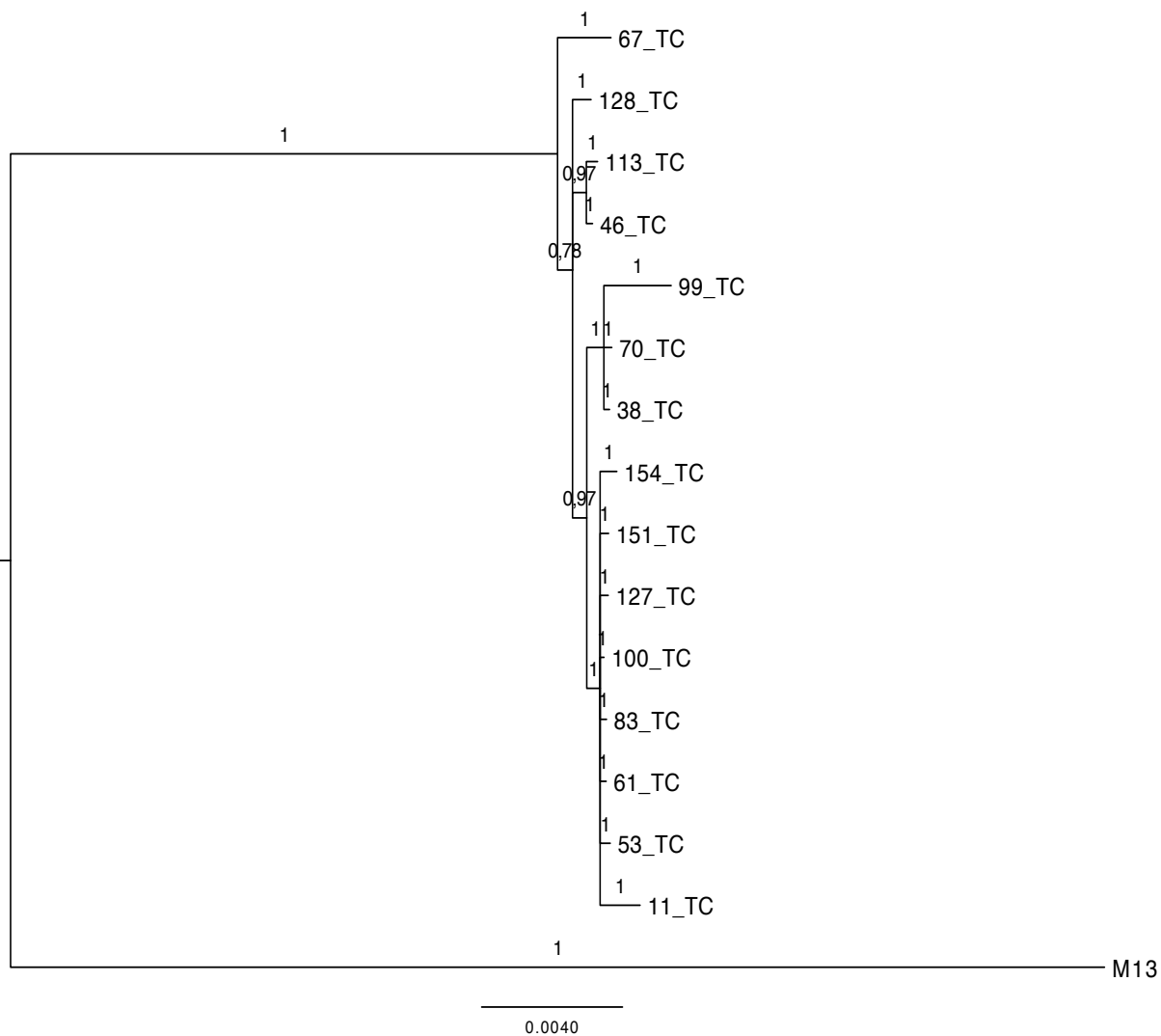
**2. Inferencia filogenética *T. dimidiata*.** En contraste, el análisis filogenético de *T. dimidiata* demostró una gran cantidad de polimorfismos en el alineamiento de secuencias. Los árboles filogenéticos construidos tanto con Maximum Likelihood (Figura No. 21) como con Inferencia Bayesiana (Figura No. 22) demuestran la presencia de 4 clados. El primer clado está definido por los individuos 154, 151, 128, 127 y 11; el segundo clado está conformado por los individuos 100, 99, 67, 61, 113, 38 y 70; el tercero conformado por los individuos 53 y 46 y el cuarto por el individuo 83. Estos clados mostraron valores de bootstrap y de probabilidad posterior bayesiana altos, siendo éstos arriba de 95 y de 1 respectivamente

**Figura No. 19.** Árbol filogenético construido mediante el método de Maximum Likelihood a partir de la concatenación de las secuencias de genes de maxicírculo de *T. cruzi*



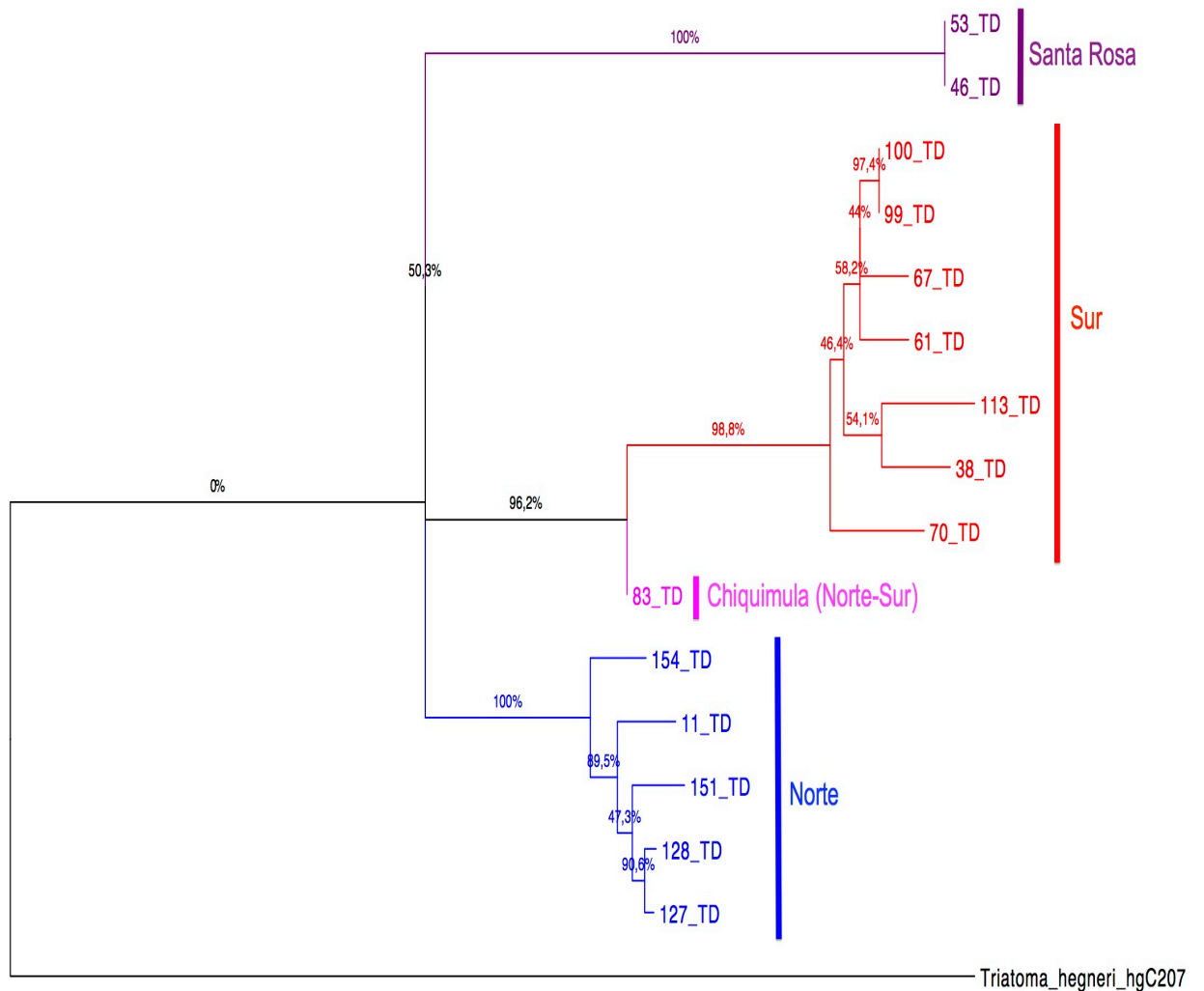
Se utilizó el modelo General de Tiempo Reversible (GTR) y como grupo externo el aislado M13 que proviene de Barinas, Venezuela que también es de linaje TcI pero pertenece a un genotipo encontrado solo en Suramérica (Messenger *et al.* 2012). Los valores en los nodos muestran los bootstraps a partir de 1000 réplicas. Las letras TC hacen referencia a que son genes de *T. cruzi* (se colocaron estas iniciales para evitar posibles confusiones con *T. dimidiata*).

**Figura No. 20.** Árbol filogenético construido mediante el método de inferencia Bayesiana a partir de la concatenación de las secuencias de maxicírculo de *T. cruzi*.



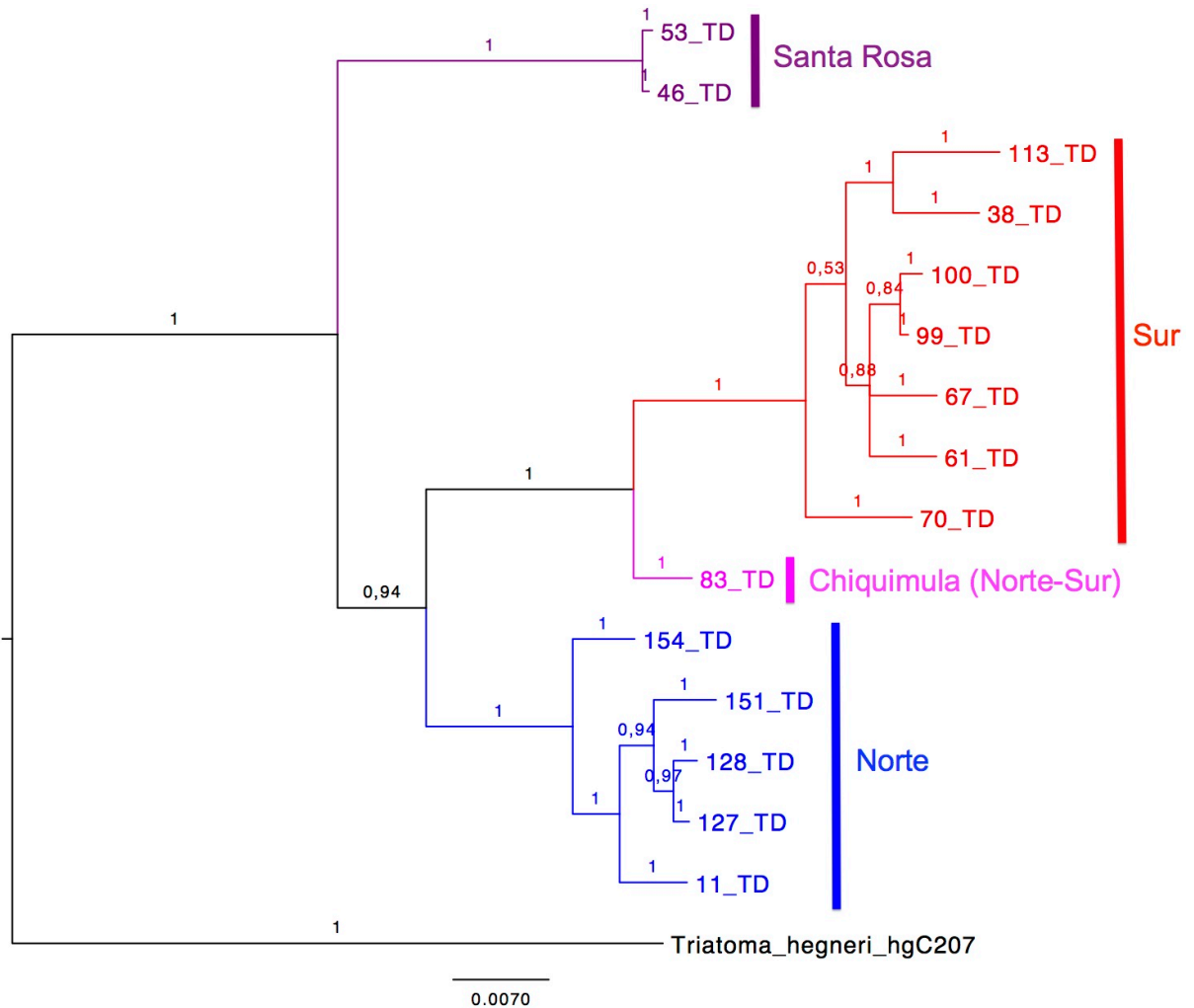
Se utilizó el modelo General de Tiempo Reversible (GTR) y como grupo externo el aislado M13 que proviene de Barinas, Venezuela que también es de linaje TcI pero pertenece a un genotipo encontrado solo en Suramérica (Messenger et al. 2012). Los valores en los nodos muestran la probabilidad posterior bayesiana a partir de 10,000,000 de generaciones en la cadena de Monte Carlo Markov. Las letras TC hacen referencia a que son genes de *T. cruzi* (se colocaron estas iniciales para evitar posibles confusiones con *T. dimidiata*).

**Figura No. 21.** Árbol filogenético construido mediante el método de Maximum Likelihood a partir de la concatenación de las secuencias de *CYT b* y *ND4* de *T. dimidiata*.



Se utilizó el modelo de Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) con distribución Gamma con sitios invariables (HKY+G+I) y como grupo externo la especie *Triatoma hegneri* hgC207 (Monteiro *et al.* 2012). Los valores en los nodos muestran los bootstraps a partir de 1000 réplicas. Las letras TD hacen referencia a que son genes de *T. dimidiata* (se colocaron estas iniciales para evitar posibles confusiones con *T. cruzi*).

**Figura No. 22.** Árbol filogenético construido mediante el método de inferencia Bayesiana a partir de la concatenación de las secuencias de *CYT b* y *ND4* de *T. dimidiata*.

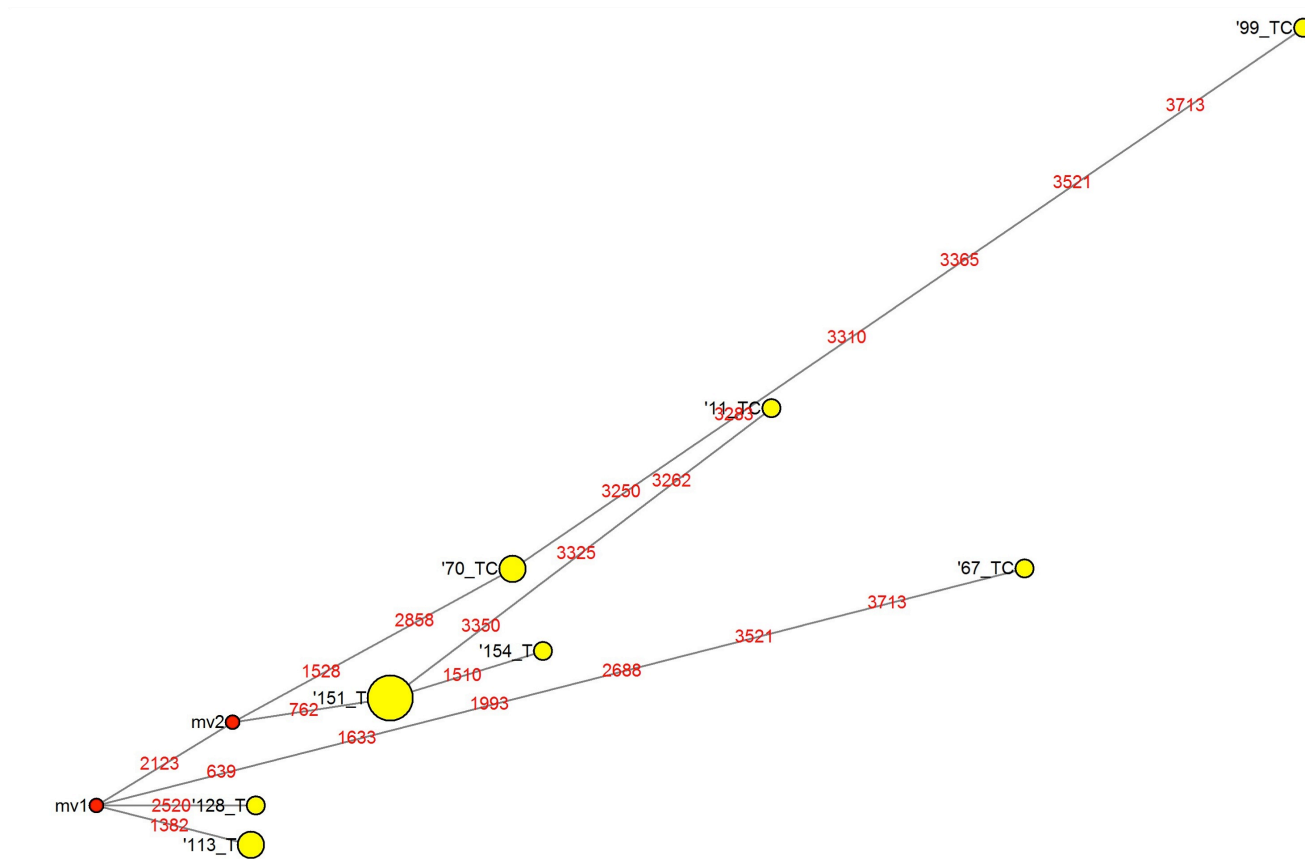


Se utilizó el modelo de Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) con distribución Gamma con sitios invariables (HKY+G+I) y como grupo externo la especie *Triatoma hegneri* hgC207 (Monteiro *et al.* 2012). Los valores en los nodos muestran la probabilidad posterior bayesiana a partir de 10,000,000 de generaciones en la cadena de Monte Carlo Markov. Las letras TD hacen referencia a que son genes de *T. dimidiata* (se colocaron estas iniciales para evitar posibles confusiones con *T. cruzi*).

**3. Redes de Haplotipos.** Se realizaron redes de haplotipos utilizando las secuencias de maxicirculo para en el caso de *T. cruzi* y las secuencias de *CYTb* y *ND4* para *T. dimidiata*. La red de haplotipos construída para *T. cruzi* (Figura No. 23) permite observar

las pocas diferencias genéticas encontradas en las muestras a una mayor resolución que los árboles filogenéticos. Se puede observar que existe un gran homogeneidad entre las muestras, ya que la mayoría de los haplogrupos difiere uno de otro por 3 o menos mutaciones. No obstante, se puede observar claramente que los individuos 67, 11 y 99 tienen más mutaciones acumuladas que el resto.

**Figura No. 23.** Red de Haplotipos de *T. cruzi* utilizando secuencias de genes de maxícirculo mediante el método de Median-Joining.

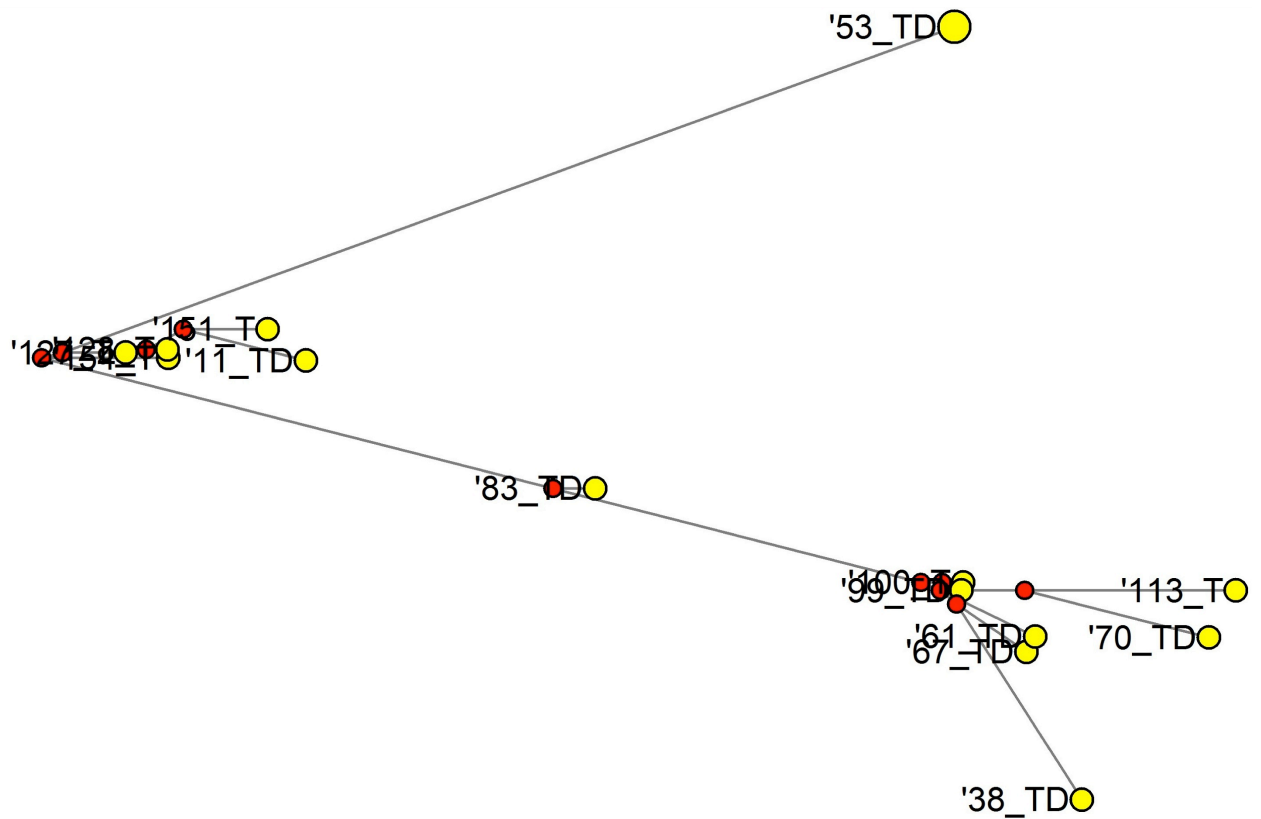


Los círculos en amarillo corresponden a los haplogrupos encontrados, los números en rojo representan la posición del nucleótido donde ocurrió una mutación, los rombos rojos son vectores intermedios que indican secuencias ancestrales.

En el caso de las redes de haplotipos de *T. dimidiata* se pueden observar los mismos clados encontrados en los árboles filogenéticos (Figura No. 24). En la red de haplotipos se observa que primero se formaron todos los haplogrupos correspondientes al clado del

norte de Guatemala y se separó el haplogrupo formado por las muestras No. 53 y 46 de Santa Rosa. A partir del clado del norte ocurrieron mutaciones y se formó el haplogrupo de la muestra No. 83 de Chiquimula, que parece ser el enlace entre el clado del norte con el clado del sur. Esto es más evidente en esta red de haplotipos, puesto que, al sufrir más mutaciones el haplogrupo formado por la muestra No. 83 de Chiquimula, se formó el conjunto de haplogrupos del sur de Guatemala.

**Figura No. 24.** Red de Haplotipos de *T. dimidiata* utilizando la concatenación de secuencias de los genes *CYTb* y *ND4* mediante el método de Median-Joining.



Los círculos en amarillo corresponden a los haplogrupos encontrados y los rombos rojos son vectores intermedios que indican secuencias ancestrales.

**4. Diversidad de nucleótidos y número efectivo de alelos.** Se determinó la diversidad de nucleótidos y el número efectivo de alelos para las secuencias de los genes de maxicírculo y los microsatélites de *T. cruzi*, así como para las secuencias de los genes *CYT b* y *ND4*. Se encontró una diversidad de nucleótidos ( $\pi$ ) baja para los genes de

maxicírculo de *T. cruzi* siendo esta de 0.00098 (Cuadro No. 3). En contraste, con las secuencias de los genes de *CYT b* y *ND4* de *T. dimidiata* se obtuvo una diversidad de nucleótidos ( $\pi$ ) de 0.03028, siendo ésta más alta que la encontrada en *T. cruzi*. También se observó un número efectivo de alelos más alto para *T. dimidiata* ( $N_e=13.235$ ) que para *T. cruzi* tanto para los genes de maxicírculo ( $N_e=4.592$ ) y microsatélites ( $N_e=1.838$ ).

**Cuadro No. 3.** Diversidad de nucleótidos y número efectivo de alelos determinados para cada marcador molecular.

Organismo	Marcador molecular	Ne	Diversidad de nucleotidos ( $\pi$ )
<i>T. cruzi</i>	Maxicirculo	4.592	0.00098
<i>T. cruzi</i>	SSRs	1.838	N/A
<i>T. dimidiata</i>	<i>CYT b</i> y <i>ND4</i>	13.235	0.03028

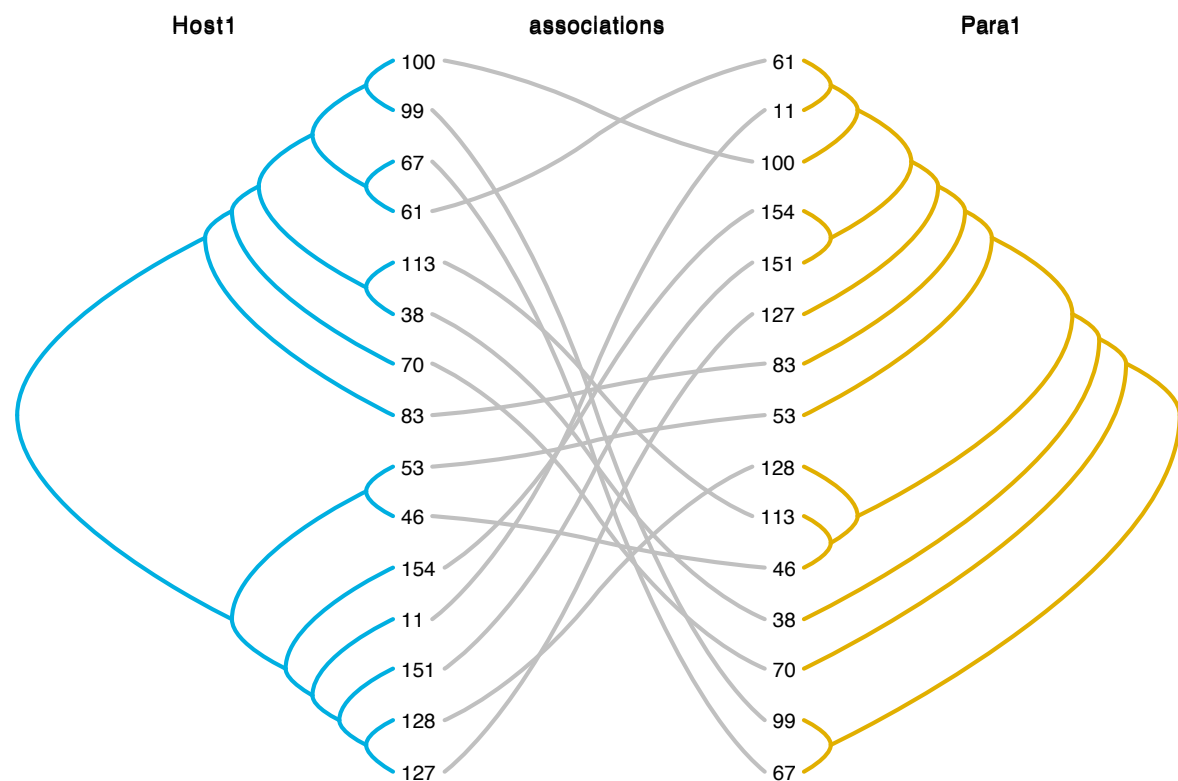
## **B. Congruencia entre las filogenias de *T. cruzi* y *T. dimidiata* construidos con base a genes mitocondriales**

Se evaluó la congruencia entre las filogenias de *T. cruzi* y *T. dimidiata* para determinar si existía alguna asociación entre genotipos de ambos organismos. Esto se realizó mediante métodos basados en eventos y métodos basados en distancias. Debido a que los métodos de ajuste global se basan en distancias, se confió más en estos métodos por ser más cuantitativos que los basados en eventos.

**1. Basado en eventos.** No se encontró una congruencia significativa entre las filogenias de *T. cruzi* y de *T. dimidiata* tanto para las filogenias realizadas con Maximum Likelihood ( $p=1.0$ ) (Figuras No. 25 y 26) como las realizadas con inferencia Bayesiana ( $p=0.88$ ) (Figuras No. 27 y 28). En el caso de las filogenias elaboradas con Maximum Likelihood se determinó un evento de coespeciación y 13 duplicaciones y cambios de hospedero con un costo de 27 (Cuadro No. 4) (Figura No. 27). El costo se obtiene a partir del número de duplicaciones, pérdidas y cambios de hospedero que se necesitan para reconciliar los árboles. Cada evento tiene un costo asignado, entre más eventos de coespeciación existan entre dos filogenias menor será su costo. Para las filogenias elaboradas con inferencia Bayesiana se determinaron 6 eventos de coespeciación, 8

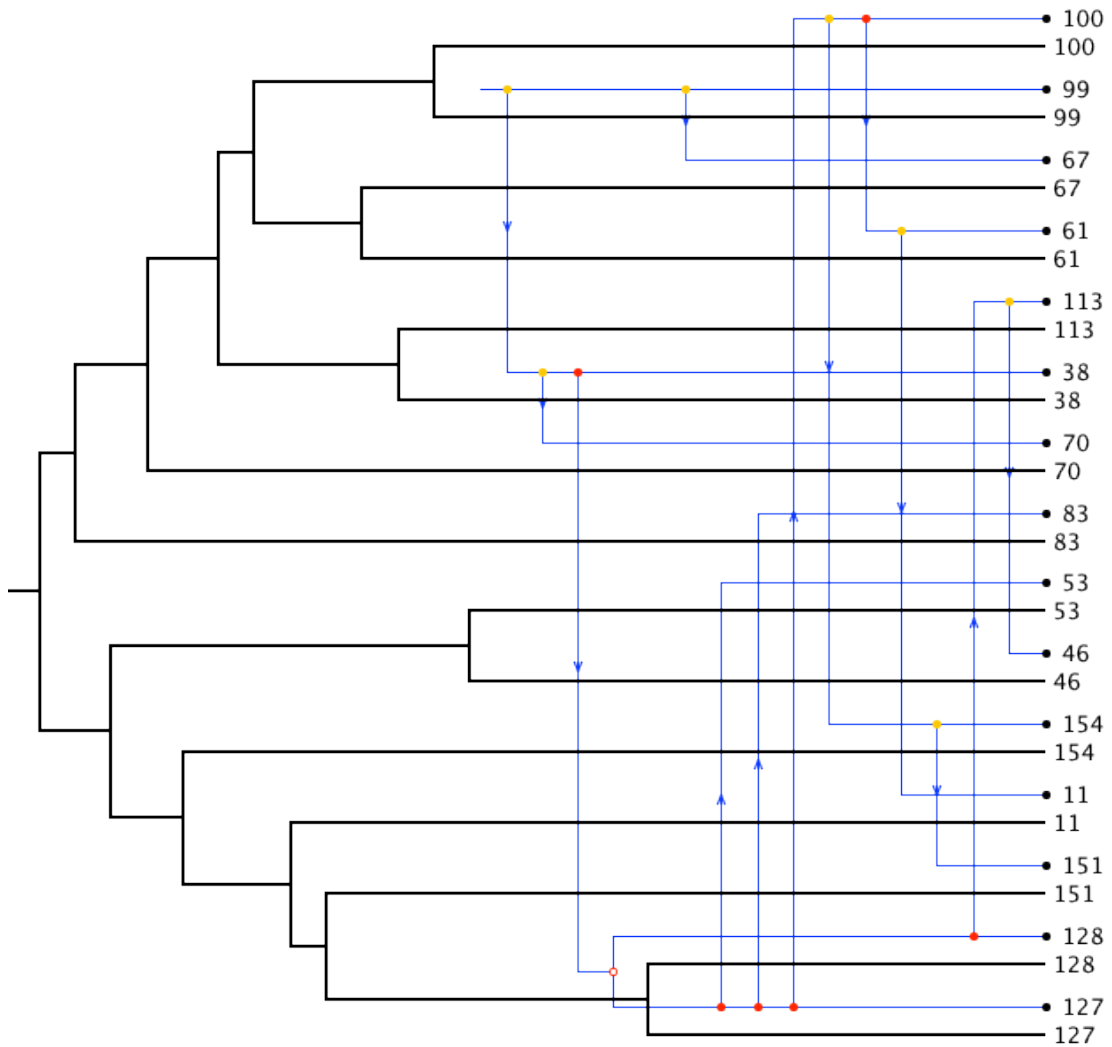
duplicaciones y cambios de hospedero y 2 pérdidas con un costo total de 24 (Cuadro No. 4) (Figura No. 28).

**Figura No. 25.** Tanglegram de la filogenia de *T. dimidiata* y la filogenia de *T. cruzi* construidos mediante Maximum Likelihood.



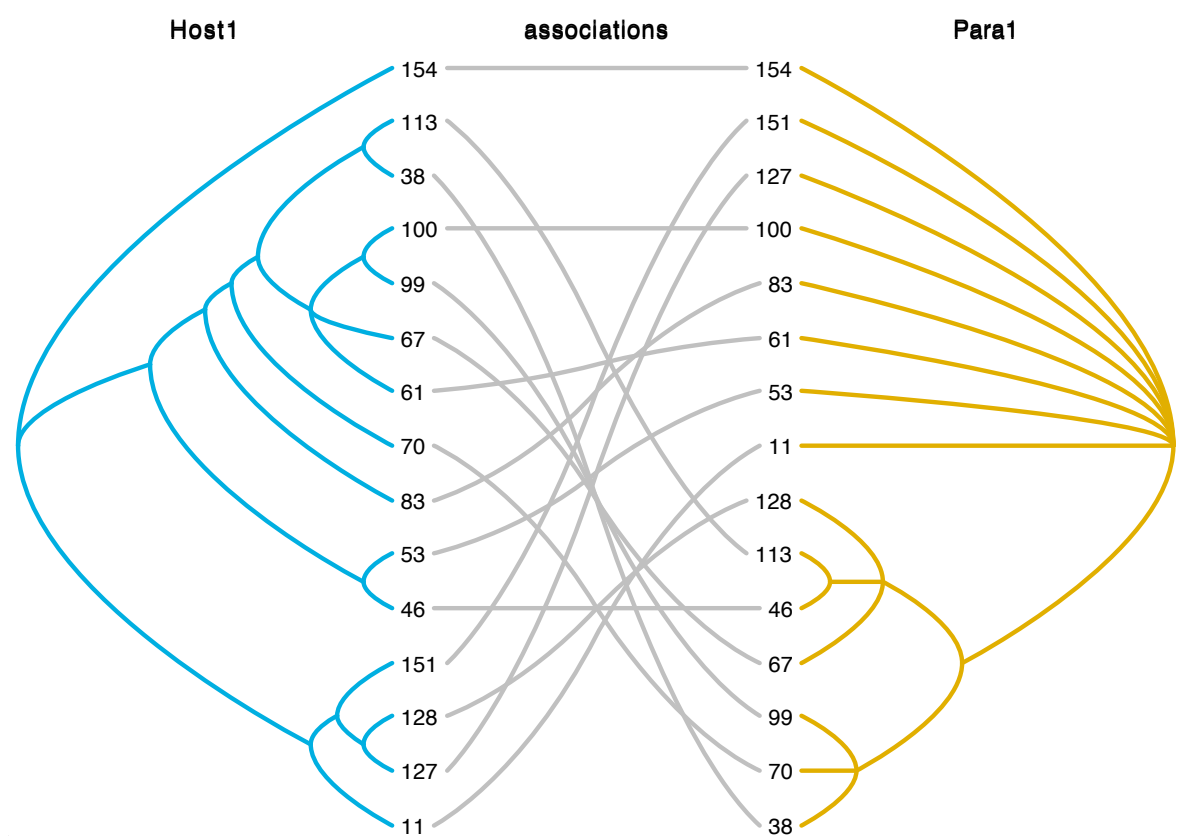
El árbol de *T. dimidiata* es el azul y el de *T. cruzi* es el de amarillo.

**Figura No. 26.** Árboles reconciliados de *T. dimidiata* (negro) y *T. cruzi* (azul) construidos utilizando el método de Maximum Likelihood.



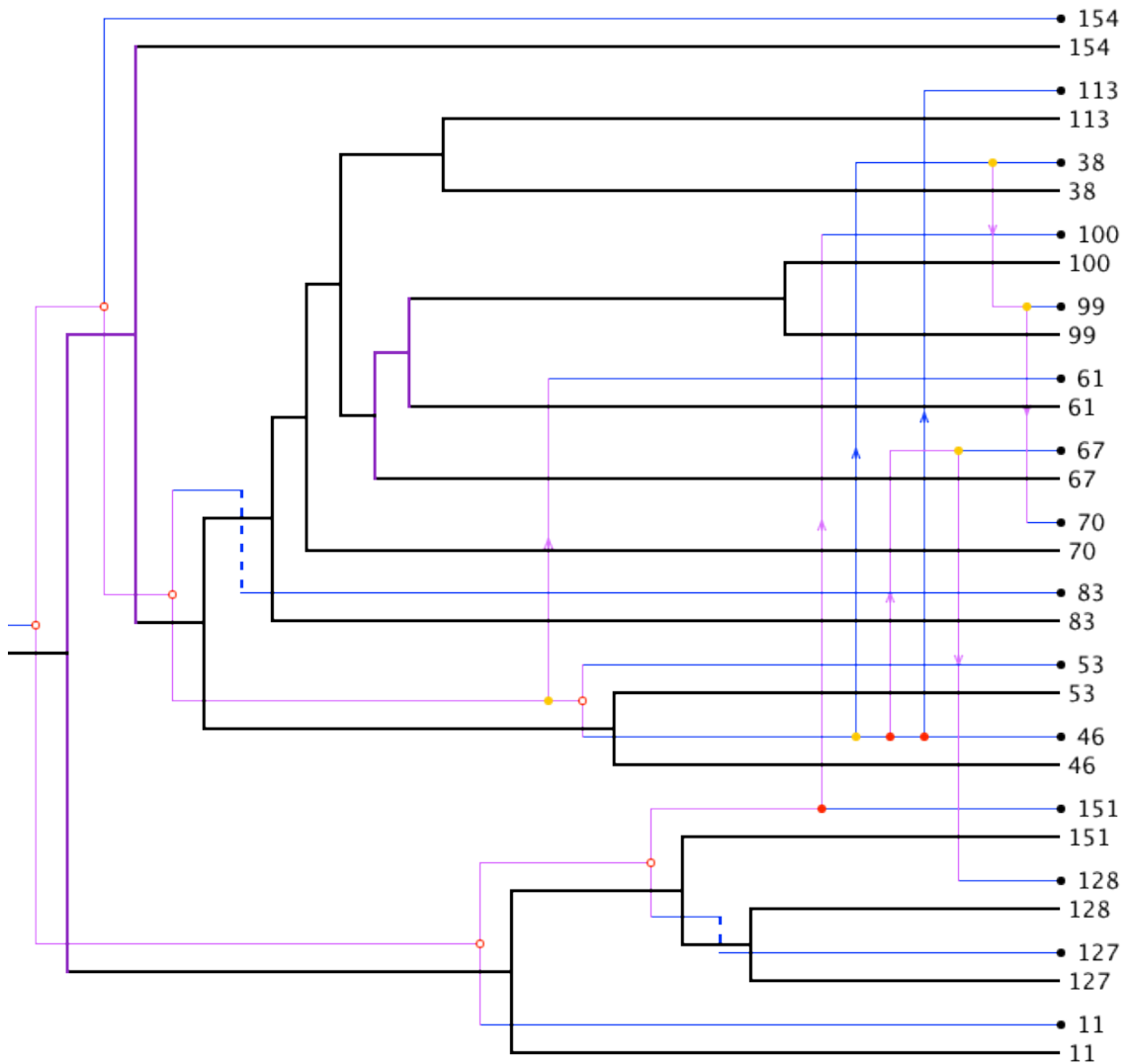
Los eventos de coespeciación están marcados por un círculo en blanco, las duplicaciones por un círculo relleno rojo, los cambios de hospedero por un círculo relleno amarillo.

**Figura No. 27.** Tanglegram de la filogenia de *T. dimidiata* y la filogenia de *T. cruzi* construidos mediante inferencia Bayesiana.



El árbol de *T. dimidiata* es el azul y el de *T. cruzi* es el de amarillo.

**Figura No. 28.** Árboles reconciliados de *T. dimidiata* y *T. cruzi* construidos utilizando inferencia Bayesiana.



El árbol de *T. dimidiata* es el negro y el de *T. cruzi* es el azul. Los eventos de coespeciación están marcados por un círculo en blanco, las duplicaciones por un círculo relleno rojo, los cambios de hospedero por un círculo relleno amarillo y las pérdidas por una línea punteada.

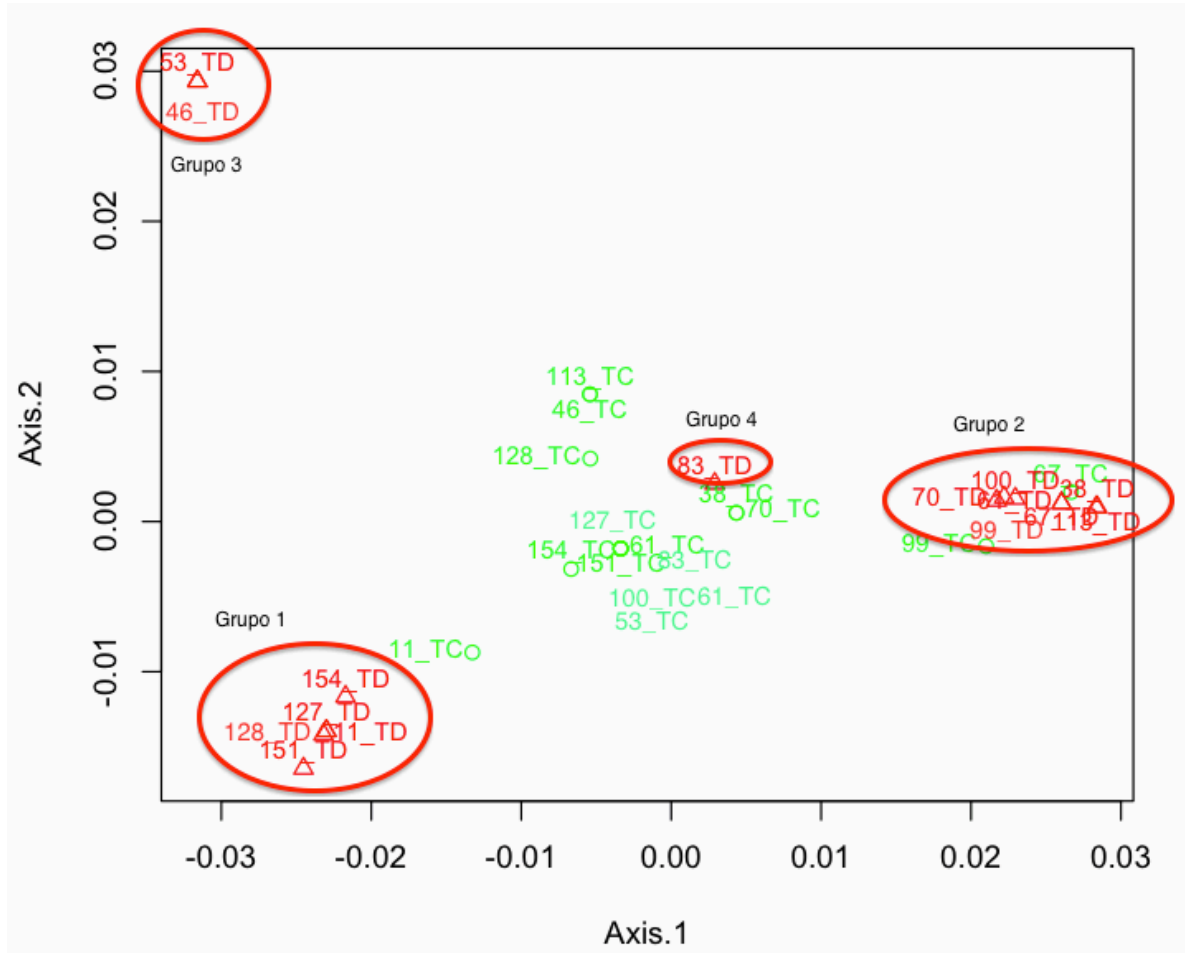
**Cuadro No. 4.** Soluciones encontradas para la reconciliación de los arboles filogenéticos de *T. cruzi* y *T. dimidiata*

Método Filogenético	No. Soluciones	Coespeciación	Duplicaciones	Duplicaciones y Cambios de hospedero	Pérdidas	Eventos de no divergencia	Costo	Valor P
Maximum Likelihood	8,257	1	0	13	0	0	27	1
Bayesiano	872	6	0	8	2	0	24	0.88

**2. Basado en distancias.** Utilizando el enfoque procusteano para cofilogenia (PACo) tampoco se encontró una congruencia significativa entre la filogenia de *T. dimidiata* y *T. cruzi* tanto con los árboles construidos por medio de Maximum likelihood ( $p=0.09872$ ) y los construidos por inferencia Bayesiana ( $p=0.26339$ ). La poca asociación entre el parásito y el vector se puede observar de una mejor manera en los gráficos del análisis de coordenadas procusteano (Figura No. 29 y 30). En ambos gráficos se observa que las muestras 11, 99 y 67 de *T. cruzi* están más distanciadas de los demás individuos y están orientados hacia los grupos de *T. dimidiata*. Esto coincide con lo encontrado en la red de haplotipos (Figura No. 23) y podría sugerir que exista una asociación vector-parásito con esas muestras pero se necesitan marcadores que puedan separar de mejor manera los grupos del parásito. Así mismo, se observa en ambos análisis que existe una asociación entre el parásito y el triatomino número 99. Sin embargo, sólo en el gráfico del análisis de coordenadas procusteano de las filogenias realizadas mediante Maximum Likelihood aparece también una relación entre el parásito y triatomino número 67. Además, en ambos análisis es evidente que existen los mismos 4 grupos de *T. dimidiata* encontrados en los arboles filogenéticos. No obstante, en el caso de *T. cruzi* es más difícil observar los mismos grupos determinados en el análisis filogenético.

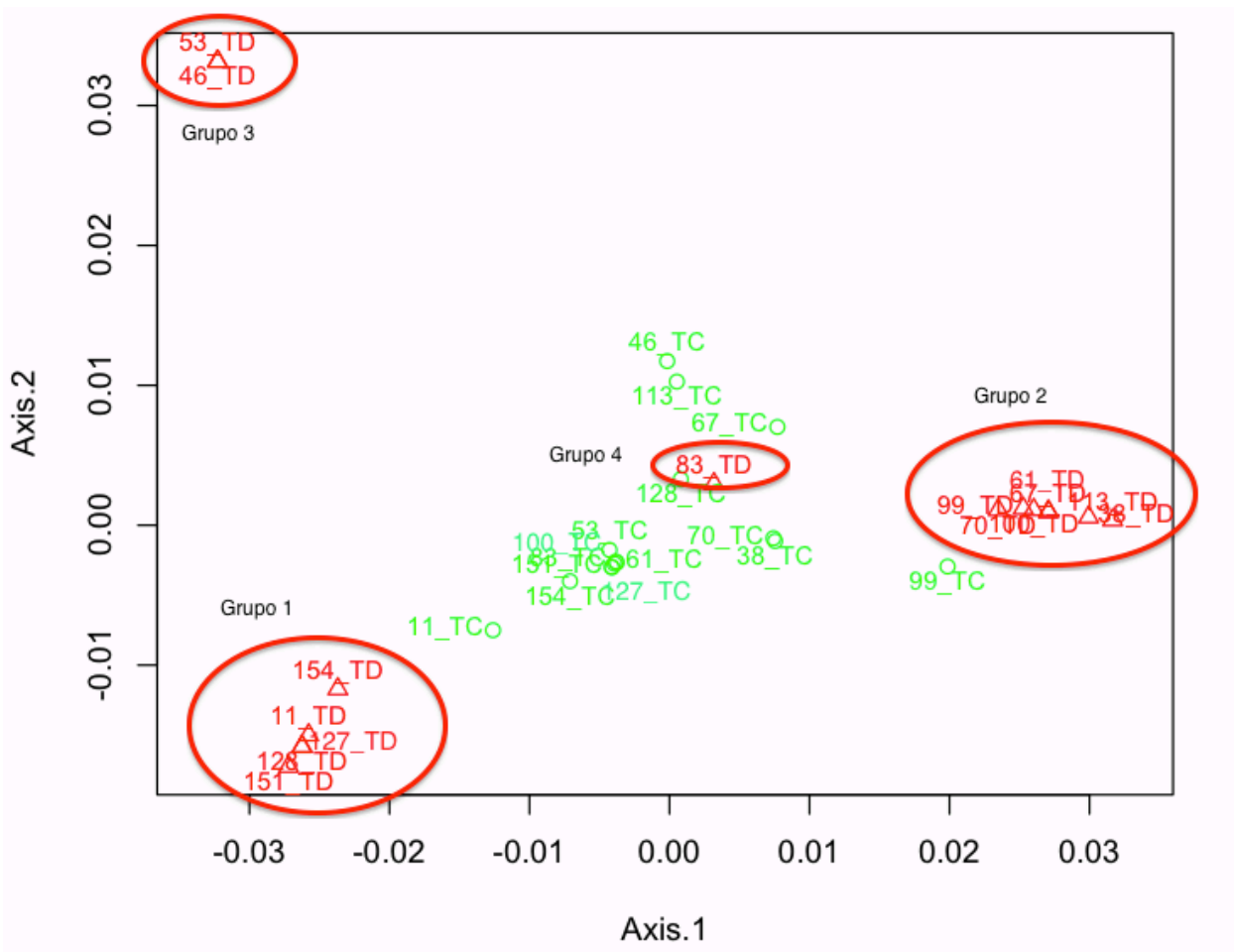
Además del enfoque procusteano para cofilogenia (PACo) la prueba de Mantel entre distancias genéticas de *T. dimidiata* y *T. cruzi* también demostró que no existe una asociación entre el vector y el parásito ( $R_{xy}= 0.062$ ,  $p=0.355$ ). Estos resultados se pueden observar en la Figura No. 31.

**Figura No. 29.** Gráfico del análisis procusteano de coordenadas principales a partir de las filogenias de *T. cruzi* y *T. dimidiata* generados por Maximum Likelihood.



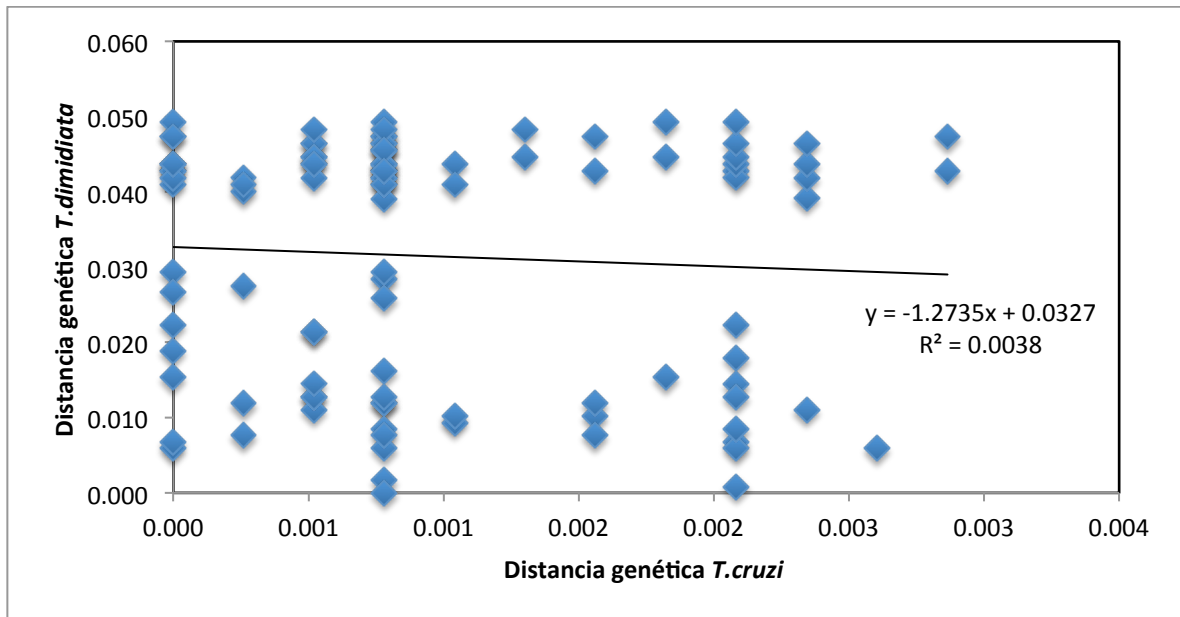
Los círculos verdes son de *T. cruzi* mientras que los triángulos rojos son de *T. dimidiata*.

**Figura No. 30.** Gráfico del análisis procusteano de coordenadas principales a partir de las filogenias de *T. cruzi* y *T. dimidiata* generados por inferencia Bayesiana.



Los círculos verdes son de *T. cruzi* mientras que los triángulos rojos son de *T. dimidiata*.

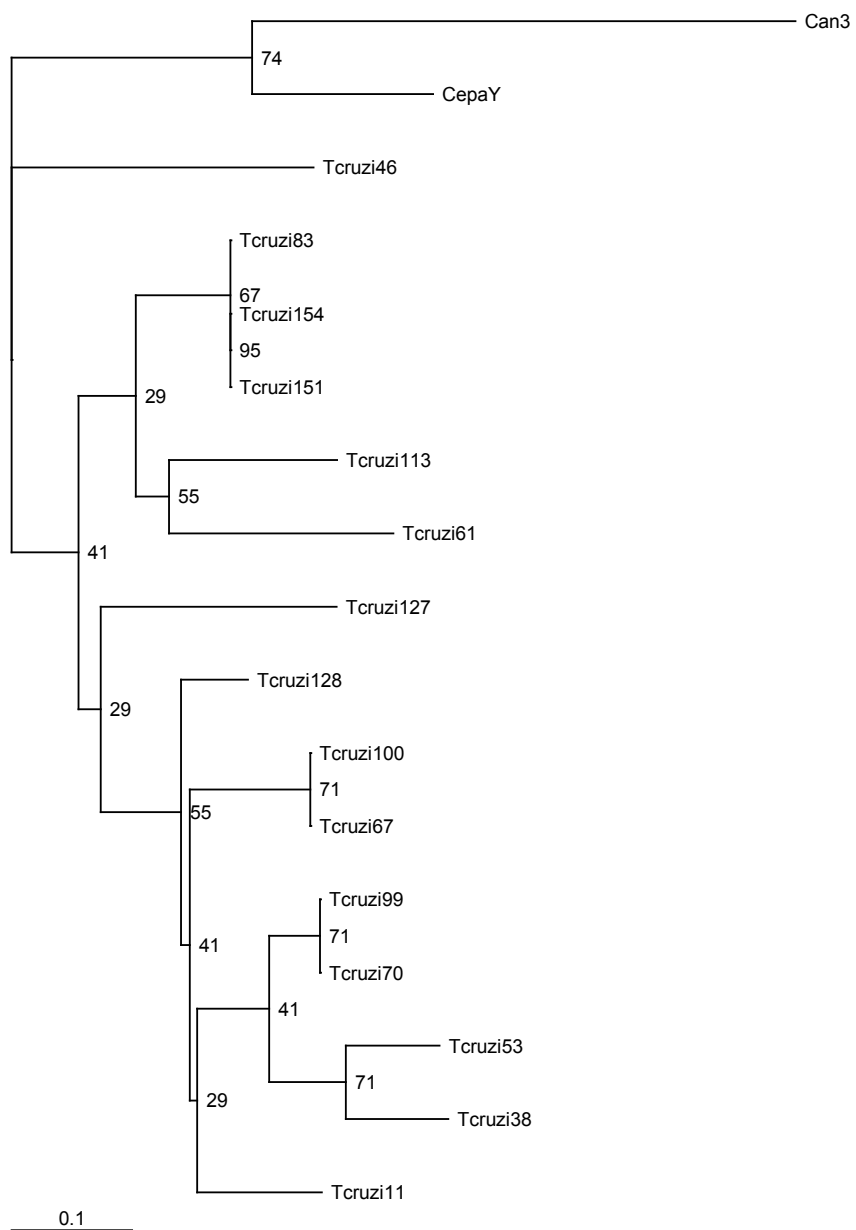
**Figura No. 31.** Prueba de mantel entre distancias genéticas de *T. dimidiata* y *T. cruzi*.



### C. Inferencia filogenética de *T. cruzi* a partir de microsatélites

Se realizó un análisis filogenético a partir de los alelos de microsatélites de *T. cruzi* encontrados por Rivera *et al.* (2004) para compararlo con los árboles obtenidos mediante genes mitocondriales. A diferencia de los árboles obtenidos mediante genes de maxicírculo, se encontraron 5 clados distintos de *T. cruzi* (Figura No. 32). El primer grupo formado por la muestra 46; el segundo por las muestras: 83, 154, 151; el tercer grupo por las muestras: 113 y 61; el cuarto formado por la muestra: 127; el quinto grupo formado por las muestras: 128, 100, 67, 99, 70, 53, 38 y 11. Sin embargo, estos grupos no son consistentes ya que no presentan valores de bootstrap aceptables ( $BS < 55$ ). Por lo tanto pareciera que, al igual que lo obtenido con genes de maxicírculo, estos individuos tienen una gran homogeneidad entre sí.

**Figura No. 32.** Árbol filogenético de *T. cruzi* de distancias de Cavalli-Sforza construido por medio del método de Neighbor-Joining con base a los alelos obtenidos por los microsatélites MS3, MS5 y MS6 en el estudio de Rivera *et al.* (2004).



Los valores en los nodos muestran bootstraps obtenidos a partir de 1000 réplicas. Como grupo externo se utilizaron las cepas de Brasil CepaY y Can3.

#### **D. Congruencia entre la filogenia de *T. cruzi* a partir de microsatélites y *T. dimidiata* a partir de genes mitocondriales**

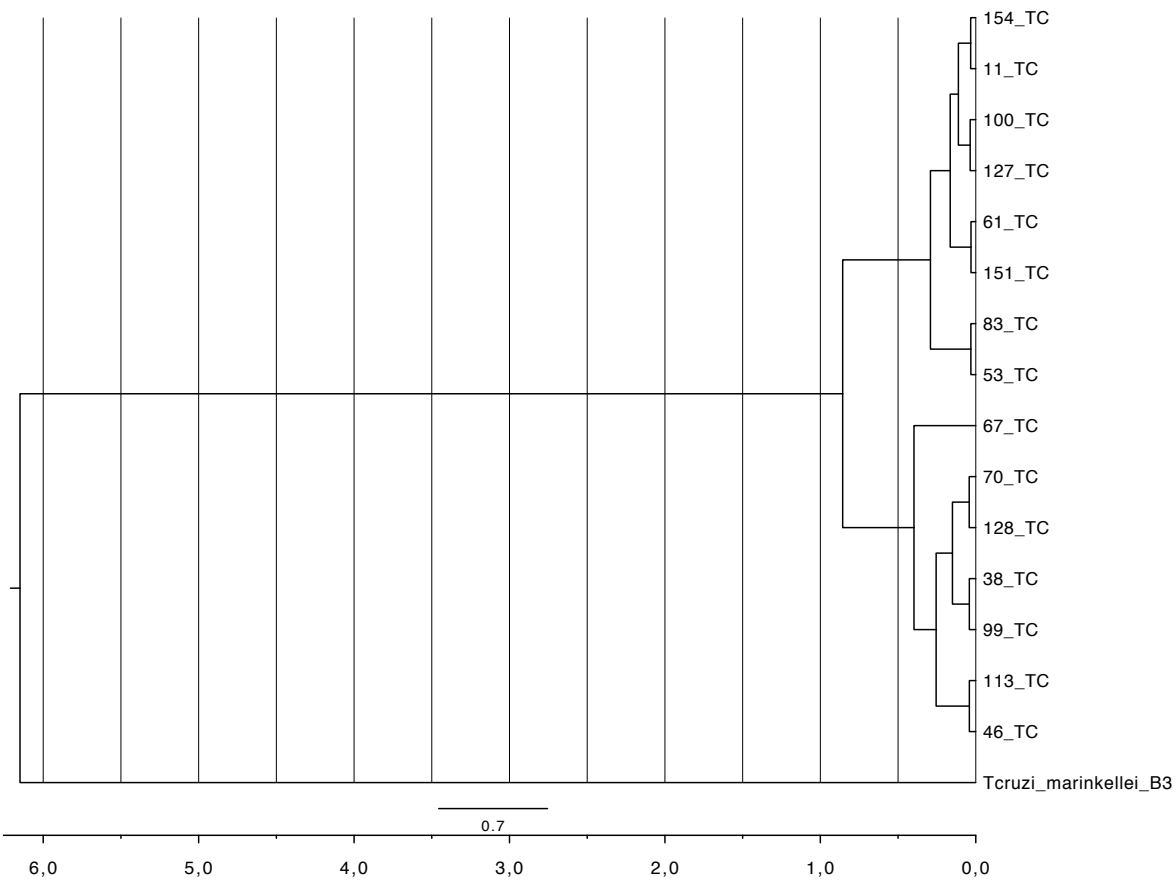
Al realizar el análisis de árboles reconciliados para verificar si existe una congruencia entre el árbol filogenético de microsatélites de *T. cruzi* con lo obtenido en genes mitocondriales de *T. dimidiata* utilizando el método de Maximum Likelihood no se encontró que existiera una congruencia significativa entre la filogenia del parásito y del vector ( $p=0.9$ ). Al realizar árboles reconciliados se encontraron 1000 soluciones las cuales sugieren 2 eventos de coespeciación y 12 duplicaciones y cambios de hospederos con un costo de 26. Además, al realizar una prueba de Mantel para distancias genéticas del vector con las distancias genéticas del parásito obtenidas por microsatélites tampoco se encontró una asociación entre estos dos grupos ( $R_{xy}=0.195$ ,  $p=0.070$ ). Por último, se realizó también el análisis procusteano para cofilogenia (PACo) en el cual tampoco se obtuvo una congruencia entre el parásito y el vector ( $p=0.1788$ ).

#### **E. Tiempo de divergencia**

Se estimó que el tiempo de divergencia de los individuos de *T. cruzi* utilizados en este estudio es de alrededor de 0.86 millones de años (Figura No. 33). Así mismo, se encontró que el tiempo de separación de *T. cruzi marenkellei* fue alrededor de 6.04 millones de años (con un intervalo de 8.422 a 3.65 millones de años).

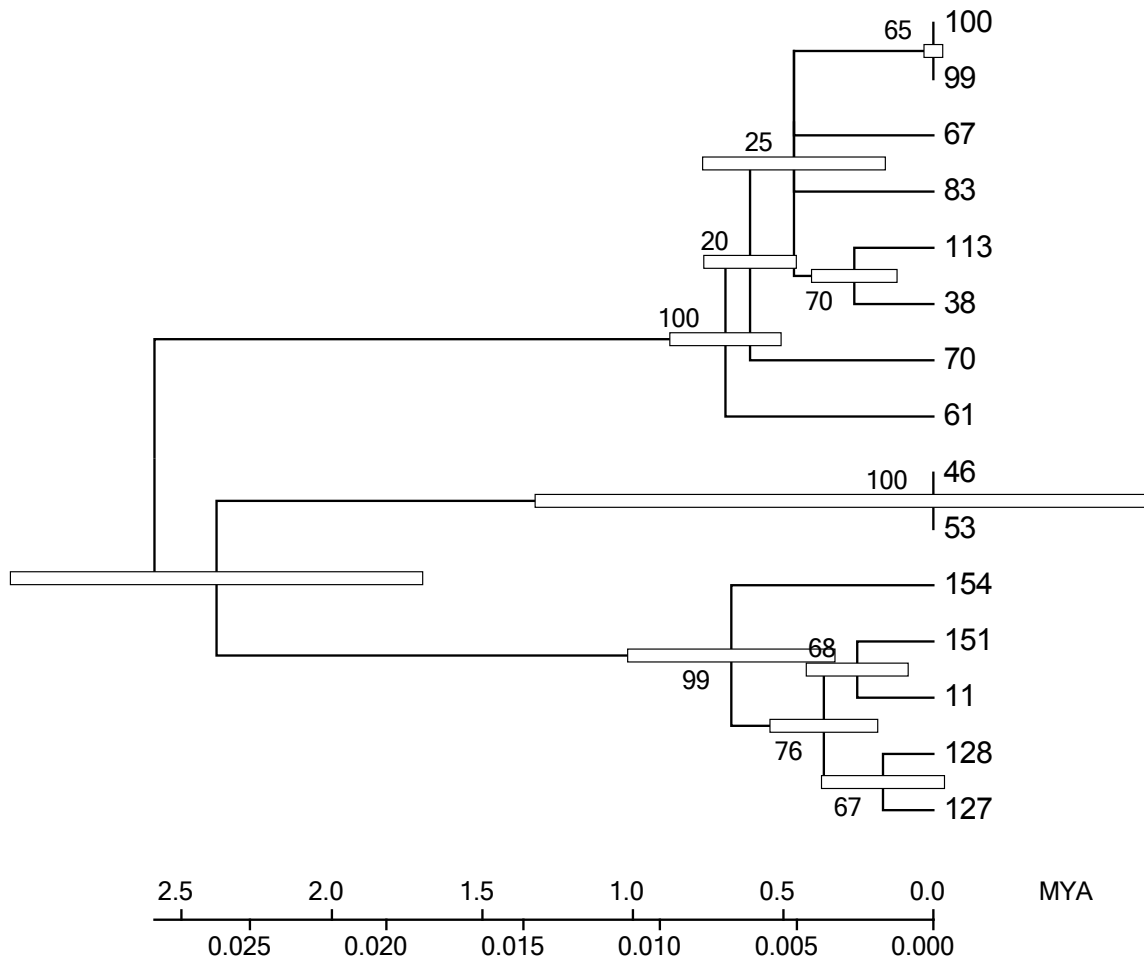
Se estimó que el tiempo de divergencia del grupo de individuos de *T. dimidiata* que se utilizaron en este estudio es de hace 3.0 a 1.7 millones de años (Figura No. 34). Mientras que los grupos del norte y del sur obtenidos en este estudio divergieron hace .0 a 0.4 millones de años. Por último, el tercer grupo constituido por individuos que habitan en Santa Rosa en municipios distintos a Santa María Ixhuatán (muestras 46 y 53) divergió hace 1.4 millones de años.

**Figura No. 33.** Estimación de tiempo de divergencia de *T. cruzi* mediante calibración del reloj molecular de los genes *ND1-COII*.



La escala mostrada está en millones de años (MYA)

**Figura No. 34.** Estimación de tiempo de divergencia de *T. dimidiata* mediante calibración del reloj molecular del gen *CYT b*.



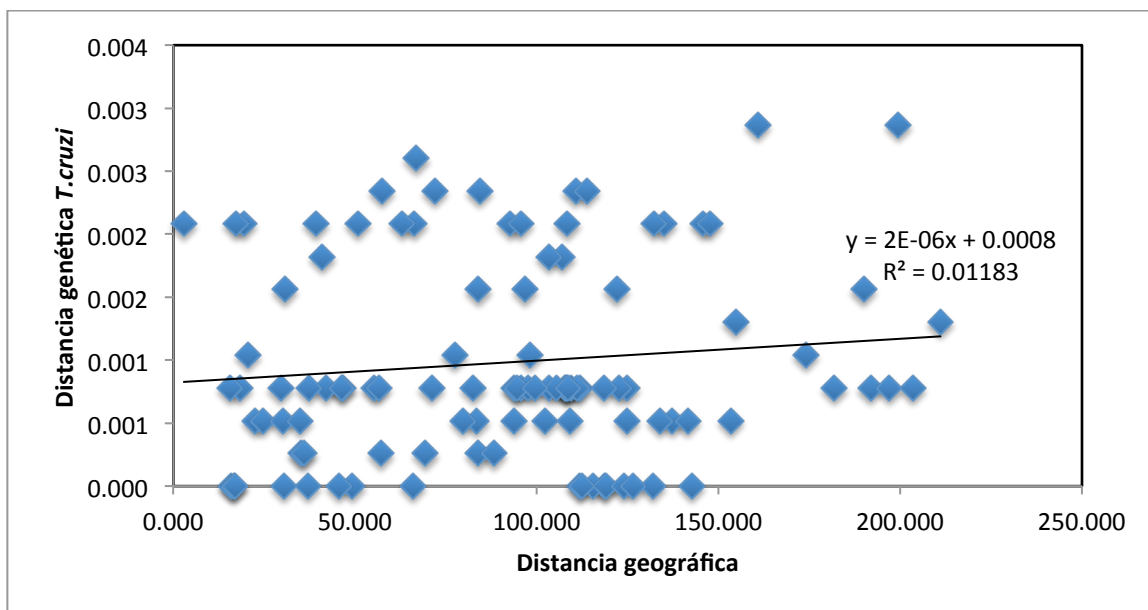
Los cuadros presentes en los nodos muestran el intervalo del tiempo de divergencia.

## F. Análisis biogeográfico

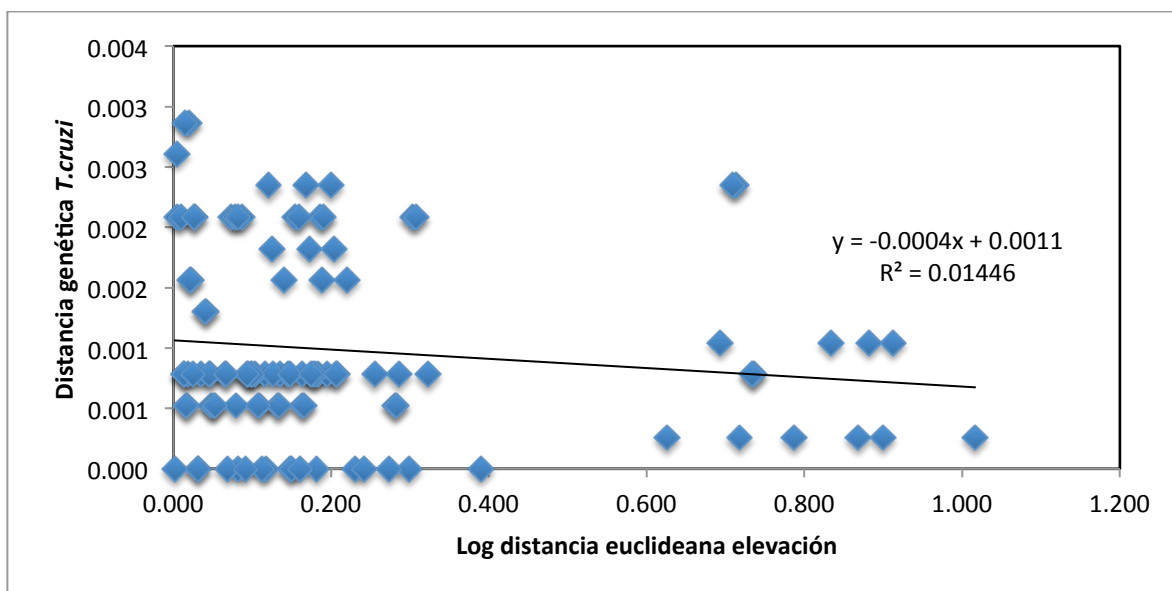
Para determinar si los genotipos obtenidos mediante el análisis filogenético tanto del parásito como del vector estaban asociados a barreras biogeográficas, se realizaron pruebas de Mantel de la distancia genética contra la distancia geográfica y la elevación. En el caso de *T. cruzi* no se encontró ninguna relación entre distancias genéticas y la distancia geográfica ( $R_{xy}= 0.109$ ,  $p=0.221$ ) (Figura No. 35) y elevación ( $R_{xy}=0.120$ ,  $p=0.380$ ) (Figura No. 36). Los distintos genotipos de *T. cruzi* no tienen una estructura filogeográfica, puesto que no se encontró ninguna relación con variables como distancia

geográfica y elevación. Es más, se encontró que individuos que son similares genéticamente se encuentran a diferentes elevaciones.

**Figura No. 35.** Prueba de Mantel entre distancias genéticas de *T.cruzi* y distancia geográfica.

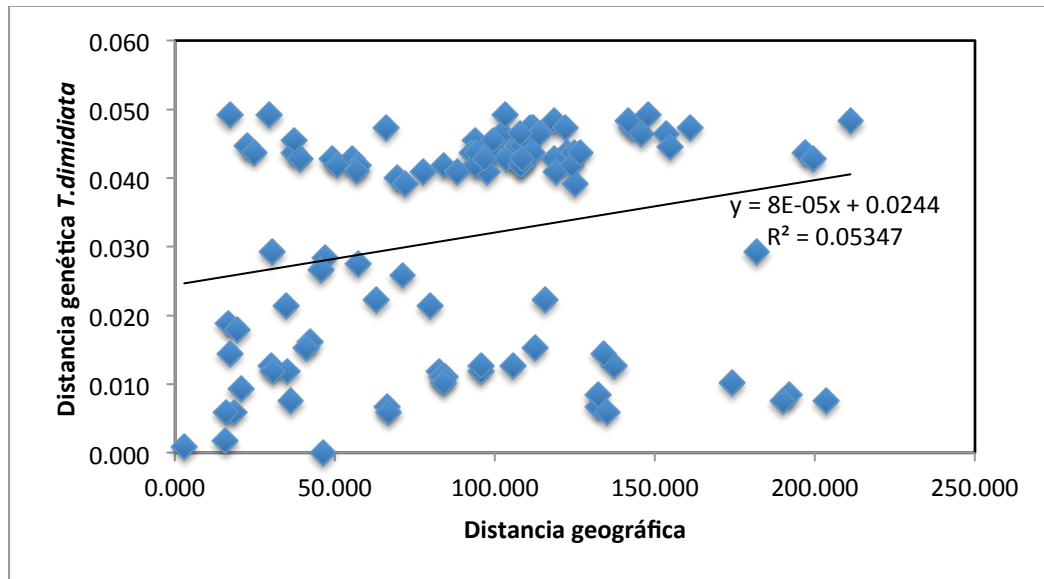


**Figura No. 36.** Prueba de Mantel entre distancias genéticas de *T.cruzi* y el logaritmo de la distancia euclidiana de elevación.

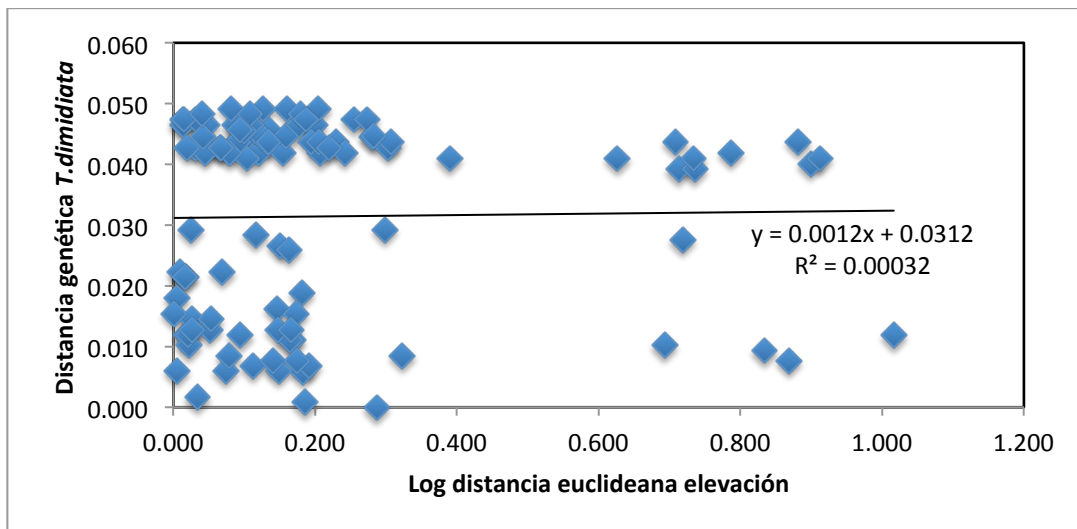


En el caso de *T. dimidiata* se obtuvo una correlación entre la distancia genética y la distancia geográfica ( $R_{xy} = 0.231$ ,  $p = 0.043$ ) (Figura No. 37). Sin embargo, no se encontró una correlación significativa entre la distancia genética y el logaritmo de la distancia euclidiana de la elevación ( $R_{xy} = 0.018$ ,  $p = 0.329$ ) (Figura No. 38).

**Figura No. 37.** Prueba de Mantel entre distancias genéticas de *T. dimidiata* y distancia geográfica.

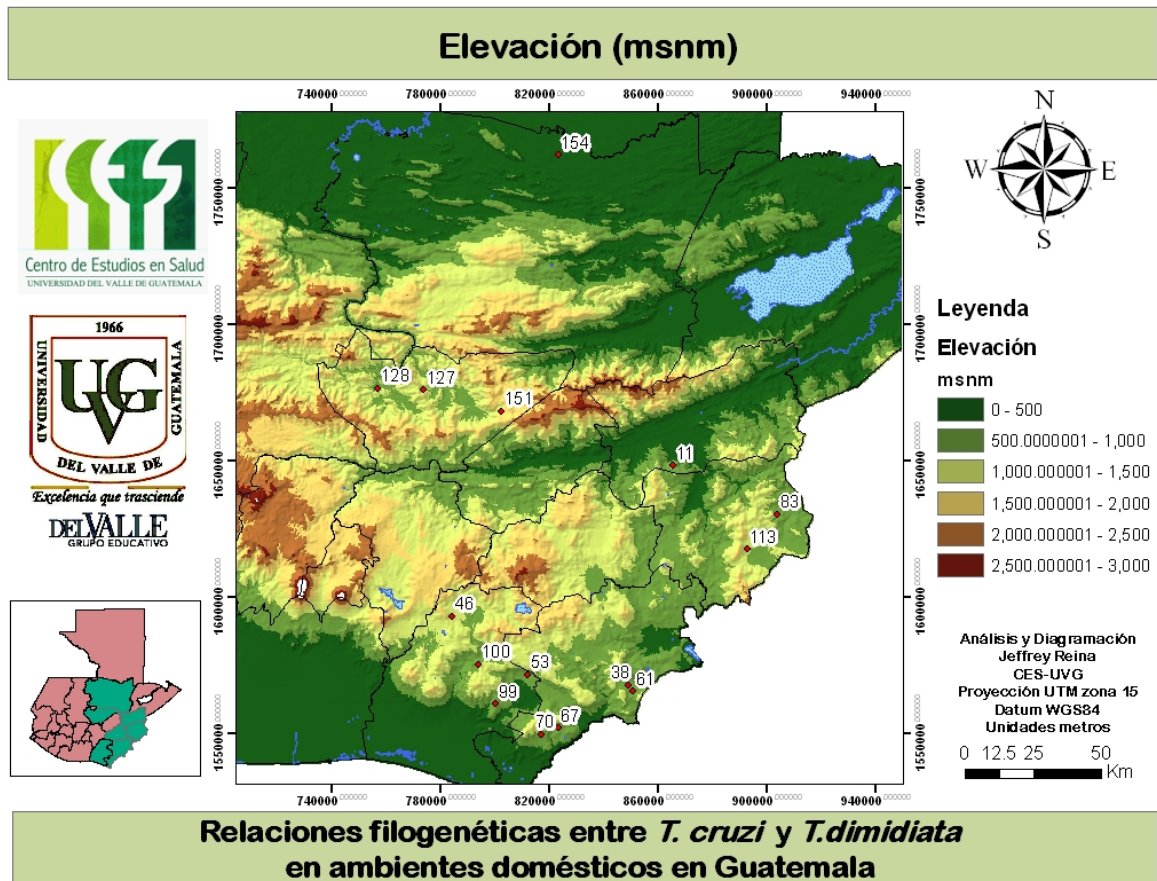


**Figura No. 38.** Prueba de Mantel entre distancias genéticas de *T. dimidiata* y el logaritmo de la distancia euclidiana de elevación.

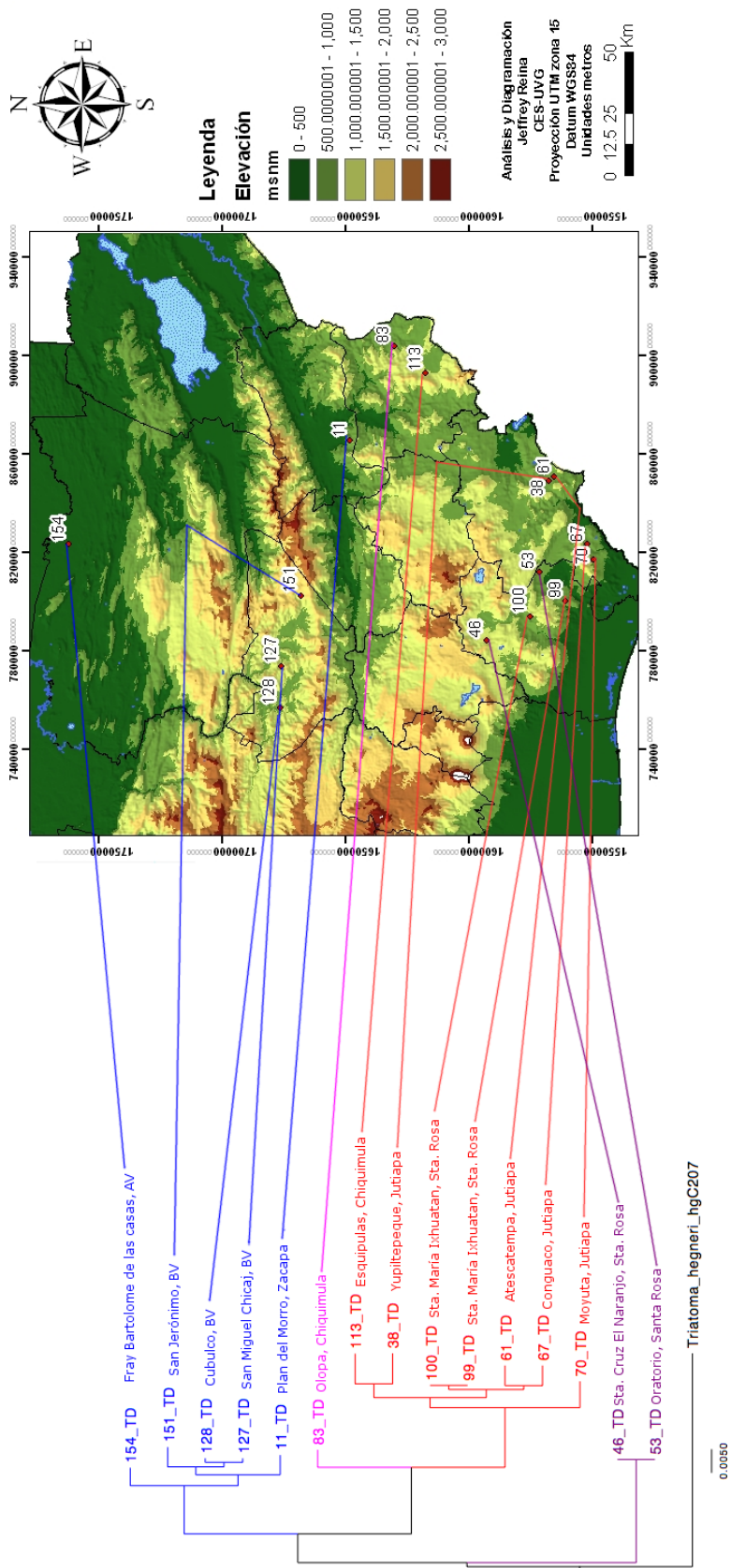


Para *T. dimidiata* se observó que sí existen genotipos delimitados geográficamente mediante el análisis filogenético y la prueba de Mantel para distancias geográficas. El primer grupo corresponde al norte de Guatemala, de individuos muestreados en los departamentos de Alta y Baja Verapaz y una muestra ubicada en Zacapa en el municipio Plan del Morro (Figura No. 39 y No. 40). Por el otro lado, existe un segundo grupo correspondiente al suroriente de Guatemala, compuesto principalmente de individuos de los departamentos de Santa Rosa, Jutiapa y Chiquimula. Esta separación puede que se haya dado por el Valle del Motagua (Figura No. 39 y No. 40) en períodos glaciales del Pleistoceno según el tiempo de divergencia estimado anteriormente. Durante el período glacial, el hábitat idóneo para estos triatominos se encontraba disperso en los valles de las montañas. Sin embargo, cuando las temperaturas comenzaron a elevarse, estos bosques se desplazaron a altitudes superiores quedando aisladas las poblaciones por valles secos como el Valle del Motagua. La primera glaciación, probablemente ocurrida en el período pre-Illinoian B hace 0.5 millones de años (Gibbard y Van Kolfschoten 2004) separó a los individuos del norte y sur. Mientras que una glaciación más reciente, ocurrida hace aproximadamente unos 12,000-20,000 años durante el período Wisconsinan (Gibbard y Van Kolfschoten 2004) dejó aislado al individuo 11 de los demás individuos del norte. Debido a que es una divergencia reciente, éste aún se encuentra relacionado con los individuos del Norte aunque se encuentra del otro lado del Valle del Motagua.

Figura No. 39. Elevación de los sitios donde los individuos de *T. dimidiata* fueron muestreados.

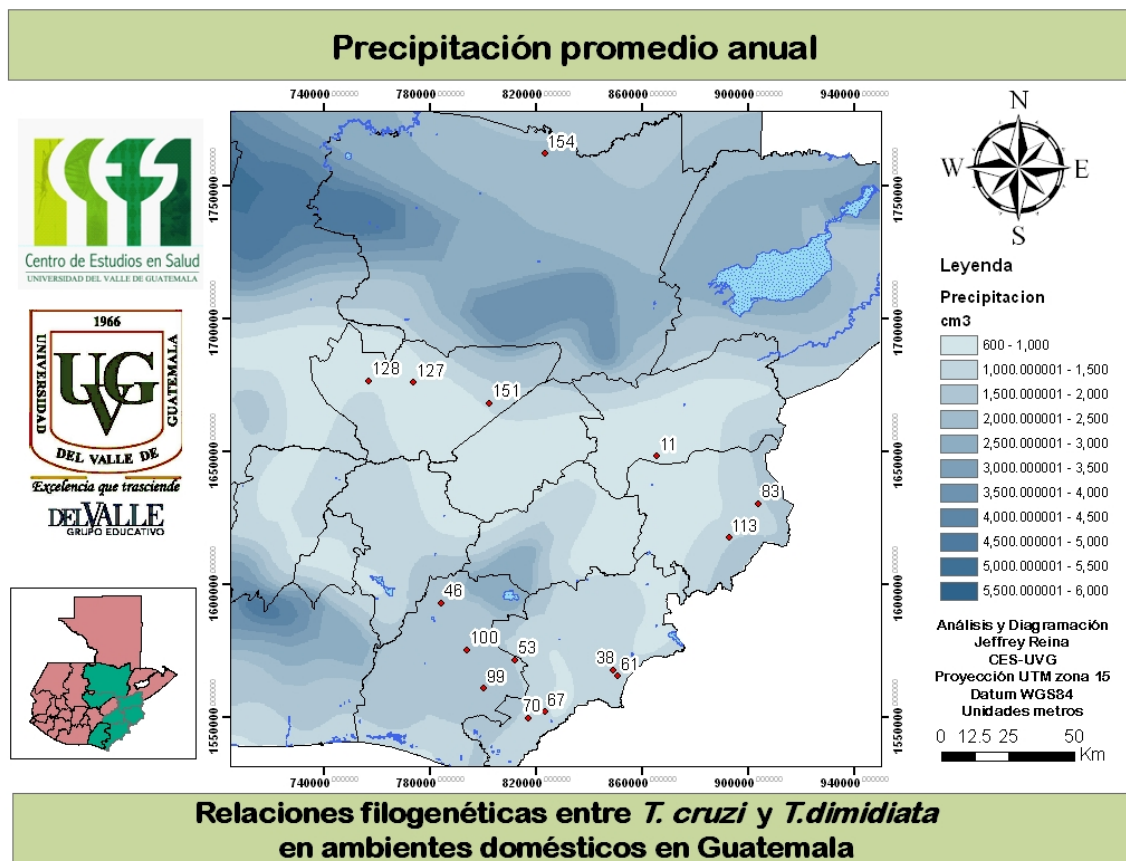


**Figura No. 40.** Distribución de las subpoblaciones de *T. dimidiata* determinadas por medio de las secuencias de los genes *CYT b* y *ND4*.



Debido a que la humedad es un factor importante para el hábitat de *T. dimidiata*, concentrándose principalmente en ambientes húmedos (Zeledon *et al.* 2001a) éstas no pudieron atravesar estos valles áridos. Esto se puede observar en el mapa de precipitación promedio anual (Figura No. 41) en el que se observa que los individuos del Grupo del Sur habitan en sitios con una mayor precipitación pluvial y que entre los dos grupos existe una franja más seca que recibe una menor precipitación pluvial.

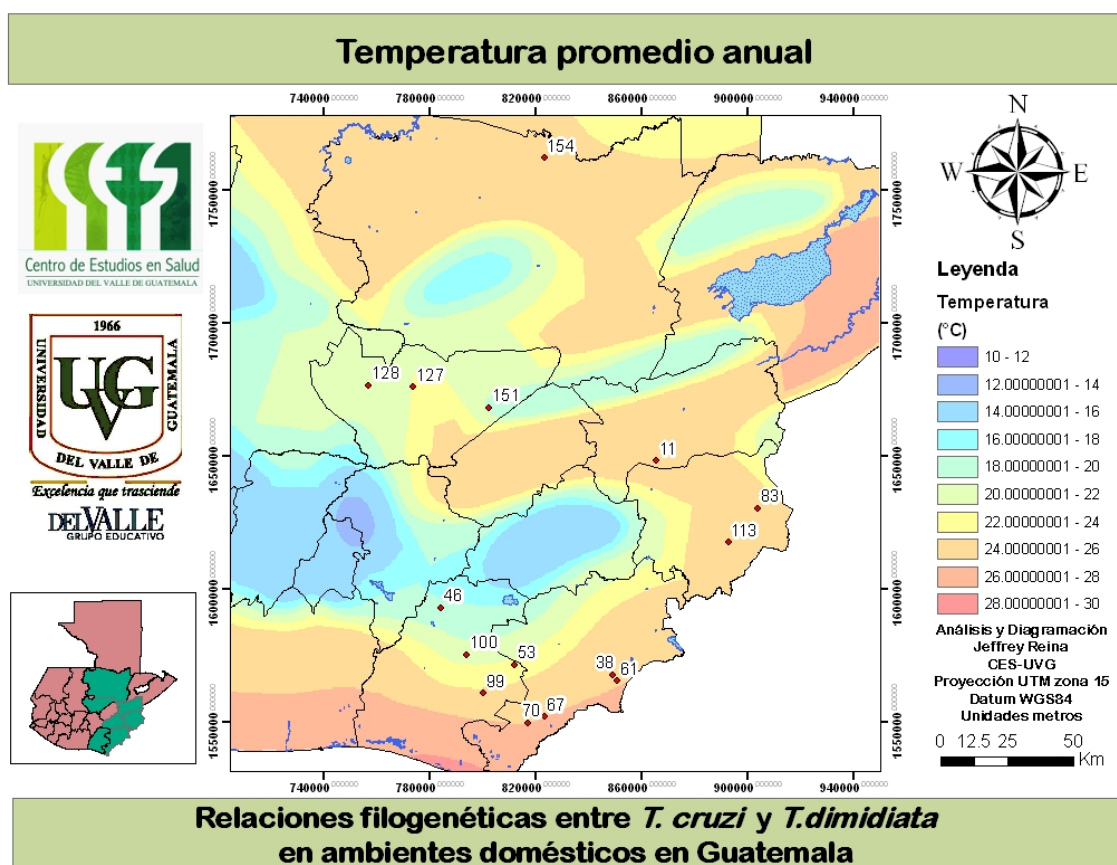
**Figura No. 41.** Precipitación promedio anual de los sitios donde los individuos de *T. dimidiata* fueron muestreados.



El tercer grupo, corresponde a las muestras 53 y 46 que se encuentran en Chiquimula pero son un grupo distinto a los demás, teniendo una distancia genética por arriba de 0.040 con los demás individuos. Además, estas dos muestras son diferentes a las otras presentes en Santa Rosa en el municipio de Santa María Ixhuatán (Figura No. 40). Esto

se puede deber a que se encuentran en sitios con una temperatura más templada (Figura No. 42) y a diferencia de la mayoría de las otras muestras que se encuentran en el corredor seco y a temperaturas más altas, donde el ambiente es más inestable y existe una mayor dispersión de los reservorios y de fuentes de alimento. Por último, está la muestra 83 que se encuentra en Chiquimula y puede ser que sea distinta a las demás debido a que se encuentra en una posición intermedia entre el Grupo del Norte y Sur y por lo tanto contiene elementos similares con ambos grupos.

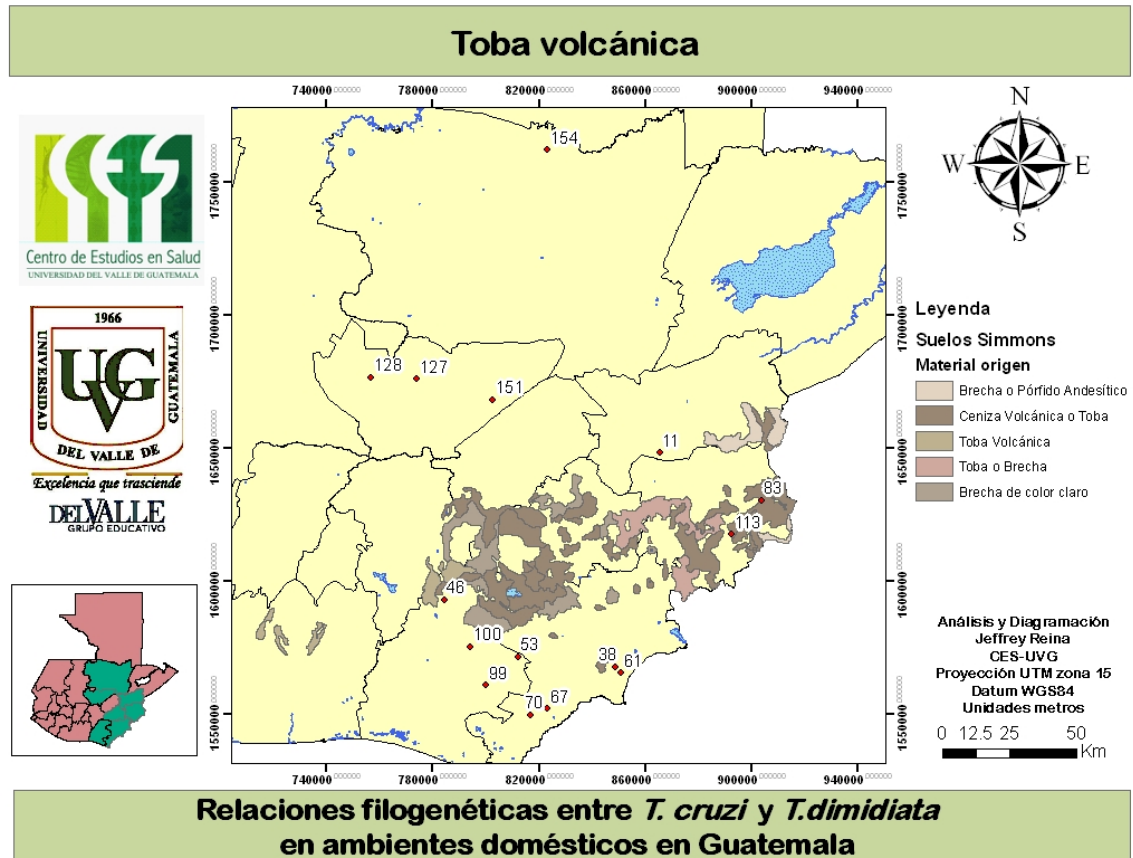
**Figura No. 42.** Temperatura promedio anual de los sitios donde los individuos de *T. dimidiata* fueron muestreados



Además de los factores altitudinales, de precipitación y temperatura se encontró la presencia de suelo con toba o brecha volcánica justo en medio de la división de los Grupos del Norte y del Sur (Figura No. 43). Sin embargo, no se conocen datos geológicos que coincidan con las fechas estimadas de divergencia que pudieran indicar que ésta es

una barrera geográfica que haya llevado a la formación de subpoblaciones de *T. dimidiata* distintas. Puesto que la mayoría de los volcanes del oriente del país se formaron durante el período Terciario (Weyl 1980).

**Figura No. 43.** Brecha y toba volcánica presentes entre los Grupos del Norte y Sur de *T. dimidiata* según serie de Simmons



#### IV. DISCUSIÓN

Los pocos polimorfismos encontrados al analizar las secuencias de los genes de maxicírculo de *T. cruzi* ( $\pi$  maxicírculo=0.00098,  $N_e$  maxicírculo=4.592 y  $N_e$  SSRs=1.838) indican que todos los individuos muestreados son bastante homogéneos. Estos resultados son parecidos a lo encontrado por Cura *et al.* (2010) en el que se encontró una sola cepa de *T. cruzi* I (Tc Ia) desde Norte América hasta Colombia utilizando el espaciador intergénico de genes líderes empalmados (“Spliced-leader genes”). Asimismo, el estudio realizado por Zumaya *et al.* (2012) también demuestra que existe un solo genotipo de *T. cruzi* distribuido en Norte y Centroamérica utilizando genes de maxicírculo, encontrando una diversidad genética baja entre los individuos de esta región. Zumaya *et al.* (2012) utilizó también microsatélites y a pesar de lograr definir varias subpoblaciones en Norteamérica este marcador también presentó una riqueza alélica baja respecto al clado de Suramérica. Por último, Lewis *et al.* (2009) también encontró poca diversidad genética en aislados de Norte y Centroamérica utilizando un conjunto de 48 loci de microsatélites polimórficos.

Anteriormente, Rivera *et al.* (2004) utilizaron microsatélites para el estudio de genética de poblaciones de *T. cruzi*. Rivera *et al.* (2004) encontraron una separación geográfica entre genotipos del Norte y del Sur de *T. cruzi*. Sin embargo, en ese estudio no se había incluido un alelo del microsatélite MS3 de un tamaño aproximado de 250 bp, debido a que no se estaba seguro si era un alelo verdadero. Para esto se secuenció y se encontró que el alelo era una duplicación completa del microsatélite (Pennington, comunicación personal). No obstante, al agregar en el análisis este alelo no se encontró la misma separación geográfica observada previamente por Rivera *et al.* (2004). A pesar de tener una mayor resolución que los genes de maxicírculo utilizados en este estudio, muy pocos microsatélites fueron polimórficos. Al examinar el árbol filogenético obtenido mediante microsatélites se observó que hay 5 grupos que difieren de los obtenidos con genes de maxicírculo. No obstante, estos grupos no están bien definidos debido a que no tienen valores de bootstrap altos. Esto pareciera indicar que existe también una homogeneidad entre las muestras de *T. cruzi* analizadas con base a alelos de

microsatélites. Cabe mencionar que el análisis de Neighbor-Joining utilizado para este análisis presenta la desventaja que es un método basado en matrices de distancias. A diferencia de otros métodos, como Maximum Likelihood e Inferencia Bayesiana, que están basados en modelos evolutivos y presentan una mejor inferencia estadística (Pritchard *et al.* 2000).

Todos estos resultados sugieren que *T. cruzi* tiene una gran homogeneidad entre los sitios muestreados. Una posible explicación puede ser que los marcadores utilizados en este estudio tienen muy baja resolución y se necesitan marcadores con más polimorfismos para poder llegar a conclusiones más certeras. Sin embargo, tanto los resultados obtenidos con genes de maxicírculo, el espaciador intergénico de genes líderes empalmados y de microsatélites sugieren que existe poca diversidad genética entre los individuos de Norte y Centroamérica. Por lo tanto, podría existir la posibilidad que haya habido un efecto de cuello de botella que redujo la diversidad genética de *T. cruzi* en esta región.

Dorn *et al.* (2009) demostraron la presencia de 4 grupos de *T. dimidiata* utilizando haplotipos obtenidos de las secuencias de ITS-2 y *CYT b*. De la misma manera Monteiro *et al.* (2012) encontraron la presencia de 4 grupos de *T. dimidiata* utilizando los genes *CYT b* y *ND4*. Entre los grupos encontrados por Dorn *et al.* (2009), el grupo 1A se extiende desde Guatemala por toda Centroamérica. Así mismo, Monteiro *et al.* (2012) también encontraron un grupo similar (Grupo I) que se extiende desde Guatemala hasta Colombia. Por el tiempo de divergencia (3.0 a 1.7 MYA) y secuencias de los genes *CYT b* y *ND4* pareciera que los individuos de *T. dimidiata* de este estudio pertenecen a este grupo. Las diferencias genéticas encontradas entre las subpoblaciones encontradas en el Norte y en el Suroriente coinciden con lo reportado por King *et al.* (2011), quienes encontraron que los factores de riesgo ambientales y domiciliarios de infestación de *T. dimidiata* diferían entre Baja Verapaz y Jutiapa. La posibilidad de que los grupos encontrados en este estudio se hayan separado debido al desplazamiento de bosques en los valles hacia las montañas luego de una glaciación se ha encontrado en otros insectos principalmente en coleópteros como los pasálidos (Schuster y Cano 2006).

Se pensaba que podía haber una relación entre vector y parásito debido a que se había encontrado una separación de genotipos de *T. cruzi* entre el Norte y Sur de Guatemala utilizando microsatélites (Rivera *et al.* 2004). Además, King *et al.* (2011) encontraron que los factores de riesgo ambientales y domiciliarios de infestación de *T. dimidiata* diferían entre Baja Verapaz y Jutiapa. Esto indicaba que podían haber distintos ecosistemas relacionados al vector que podrían representar distintos ciclos de transmisión y reflejarse en una asociación de genotipos del vector con genotipos del parásito. Sin embargo, utilizando marcadores moleculares mitocondriales no se logró determinar que existiese una asociación entre *T. cruzi* y *T. dimidiata*.

Maia Da Silva *et al.* (2007) encontraron que existía un traslape significativo entre la distribución de especies de *Rhodnius* y linajes de *T. rangeli*. Esto indicaba una divergencia de linajes de *T. rangeli* asociada a especies de *Rhodnius* sin ninguna asociación con el hospedero vertebrado. Al encontrarse que no existe una asociación entre *T. cruzi* con *T. dimidiata* podría sugerirse una asociación de *T. cruzi* con el hospedero vertebrado. Ésta es una posible explicación a que *T. cruzi* se encuentre disperso en todos los sitios muestreados, mientras que el vector se encuentra restringido geográficamente. Por lo tanto, el hospedero vertebrado podría ser el encargado de que haya una homogeneidad del parásito en estos ambientes domésticos independientemente de los movimientos del vector. Además, esto puede explicar el hecho que exista una homogeneidad del parásito a lo largo de todos los sitios muestreados, lo que se podría deber a un reservorio u hospedero que tenga una alta distribución independientemente de barreras altitudinales. Algunos de estos posibles hospederos podría ser el tacuazín (*Didelphis* sp.) debido a que se encuentran cerca de establecimientos humanos tanto en el área urbana como rural, tienen altas tasas de infección, una larga parasitemia (Barretto *et al.* 1964, Zeledon *et al.* 1970) y una distribución amplia desde Norteamérica hasta Suramérica (Gardner 2007, Hunsaker 1977). Otro posible hospedero podría ser el humano por su alta vagilidad y migración entre estos sitios.

Monteiro *et al.* (2012) determinaron el tiempo de divergencia del complejo de *T. dimidiata* mediante el gen de *CYT b* en 8.25 millones de años y del grupo I en 2.81

millones de años, grupo al que pareciera corresponder los individuos de este estudio. En contraste, según la hipótesis del reloj molecular se encontró que el grupo de individuos analizados de *T. cruzi* divergieron alrededor de hace 0.86 millones de años. Esto coincide con lo encontrado por Lewis *et al.* (2011) quienes estiman el origen de TcI en 1.3 a 0.2 millones de años. Así mismo, la estimación de tiempo de divergencia entre *T. cruzi* y *T. cruzi marinkellei* coincide muy bien con la estimación realizada por Lewis *et al.* (2011) quienes la calcularon en 6.04 (8.47-3.69) millones de años. Ramirez *et al.* (2012) estimaron el tiempo de divergencia del genotipo TcIdom en 0.023 (0.037-0.013) millones de años, lo cual también es similar al tiempo de divergencia estimado en este estudio. En adición a la baja diversidad genética observada en los individuos de *T. cruzi* de este estudio con la alta diversidad genética de *T. dimidiata* pareciera que *T. dimidiata* tiene un origen evolutivo más antiguo que *T. cruzi*. Probablemente el origen de este clado de *T. dimidiata* haya sido después del cierre del Istmo Centroamericano hace 2 a 3.5 millones de años. Esto podría sugerir que la separación del parásito es más reciente a la evolución del vector y en parte por esto es que aún no se observan diferencias geográficas marcadas en *T. cruzi*. Esto también se puede observar por los individuos de *T. cruzi* que parecieran tener una tendencia hacia algunos grupos de *T. dimidiata* como lo eran las muestras 11, 46 y 99.

Cabe mencionar que los tiempos estimados por reloj molecular son solo una hipótesis, ya que este tiene varias complicaciones a tomarse en cuenta (Bromhan y Penny 2003). Una de ellas es que las tasas de sustitución no siempre son constantes entre las especies y pueden variar en un periodo de tiempo (Bromhan *et al.* 1998). Otro problema es que la teoría neutral de la evolución predice que la evolución depende de las tasas de mutación, tamaño de la población y la proporción de sitios con diferentes coeficientes selectivos. Estos factores varían entre genes, organismos y respecto al tiempo, lo que puede crear errores al momento de estimar tiempos de divergencia (Bromhan *et al.* 2000).

Los resultados de este estudio tienen implicaciones epidemiológicas en el control de la enfermedad de Chagas. Una de estas implicaciones es en el control del vector *T. dimidiata* en Guatemala. Los resultados de este estudio indican que existen 4 grupos de *T.*

*dimidiata* en el oriente del país. El conocimiento de estas 4 subpoblaciones de *T. dimidiata* indican que se deben de tener estrategias de control del vector específicas para cada grupo, ya que lo que se realice en una subpoblación no va a afectar a la otra. Además, indican la importancia del hospedero vertebrado en la transmisión del parásito, ya que se encontró que el vector está delimitado geográficamente y por lo tanto el principal dispersor del parásito en las regiones muestreadas puede ser el hospedero vertebrado.



## V. CONCLUSIONES

- No existe una asociación entre genotipos de *T. cruzi* y *T. dimidiata* en los ambientes domésticos de Guatemala muestreados.
- Los genes de maxicírculo no presentaron suficiente variabilidad para separar genéticamente los individuos de *T. cruzi* utilizados en este estudio.
- Existe homogeneidad en los genotipos de *T. cruzi* a lo largo de los sitios muestreados sin ninguna delimitación geográfica.
- Los genes mitocondriales *CYT b* y *ND4* tienen suficiente resolución para poder diferenciar subpoblaciones de *T. dimidiata* presentes en el país.
- Existen cuatro grupos de *T. dimidiata* delimitados geográficamente. El primero compuesto por individuos del Norte (Alta Verapaz, Baja Verapaz y Zacapa), el segundo por individuos del Sur (Jutiapa, Chiquimula y Santa Rosa), el tercero formado por individuos a temperaturas templadas en Santa Rosa y el último formado por individuos de Chiquimula con características de los grupos del Norte y el Sur.
- Debido a su baja diversidad genética y el análisis de reloj molecular pareciera que la introducción de *T. cruzi* es más reciente a la evolución de *T. dimidiata* en los sitios muestreados del país.



## VI. RECOMENDACIONES

- Incluir marcadores moleculares nucleares de *T. dimidiata* para poder tener un análisis más completo.
- Realizar análisis con otros marcadores moleculares que aún no se han probado para *T. cruzi* en Guatemala como marcadores minisatélites.
- En un futuro, con más información, se podrían establecer líneas del control del vector por separado en estas 4 subpoblaciones encontradas en las regiones muestreadas.
- Realizar un análisis de congruencia de filogenias entre el hospedero vertebrado y el parásito para poder determinar el posible rol del hospedero en la dispersión de genotipos del parásito.
- Incluir más muestras tanto de *T. cruzi* como de *T. dimidiata* para poder realizar pruebas como  $F_{st}$  en las que se puede medir si existe un flujo genético entre poblaciones.



## VII. LITERATURA CITADA

- Almeida, C. E., R. S. Pacheco, K. Haag, S. Dupas, E. M. Dotson y J. Costa. 2008. **Inferring from the Cyt B gene the *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) genetic structure and domiciliary infestation in the state of Paraíba, Brazil.** Am J Trop Med Hyg 78(5):791-802.
- Andrade, S. 1974. **Caracterização de cepas do *Trypanozoma cruzi* isoladas no Recôncavo Baiano.** Rev Patol Trop 3:65-121.
- Andrade, S. y J. Magalhães. 1997. **Biodemes and zymodemes of *Trypanosoma cruzi* strains: correlations with clinical data and experimental pathology.** Rev Soc Bras Med Trop 30:27-35.
- Arzube, M. 1966. **Investigación de la fuente alimentica del *Triatoma dimidiata* Latreille 1811 (Hemiptera: Reduviidae) mediante la reacción de precipitina.** Rev Ecuat Hig Med Trop 23:137-152.
- Aufderheide, A. C., *et al.* 2004. **A 9,000-year record of Chagas' disease.** Proc Natl Acad Sci U S A 101(7):2034-2039.
- Balbuena, J. A., R. Miguez-Lozano y I. Blasco-Costa. 2013. **PACo: A Novel Procrustes Application to Cophylogenetic Analysis.** PLoS One 8(4):e61048.
- Bandelt, H. J., P. Forster y A. Rohl. 1999. **Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies.** Mol Biol Evol 16(1):37-48.
- Barretto, M. P., A. F. Siqueira, F. M. Correa, F. Ferriollifilho y J. R. Carvalheiro. 1964. **[Studies on Reservoirs and Wild Vectors of *Trypanosoma Cruzi*. VII. Research on the Natural Infection of Opossums by Trypanosomas Sililar to *T. Cruzi*].** Rev Bras Biol 24:289-300.
- Black IV, W. y S. Barker. 2005. **Systematic Relationships Among Disease Vectors.** En Marquardt WC, ed. Biology of Disease Vectors. Elsevier. San Diego, California, USA. 816 pp.
- Bromhan, L. y D. Penny. 2003. **The Modern Molecular Clock.** Nat Rev Genet 4:216-224.
- Bromhan, L., A. Rambaut, M. Hendy y D. Penny. 2000. **The power of relative rates tests depends on the data.** J. Mol. Evol. 50:296-301.
- Bromhan, L., A. Rambaut, R. Fortey, A. Cooper y D. Penny. 1998. **Testing the Cambrian explosion hypothesis by using a molecular dating technique.** Proc Natl Acad Sci U S A 95:12386-12389.
- Brooks, D. 1979. **Testing the context and extent of host-parasite coevolution.** Systematic zoology 28:277-289.

- . 1990. **Parsimony analysis in historical biogeography and coevolution: Methodological and theoretical update.** *Systematic zoology* 28:299-307.
- Campos, F. 1931. **La chinche sanguifolia *Triatoma dimidiata* Latreille, y su amplia dispersión intraurbana. Peligros que entraña su propagación y medios de combatirla.** *Rev. Cole Nac. V Rocaforte* 13:107-111.
- Carvalho, T. 2010. **Estudio por microscopía óptica.** (03/06 2012;  
[http://www.fiocruz.br/chagas\\_esp/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=69](http://www.fiocruz.br/chagas_esp/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=69))
- CDC. 2006. **Chagas disease after organ transplantation-Los Angeles, California.** . *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 55:798-800.
- Challis, R. 2006. **Bayesian miniconference.** (03/06 2012;  
[http://www.nematodes.org/teaching/tutorials/phylogenetics/Bayesian\\_Workshop/Bayesian\\_miniconference.htm\\_-\\_Toc145477464](http://www.nematodes.org/teaching/tutorials/phylogenetics/Bayesian_Workshop/Bayesian_miniconference.htm_-_Toc145477464))
- Charleston, M. A. y D. L. Robertson. 2002. **Preferential host switching by primate lentiviruses can account for phylogenetic similarity with the primate phylogeny.** *Syst Biol* 51(3):528-535.
- Christensen, H. A., O. E. Sousa y A. M. de Vasquez. 1988. **Host feeding profiles of *Triatoma dimidiata* in peridomestic habitats of western Panama.** *Am J Trop Med Hyg* 38(3):477-479.
- Cimo, P. L., W. E. Luper y M. A. Scouros. 1993. **Transfusion-associated Chagas' disease in Texas: report of a case.** *Tex Med* 89(12):48-50.
- Conow, C., D. Fielder, Y. Ovadia y R. Libeskind-Hadas. 2010. **Jane: a new tool for the cophylogeny reconstruction problem.** *Algorithms Mol Biol* 5:16.
- Coura, J. R. y J. Borges-Pereira. 2010. **Chagas disease: 100 years after its discovery. A systemic review.** *Acta Trop* 115(1-2):5-13.
- Cura, C. I., *et al.* 2010. ***Trypanosoma cruzi* I genotypes in different geographical regions and transmission cycles based on a microsatellite motif of the intergenic spacer of spliced-leader genes.** *Int J Parasitol* 40(14):1599-1607.
- de Freitas, J. M., *et al.* 2006. **Ancestral genomes, sex, and the population structure of *Trypanosoma cruzi*.** *PLoS Pathog* 2(3):e24.
- de Lana, M. y E. de Menezes. 2010. **Biology of *Trypanosoma cruzi* and Biological Diversity.** En Telleria J, Tibayrenc M, eds. *American Trypanosomiasis Chagas Disease One Hundred Years of Research.* Elsevier. Burlington, Massachusetts, USA. 870 pp.
- Desdevises, Y. 2007. **Cophylogeny: insights from fish-parasite systems.** *Parassitologia* 49(3):125-128.

- Docampo, R., W. de Souza, K. Miranda, P. Rohloff y S. N. Moreno. 2005. **Acidocalcisomes - conserved from bacteria to man.** *Nat Rev Microbiol* 3(3):251-261.
- Dorn, P. L., C. Monroy y A. Curtis. 2007. ***Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811): a review of its diversity across its geographic range and the relationship among populations.** *Infect Genet Evol* 7(2):343-352.
- Dorn, P. L., C. Calderon, S. Melgar, B. Moguel, E. Solorzano, E. Dumonteil, A. Rodas, N. de la Rua, R. Garnica y C. Monroy. 2009. **Two distinct *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) taxa are found in sympatry in Guatemala and Mexico.** *PLoS Negl Trop Dis* 3(3):e393.
- Gardner, A. L. 2007. **Order Didelphimorphia.** En Gardner AL, ed. *Mammals of South America.* The University of Chicago Press. Chicago. 669 pp.
- Gibbard, P. y T. Van Kolfshoten. 2004. **Chapter 22: The Pleistocene and Holocene Epochs.** En Gradstein FM, Ogg J, Smith AG, eds. *Geologic Time Scale 2004.* Cambridge University Press. Cambridge:
- Giordano, R., J. C. Cortez, S. Paulk y L. Stevens. 2005. **Genetic diversity of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in Chuquisaca, Bolivia based on the mitochondrial cytochrome b gene.** *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100(7):753-760.
- Gott, J. M. 2003. **Expanding genome capacity via RNA editing.** *C R Biol* 326(10-11):901-908.
- Grajeda, L. 2006. **Estudio del ciclo de transmisión de *Trypanosoma cruzi* entre *Rhodnius prolixus* y *Triatoma dimidiata* mediante la tipificación genética de este parásito.** Tesis de graduación. Universidad del Valle de Guatemala, Guatemala. 115 pp.
- Herrera, C., M. D. Bargas, A. Fajardo, M. Montilla, O. Triana, G. A. Vallejo y F. Guhl. 2007. **Identifying four *Trypanosoma cruzi* I isolate haplotypes from different geographic regions in Colombia.** *Infect Genet Evol* 7(4):535-539.
- Hommola, K., J. E. Smith, Y. Qiu y W. R. Gilks. 2009. **A permutation test of host-parasite cospeciation.** *Mol Biol Evol* 26(7):1457-1468.
- Huelsenbeck, J. P., B. Larget, R. E. Miller y F. Ronquist. 2002. **Potential applications and pitfalls of Bayesian inference of phylogeny.** *Syst Biol* 51(5):673-688.
- Hunsaker, D. 1977. **Ecology of New World marsupials.** En Hunsaker D, ed. *The biology of marsupials.* Academic Press. New York. 95-156 pp.
- Jannin, J. y R. Salvatella. 2006. **Who, how, what and where?** *Nature* 465(7301):S8-S9.

- Kawashita, S. Y., G. F. Sanson, O. Fernandes, B. Zingales y M. R. Briones. 2001. **Maximum-likelihood divergence date estimates based on rRNA gene sequences suggest two scenarios of *Trypanosoma cruzi* intraspecific evolution.** Mol Biol Evol 18(12):2250-2259.
- King, R. J., C. Cordon-Rosales, J. Cox, C. R. Davies y U. D. Kitron. 2011. ***Triatoma dimidiata* infestation in Chagas disease endemic regions of Guatemala: comparison of random and targeted cross-sectional surveys.** PLoS Negl Trop Dis 5(4):e1035.
- Legendre, P., Y. Desdevises y E. Bazin. 2002. **A statistical test for host-parasite coevolution.** Syst Biol 51(2):217-234.
- Leiby, D. A., B. A. Lenes, M. A. Tibbals y M. T. Tames-Olmedo. 1999. **Prospective evaluation of a patient with *Trypanosoma cruzi* infection transmitted by transfusion.** N Engl J Med 341(16):1237-1239.
- Lewis, M. D., J. Ma, M. Yeo, H. J. Carrasco, M. S. Llewellyn y M. A. Miles. 2009. **Genotyping of *Trypanosoma cruzi*: systematic selection of assays allowing rapid and accurate discrimination of all known lineages.** Am J Trop Med Hyg 81(6):1041-1049.
- Lewis, M. D., M. S. Llewellyn, M. Yeo, N. Acosta, M. W. Gaunt y M. A. Miles. 2011. **Recent, independent and anthropogenic origins of *Trypanosoma cruzi* hybrids.** PLoS Negl Trop Dis 5(10):e1363.
- Llewellyn, M. y M. Miles. 2010. **Who, how, what and where?** Nature 465(7301):S8-S9.
- Lukes, J., D. L. Guilbride, J. Votypka, A. Zikova, R. Benne y P. T. Englund. 2002. **Kinetoplast DNA network: evolution of an improbable structure.** Eukaryot Cell 1(4):495-502.
- Lyman, D. F., F. A. Monteiro, A. A. Escalante, C. Cordon-Rosales, D. M. Wesson, J. P. Dujardin y C. B. Beard. 1999. **Mitochondrial DNA sequence variation among triatomine vectors of Chagas' disease.** Am J Trop Med Hyg 60(3):377-386.
- Maia Da Silva, F., *et al.* 2007. **Comparative phylogeography of *Trypanosoma rangeli* and *Rhodnius* (Hemiptera: Reduviidae) supports a long coexistence of parasite lineages and their sympatric vectors.** Mol Ecol 16(16):3361-3373.
- Marcet, P. 2012. **Protocolo de purificación de ADN I.** Comunicación personal
- Marcilla, A., M. D. Bagues, J. M. Ramsey, E. Magallon-Gastelum, P. M. Salazar-Schettino, F. Abad-Franch, J. P. Dujardin, C. J. Schofield y S. Mas-Coma. 2001. **The ITS-2 of the nuclear rDNA as a molecular marker for populations, species, and phylogenetic relationships in Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), vectors of Chagas disease.** Mol Phylogenet Evol 18(1):136-142.

- Martinez, F. H., G. C. Villalobos, A. M. Cevallos, L. Torre Pde, J. P. Laclette, R. Alexandre-Aguilar y B. Espinoza. 2006. **Taxonomic study of the *Phyllosoma* complex and other triatomine (Insecta: Hemiptera: Reduviidae) species of epidemiological importance in the transmission of Chagas disease: using ITS-2 and mtCytB sequences.** *Mol Phylogenet Evol* 41(2):279-287.
- Messenger, L. A., M. S. Llewellyn, T. Bhattacharyya, O. Franzen, M. D. Lewis, J. D. Ramirez, H. J. Carrasco, B. Andersson y M. A. Miles. 2012. **Multiple mitochondrial introgression events and heteroplasmy in *Trypanosoma cruzi* revealed by maxicircle MLST and next generation sequencing.** *PLoS Negl Trop Dis* 6(4):e1584.
- Miles, M. A., P. J. Toye, S. C. Oswald y D. G. Godfrey. 1977. **The identification by isoenzyme patterns of two distinct strain-groups of *Trypanosoma cruzi*, circulating independently in a rural area of Brazil.** *Trans R Soc Trop Med Hyg* 71(3):217-225.
- Miles, M. A., A. Souza, M. Pova, J. J. Shaw, R. Lainson y P. J. Toye. 1978. **Isozymic heterogeneity of *Trypanosoma cruzi* in the first autochthonous patients with Chagas' disease in Amazonian Brazil.** *Nature* 272(5656):819-821.
- Miles, M. A., R. A. Cedillos, M. M. Pova, A. A. de Souza, A. Prata y V. Macedo. 1981. **Do radically dissimilar *Trypanosoma cruzi* strains (zymodemes) cause Venezuelan and Brazilian forms of Chagas' disease?** *Lancet* 1(8234):1338-1340.
- Monroy, C., A. Rodas, M. Mejia, R. Rosales y Y. Tabaru. 2003a. **Epidemiology of Chagas disease in Guatemala: infection rate of *Triatoma dimidiata*, *Triatoma nitida* and *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae) with *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae).** *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98(3):305-310.
- Monroy, C., D. M. Bustamante, A. G. Rodas, M. E. Enriquez y R. G. Rosales. 2003b. **Habitats, dispersion and invasion of sylvatic *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Peten, Guatemala.** *J Med Entomol* 40(6):800-806.
- Monteiro, F. A., D. M. Wesson, E. M. Dotson, C. J. Schofield y C. B. Beard. 2000. **Phylogeny and molecular taxonomy of the Rhodniini derived from mitochondrial and nuclear DNA sequences.** *Am J Trop Med Hyg* 62(4):460-465.
- Monteiro, F. A., T. V. Barrett, S. Fitzpatrick, C. Cordon-Rosales, D. Feliciangeli y C. B. Beard. 2003. **Molecular phylogeography of the Amazonian Chagas disease vectors *Rhodnius prolixus* and *R. robustus*.** *Mol Ecol* 12(4):997-1006.
- Monteiro, F. A., R. Perez, F. Panzera, J. P. Dujardin, C. Galvao, D. Rocha, F. Noireau, C. Schofield y C. B. Beard. 1999. **Mitochondrial DNA variation of *Triatoma infestans* populations and its implication on the specific status of *T. melanosoma*.** *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94 Suppl 1:229-238.

- Monteiro, F. A., *et al.* 2012. **Phylogeographic pattern and extensive mtDNA sequence divergence disclose a species complex within the Chagas disease vector *Triatoma dimidiata* in the Americas.** En prensa.
- Morel, C., E. Chiari, E. P. Camargo, D. M. Mattei, A. J. Romanha y L. Simpson. 1980. **Strains and clones of *Trypanosoma cruzi* can be characterized by pattern of restriction endonuclease products of kinetoplast DNA minicircles.** Proc Natl Acad Sci U S A 77(11):6810-6814.
- Morrone, J. 2010. **El lenguaje de la cladística.** Universidad Nacional Autónoma de México: México. 112 pp.
- Noireau, F. y J. Dujardin. 2010. **Biology of Triatomine.** En Telleria J, Tibayrenc M, eds. American Trypanosomiasis. Elsevier. Burlington, Massachusetts, USA. 870 pp.
- OMS. 2010. **Chagas disease (American trypanosomiasis) fact sheet.** Weekly epidemiological record 34(85):334-336.
- OPS. 2003. **Informe final: Reunión internacional para el establecimiento de certificación de la eliminación de *Rhodnius prolixus*.** Ciudad de Guatemala, Guatemala. 52 pp.
- Page, R. 1993. **Genes, organisms, and areas: The problem of multiple lineages.** Systematic Biology 42:77-84.
- . 1994a. **Parallel phylogenies: Reconstructing the history of host-parasite assemblages.** Cladistics 10:155-173.
- . 1994b. **Maps between trees and cladistic analysis of historical associations among genes, organisms, and areas.** Systematic Biology 43:58-77.
- Page, R. y M. A. Charleston. 1998. **Trees within trees phylogeny and historical associations.** Trends in Ecology & Evolution 13:356-359.
- Paiz, C. 2008. **Caracterización genética de los linajes de *Trypanosoma cruzi* encontrados en heces de los vectores *Triatoma dimidiata* y *Rhodnius prolixus* utilizando el gen del mini exón.** Tesis de graduación. Universidad del Valle de Guatemala, Guatemala. 104 pp.
- Peakall, R. y P. E. Smouse. 2012. **GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research--an update.** Bioinformatics 28(19):2537-2539.
- Pereira, K. S., F. L. Schmidt, A. M. Guaraldo, R. M. Franco, V. L. Dias y L. A. Passos. 2009. **Chagas' disease as a foodborne illness.** J Food Prot 72(2):441-446.
- Petana, W. B. 1971. **American trypanosomiasis in British honduras. X. Natural habitats and ecology of *Triatoma dimidiata* (Hemiptera, Reduviidae) in the El Cayo and Toledo districts,**

and the prevalence of infection with *Trypanosoma* (Schizotrypanum) *cruzi* in the wild-caught bugs. *Ann Trop Med Parasitol* 65(2):169-178.

Pfeiler, E., B. G. Bitler, J. M. Ramsey, C. Palacios-Cardiel y T. A. Markow. 2006. **Genetic variation, population structure, and phylogenetic relationships of *Triatoma rubida* and *T. recurva* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from the Sonoran Desert, insect vectors of the Chagas' disease parasite *Trypanosoma cruzi*.** *Mol Phylogenet Evol* 41(1):209-221.

Pritchard, J., M. Stephens y P. Donnelly. 2000. **Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data.** *Genetics* 155:945-959.

Quintanal, R. E. y G. Polanco. 1977. **Feeding preferences of *Triatoma dimidiata maculipennis* in Yucatán, Mexico.** *J Trop Med Hyg* 26:176-178.

Rambaut, A. y A. J. Drummond. 2007. **Tracer v1.4.** <http://beast.bio.ed.ac.uk/tracer>)

Ramirez, J. D., F. Guhl, L. A. Messenger, M. D. Lewis, M. Montilla, Z. Cucunuba, M. A. Miles y M. S. Llewellyn. 2012. **Contemporary cryptic sexuality in *Trypanosoma cruzi*.** *Mol Ecol* 21(17):4216-4226.

Rassi, A., Jr., A. Rassi y J. Marcondes de Rezende. 2012. **American trypanosomiasis (Chagas disease).** *Infect Dis Clin North Am* 26(2):275-291.

Rassi Jr, A., A. Rassi y J. Marin-Neto. 2010. **Chagas disease.** *Lancet* (375):1388-1402.

Reyes, M. y V. M. Angulo. 2009. **Ciclo de vida de *Triatoma dimidiata* Latreille, 1811 (Hemiptera, Reduviidae) en condiciones de laboratorio: producción de ninfas para ensayos biológicos.** *Biomédica* 29:119-226.

Rivera, E. 2003. **Identificación y caracterización de microsatélites polimórficos en *Trypanosoma cruzi*.** Tesis de graduación. Universidad del Valle de Guatemala, Guatemala. 163 pp.

Rivera, E., M. E. Morales-Betoulle, A. Castillo, C. B. Beard, E. M. Dotson, C. Cordon-Rosales, M. W. Gaunt y P. M. Pennington. 2004. **Identification of Two Major Strains of *Trypanosoma cruzi* Involved in Distinct Transmission Cycles in the North and South Guatemala using Newly Developed Microsatellite Markers.** En prensa.

Romanha, A. J., A. A. da Silva Pereira, E. Chiari y V. Kilgour. 1979. **Isoenzyme patterns of cultured *Trypanosoma cruzi*: changes after prolonged subculture.** *Comp Biochem Physiol B* 62(2):139-142.

Sasaki, H., R. Rosales y Y. Tabaru. 2003. **Host feeding profiles of *Rhodnius prolixus* and *Triatoma dimidiata* in Guatemala (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae).** *Med. Entomol. Zool.* 54:283-289.

- Schofield, C. 2002. **Evolución y control del *Triatoma dimidiata***. Pages 12-18. Taller para el establecimiento de pautas técnicas en el control de *Triatoma dimidiata*. San Salvador, El Salvador: PAHO
- Schofield, C. y D. Gorla. 2010. **Who, how, what and where?** Nature 465(7301):S8-S9.
- Schuster, J. C. y E. B. Cano. 2006. **What can Scarabaeoidea contribute to the knowledge of the biogeography of Guatemala?** Coleopterists Bulletin 5(60):57-70.
- Souto, R. P., O. Fernandes, A. M. Macedo, D. A. Campbell y B. Zingales. 1996. **DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi***. Mol Biochem Parasitol 83(2):141-152.
- Tabaru, Y., C. Monroy, A. Rodas, M. Mejía y R. G. Rosales. 1999. **The geographical distribution of vectors of Chagas' disease and populations at risk of infection in Guatemala**. Med. Entomol. Zool. 50:9-17.
- Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei y S. Kumar. 2011. **MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods**. Mol Biol Evol 28(10):2731-2739.
- Tibayrenc, M. 1998. **Genetic epidemiology of parasitic protozoa and other infectious agents: the need for an integrated approach**. Int J Parasitol 28(1):85-104.
- Tibayrenc, M. y F. Ayala. 1991. **Towards a population genetics of microorganisms: the clonal theory of parasitic protozoa**. Parasitol Today 7:228-232.
- Tibayrenc, M., P. Ward, A. Moya y F. J. Ayala. 1986. **Natural populations of *Trypanosoma cruzi*, the agent of Chagas disease, have a complex multiclonal structure**. Proc Natl Acad Sci U S A 83(1):115-119.
- Usinger, R. L. 1944. **The Triatominae of North and Central America and the West Indies and their public health significance**. Public Health Bulletin 288:1-83.
- Villalba, R., G. Fornes, M. A. Alvarez, J. Roman, V. Rubio, M. Fernandez, J. M. Garcia, M. Vinals y A. Torres. 1992. **Acute Chagas' disease in a recipient of a bone marrow transplant in Spain: case report**. Clin Infect Dis 14(2):594-595.
- Weyl, R. 1980. **Geology of Central America**. Gebrüder Borntraeger: Berlin-Stuttgart.
- Wiley, E. 1987. **Methods in vicariance biogeography**. En Hovenkamp P, ed. Systematics and evolution: A matter of diversity. Utrecht University. Institute of Systematic Botany. Utrecht. 283-306 pp.

- . 1988a. **Vicariance biogeography**. Annual Review of Ecology and Systematics 19:513-542.
- . 1988b. **Parsimony analysis and vicariance biogeography**. Systematic zoology 37:271-290.
- Zeledon, R. y J. E. Rabinovich. 1981. **Chagas' disease: an ecological appraisal with special emphasis on its insect vectors**. Annu Rev Entomol 26:101-133.
- Zeledon, R., J. A. Ugalde y L. A. Paniagua. 2001a. **Entomological and ecological aspects of six sylvatic species of triatomines (Hemiptera, Reduviidae) from the collection of the National Biodiversity Institute of Costa Rica, Central America**. Mem Inst Oswaldo Cruz 96(6):757-764.
- Zeledon, R., V. M. Montenegro y O. Zeledon. 2001b. **Evidence of colonization of man-made ecotopes by *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) in Costa Rica**. Mem Inst Oswaldo Cruz 96(5):659-660.
- Zeledon, R., G. Solano, G. Saenz y J. C. Swartzwelder. 1970. **Wild reservoirs of *Trypanosoma cruzi* with special mention of the opossum, *Didelphis marsupialis*, and its role in the epidemiology of Chagas' disease in an endemic area of Costa Rica**. J Parasitol 56(1):38.
- Zeledon, R., G. Solano, A. Zuniga y J. C. Swartzwelder. 1973. **Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811). 3. Habitat and blood sources**. J Med Entomol 10(4):363-370.
- Zingales, B., *et al.* 2009. **A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI**. Mem Inst Oswaldo Cruz 104(7):1051-1054.
- Zumaya, F. A., *et al.* 2012. **North American import? Charting the origins of an enigmatic *Trypanosoma cruzi* domestic genotype**. Parasites & Vectors 5(226):1-9.



## VIII. APÉNDICE

### A. Recetas de PCR

#### 1. Receta de PCR de genes de Maxicírculo

Reactivo	[Stock]	[Reacción]	Vol. Para 1 reacción (ul)
H <sub>2</sub> O	-	-	15.8
Buffer	10X	1X	2.5
dNTP's	2.5 mM	0.2 mM	2
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	1.5 mM	1.5
Primer Forward	10 mM	0.4 mM	1
Primer Reverse	10 mM	0.4 mM	1
Taq (Promega)	5 U/ul	1 U	0.2
ADN	10-100 ng/ul	10-100 ng	1
<b>Vol. Reacción</b>			<b>25</b>
Temperatura (°C)	Tiempo		
94	3 min		
94	30 s	<b>30 ciclos</b>	
50	30 s		
72	30 s		
72	10 min		

## 2. Receta de PCR de *CYT b* de *T. dimidiata*

Reactivo	[Stock]	[Reacción]	Vol. Para 1 reacción (ul)
H <sub>2</sub> O	-	-	15.3
Buffer	10X	1X	2.5
dNTP's	2.5 mM	0.2 mM	2
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	2 mM	2
Primer CYTB7432F	10 mM	0.4 mM	1
Primer CYTB7433R	10 mM	0.4 mM	1
Taq (Promega)	5 U/ul	1 U	0.2
<b>ADN</b>	1-10 ng/ul	1-10 ng	1
<b>Vol. Reacción</b>			<b>25</b>

Reactivo	[Stock]	[Reacción]	Vol. Para 1 reacción (ul)
H <sub>2</sub> O	-	-	15.3
Buffer	10X	1X	2.5
dNTP's	2.5 mM	0.2 mM	2
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	2 mM	2
Primer CYTB7432F	10 mM	0.4 mM	1
Primer CYTB7433R	10 mM	0.4 mM	1
Taq (Promega)	5 U/ul	1 U	0.2
<b>ADN</b>	1 ul Producto de PCR		1
<b>Vol. Reacción</b>			<b>25</b>

Temperatura (°C)	Tiempo	
94	3 min	<b>30 ciclos</b>
94	1 min	
45	1 min	
72	1 min	
72	10 min	

### 3. Receta de PCR anidado de *ND4* de *T. dimidiata*

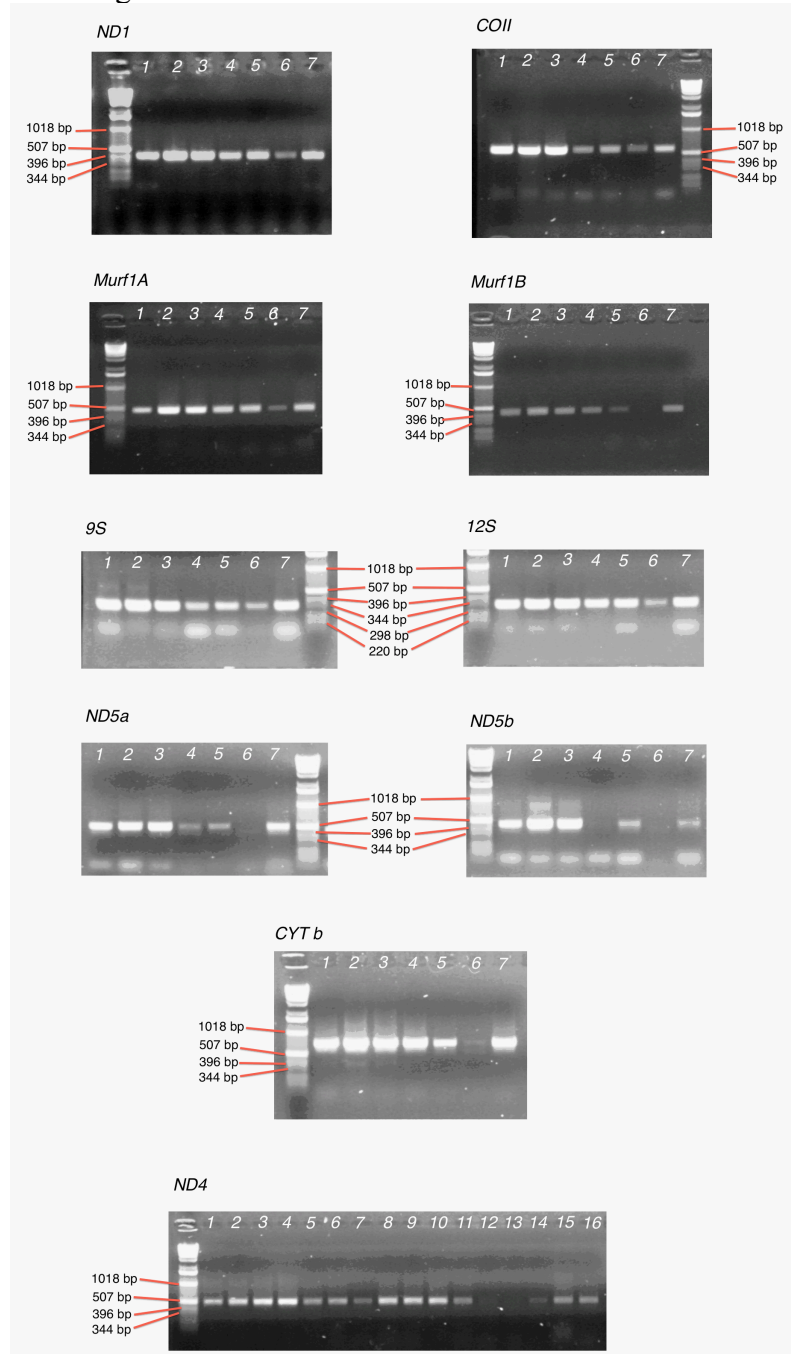
Reactivo	[Stock]	[Reacción]	Vol. Para 1 reacción (ul)
H2O	-	-	15.3
Buffer	10X	1X	2.5
dNTP's	2.5 mM	0.2 mM	2
MgCl2	25 mM	2 mM	2
Primer ND4deg01F	10 mM	0.4 mM	1
Primer ND4b02R	10 mM	0.4 mM	1
Taq (Promega)	5 U/ul	1 U	0.2
<b>ADN</b>		1-10 ng	1
<b>Vol. Reacción</b>			<b>25</b>

Reactivo	[Stock]	[Reacción]	Vol. Para 1 reacción (ul)
H2O	-	-	15.3
Buffer	10X	1X	2.5
dNTP's	2.5 mM	0.2 mM	2
MgCl2	25 mM	2 mM	2
Primer ND4deg	10 mM	0.4 mM	1
Primer ND4neR	10 mM	0.4 mM	1
Taq (Promega)	5 U/ul	1 U	0.2
<b>ADN</b>	1 ul Producto de PCR		1
<b>Vol. Reacción</b>			<b>25</b>

Temperatura (°C)	Tiempo	
94	5 min	
94	30 s	<b>35 ciclos</b>
47	30 s	
72	1 min	
72	10 min	

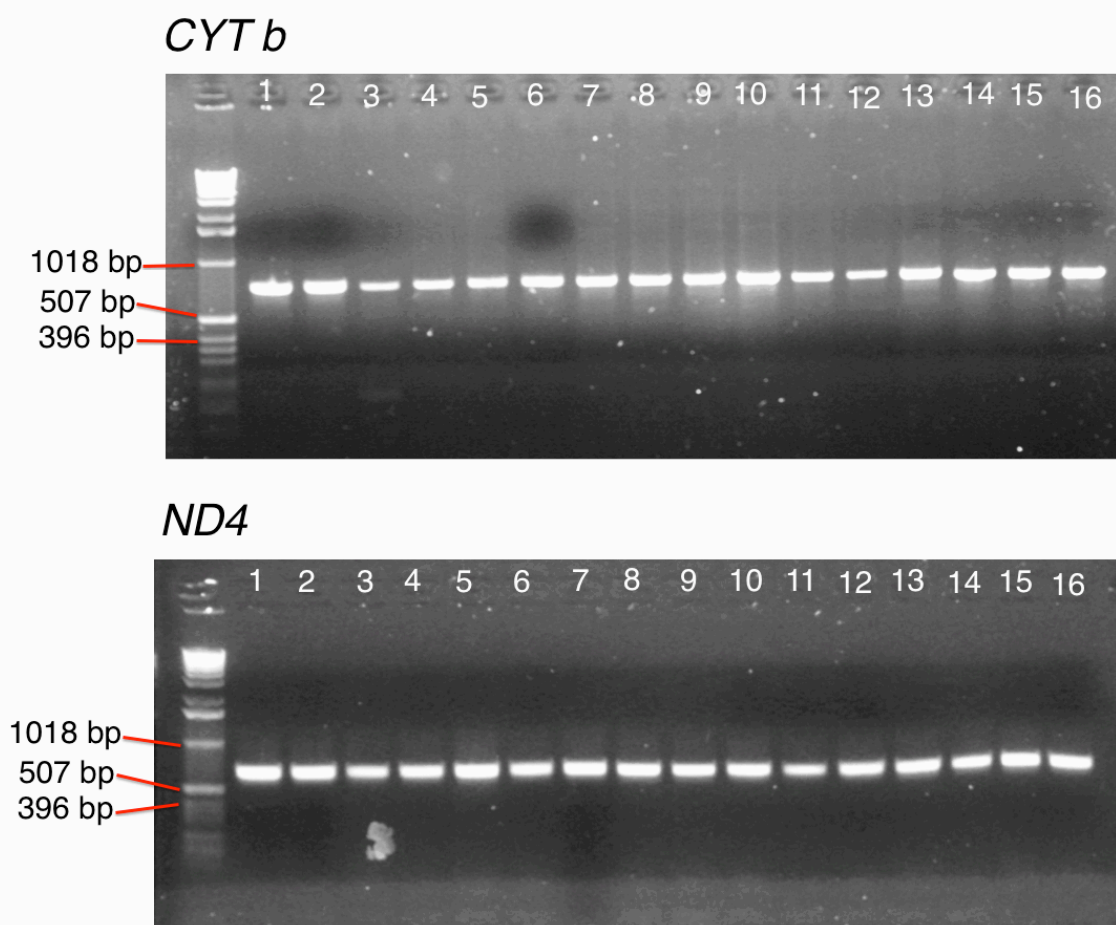
## B. Electroforesis en geles de Agarosa de Productos de PCR

### 1. PCR de genes de Maxicirculo



Electroforesis en geles de agarosa 1.5%. En todos los geles (excepto *ND4*): Pozo 1 – 151, Pozo 2- 128, Pozo 3-127, Pozo 4-99, Pozo 5 – 61, Pozo 6 – 53, Pozo 7 – 11. Para el gel de *ND4*: Pozo 1 – 154, Pozo 2- 151, Pozo 3-128, Pozo 4-127, Pozo 5 – 113, Pozo 6 – 100, Pozo 7 – 99, Pozo 8 – 95, - Pozo 9 – 83, Pozo 10– 70, - Pozo 11 – 67, Pozo 12 – 61, Pozo 13 – 53, Pozo 14 – 46, Pozo 15 – 38, Pozo 16 – 11.

## 2. PCR de *CYT b* y *ND4* de *T. dimidiata*



Electroforesis en geles de agarosa 1.5%. En ambos geles: Pozo 1 – 154, Pozo 2- 151, Pozo 3-128, Pozo 4-127, Pozo 5 – 113, Pozo 6 – 100, Pozo 7 – 99, Pozo 8 – 95, - Pozo 9 – 83, Pozo 10– 70, - Pozo 11 – 67, Pozo 12 – 61, Pozo 13 – 53, Pozo 14 – 46, Pozo 15 – 38, Pozo 16 – 11.

### C. Polimorfismos encontrados en las secuencias

#### 1. Genes de Maxicírculo

Gen	COII		Murf1			9S	12S	ND5			CYTb						ND4		
ID	639	762	1382	1510	1528	1633	1993	2123	2520	2688	2858	3262	3283	3310	3325	3350	3365	3521	3713
154_TC	T	C	A	C	A	T	A	A	G	C	-	A	T	T	T	T	G	A	G
151_TC	T	C	A	T	A	T	A	A	G	C	-	A	T	T	T	T	G	A	G
128_TC	T	T	A	T	A	T	A	G	A	C	-	A	T	T	T	T	G	A	G
127_TC	T	C	A	T	A	T	A	A	G	C	-	A	T	T	T	T	G	A	G
113_TC	T	T	G	T	A	T	A	G	G	C	-	A	T	T	T	T	G	A	G
100_TC	T	C	A	T	A	T	A	A	G	C	-	A	T	T	T	T	G	A	G
99_TC	T	T	A	T	G	T	A	A	G	C	A	A	C	C	T	T	C	G	A
83_TC	T	C	A	T	A	T	A	A	G	C	-	A	T	T	T	T	G	A	G
70_TC	T	T	A	T	G	T	A	A	G	C	A	A	T	T	T	T	G	A	G
67_TC	C	T	A	T	A	A	G	G	G	T	-	A	T	T	T	T	G	G	A
61_TC	T	C	A	T	A	T	A	A	G	C	-	A	T	T	T	T	G	A	G
53_TC	T	C	A	T	A	T	A	A	G	C	-	A	T	T	T	T	G	A	G
46_TC	T	T	G	T	A	T	A	G	G	C	-	A	T	T	T	T	G	A	G
38_TC	T	T	A	T	G	T	A	A	G	C	A	A	T	T	T	T	G	A	G
11_TC	T	C	A	T	A	T	A	A	G	C	-	C	T	T	C	C	G	A	G

## 2. *CYT b* y *ND4* de *T. dimidiata*

ID	14	20	28	29	38	44	45	53	71	89	92	98	116	119	134	137	155	173	188	194	206	218	233	242	248	255	257	260	266	268
154_TD	A	G	T	G	G	A	C	G	G	T	T	A	G	A	G	T	G	A	T	G	A	A	G	T	T	A	G	A	A	G
151_TD	A	G	T	G	A	A	C	G	G	T	T	A	G	A	A	T	G	A	T	G	G	A	G	C	T	A	G	A	A	G
128_TD	A	T	T	G	A	A	C	G	A	T	T	A	G	A	G	T	G	A	T	G	G	A	G	C	T	A	G	A	A	G
127_TD	A	G	T	G	G	A	C	G	A	T	T	A	G	A	G	T	G	A	T	G	G	A	G	C	T	A	G	A	A	G
113_TD	G	G	T	G	A	A	C	A	G	G	C	G	A	A	A	T	A	A	T	G	A	G	A	T	G	G	G	G	T	G
100_TD	G	G	T	G	A	A	C	A	G	G	C	G	A	A	A	T	A	A	C	G	A	G	A	T	G	A	G	G	T	G
99_TD	G	G	T	G	A	A	C	A	G	G	C	G	A	A	A	T	A	A	C	G	A	G	A	T	G	A	G	G	T	G
83_TD	G	G	T	G	G	A	C	A	G	G	C	G	A	A	A	T	A	A	C	G	A	G	A	T	G	A	A	G	T	G
70_TD	G	G	T	G	A	A	C	A	G	G	C	G	A	A	A	T	G	A	C	G	A	G	A	T	G	A	A	G	T	G
67_TD	G	G	T	G	A	A	C	A	G	G	C	G	A	A	A	T	A	G	C	G	A	G	A	T	G	A	G	G	T	G
61_TD	G	G	T	G	A	A	C	A	G	G	C	G	A	A	A	T	A	A	C	G	A	G	A	T	G	A	G	G	T	G
53_TD	A	G	A	A	A	G	T	A	G	A	T	A	A	G	G	C	G	A	T	A	A	G	G	T	T	G	A	G	T	G
46_TD	A	G	A	A	A	G	T	A	G	A	T	A	A	G	G	C	G	A	T	A	A	G	G	T	T	G	A	G	T	G
38_TD	G	G	T	G	G	A	C	A	G	G	C	G	A	A	A	T	A	A	T	G	A	G	A	T	G	A	G	G	T	A
11_TD	A	G	T	G	A	A	C	G	G	T	T	A	G	A	G	T	G	A	T	G	G	A	G	C	T	A	G	A	A	G
ID	269	275	290	293	302	311	326	344	353	398	401	413	419	422	425	434	437	440	458	467	470	476	503	508	515	521	527	529	533	
154_TD	A	G	G	T	A	G	G	T	A	C	A	G	C	G	G	A	A	A	G	A	A	C	T	G	G	A	T	G	G	
151_TD	A	G	G	T	G	A	G	C	A	C	A	G	C	G	G	A	A	A	G	G	A	C	T	G	G	A	T	G	G	
128_TD	A	G	G	T	G	A	G	C	A	C	A	G	C	G	G	A	A	A	G	A	A	C	T	G	G	A	T	G	G	
127_TD	A	G	G	T	G	A	G	C	A	C	A	G	C	G	G	A	A	A	G	A	A	C	T	G	G	A	T	G	G	
113_TD	G	G	G	C	G	A	A	C	A	C	A	A	C	G	A	G	A	A	A	A	G	T	T	A	G	G	T	G	G	
100_TD	G	G	G	C	G	A	G	C	A	C	G	A	C	G	A	G	A	A	A	A	A	C	T	A	G	G	T	G	G	
99_TD	G	G	G	C	G	A	G	C	A	C	G	A	C	G	A	G	A	A	A	A	A	C	T	A	G	G	T	G	G	
83_TD	G	G	G	C	G	A	G	C	A	C	G	A	C	G	A	G	A	A	A	A	A	C	T	A	G	G	T	G	G	
70_TD	G	G	G	T	A	A	G	C	A	C	G	A	C	G	A	G	A	A	A	A	A	T	C	A	G	G	T	G	T	
67_TD	G	A	G	C	G	A	G	C	A	C	G	A	C	G	A	G	A	A	A	A	A	C	T	A	G	G	C	G	G	
61_TD	G	G	G	T	G	A	G	C	A	C	A	A	C	G	A	G	A	A	A	A	G	C	T	A	G	G	T	G	G	
53_TD	A	G	G	T	G	A	G	T	A	C	A	A	C	A	A	G	G	G	G	A	A	C	T	G	A	G	T	A	G	
46_TD	A	G	G	T	G	A	G	T	A	C	A	A	C	A	A	G	G	G	G	A	A	C	T	G	A	G	T	A	G	
38_TD	G	G	G	C	G	A	A	T	A	C	G	A	T	G	A	G	A	A	A	A	A	T	T	A	G	G	T	G	G	
11_TD	A	G	A	T	G	A	G	C	G	T	A	G	C	G	G	A	A	A	G	G	A	C	T	G	G	A	T	G	G	

ID	539	545	557	599	602	617	642	663	693	708	710	762	783	788	810	822	837	838	885	903	909	939	948	954	960	972	1014	1020	1023	1026
154_TD	A	A	G	T	T	A	G	T	A	G	C	G	T	T	C	A	A	A	G	T	A	T	G	A	T	A	T	G	C	A
151_TD	A	A	G	T	T	A	G	T	A	G	T	G	C	T	C	A	A	A	G	T	A	T	G	A	T	A	C	G	C	A
128_TD	A	A	G	T	T	A	G	T	A	G	C	G	C	T	C	A	A	A	G	T	A	T	G	A	T	A	T	G	C	A
127_TD	A	A	G	T	T	A	G	T	A	G	C	G	C	T	C	A	A	A	G	T	A	T	G	A	T	A	T	G	C	A
113_TD	A	A	G	C	C	G	A	C	G	G	T	G	T	T	T	G	G	G	G	T	G	C	A	G	T	G	T	G	T	G
100_TD	A	A	G	T	C	G	G	C	G	G	C	G	T	T	T	G	G	G	G	C	G	C	A	A	C	G	T	G	T	G
99_TD	A	A	G	T	C	G	G	C	G	G	C	G	T	T	T	G	G	G	G	C	G	C	A	A	C	G	T	G	T	G
83_TD	A	A	G	T	C	G	G	T	A	G	C	G	C	T	C	A	A	A	G	T	A	T	G	A	T	A	T	A	C	A
70_TD	A	A	G	T	C	G	A	C	G	G	C	G	T	C	T	G	G	G	G	C	G	T	G	A	T	G	T	G	T	G
67_TD	A	A	G	T	T	G	A	C	G	G	C	G	C	T	T	G	G	G	G	C	G	C	A	A	C	G	C	G	T	G
61_TD	A	G	G	T	C	G	A	C	G	G	C	G	C	T	T	G	G	G	G	C	G	C	A	A	C	G	T	G	T	G
53_TD	T	A	A	T	T	A	G	T	G	A	T	A	T	T	C	G	G	A	A	C	G	T	G	A	T	A	C	A	T	A
46_TD	T	A	A	T	T	A	G	T	G	A	T	A	T	T	C	G	G	A	A	C	G	T	G	A	T	A	C	A	T	A
38_TD	A	A	G	C	C	G	A	T	G	G	C	G	C	T	T	G	G	G	G	C	G	C	G	A	T	G	C	G	T	G
11_TD	A	A	G	T	T	A	G	T	A	G	C	G	T	T	C	A	A	A	G	T	A	T	G	A	T	A	T	A	C	A

ID	1042	1056	1065	1077	1108	1119	1122	1142	1155	1181	1185
154_TD	T	C	G	A	C	A	G	C	T	-	T
151_TD	T	C	A	A	T	G	G	C	T	T	T
128_TD	T	C	A	A	T	A	G	C	T	T	T
127_TD	T	C	A	A	T	A	G	C	T	T	T
113_TD	T	T	G	G	C	A	A	C	T	-	T
100_TD	T	T	G	A	C	A	A	C	C	T	T
99_TD	T	T	G	A	C	A	A	C	T	-	T
83_TD	T	C	A	A	C	A	G	C	T	T	T
70_TD	T	T	G	A	C	A	A	C	T	-	T
67_TD	T	T	G	A	C	A	A	C	T	T	T
61_TD	C	T	G	A	C	A	A	C	T	T	T
53_TD	T	C	A	G	T	A	A	T	T	T	C
46_TD	T	C	A	G	T	A	A	T	T	T	C
38_TD	T	T	G	A	C	A	A	C	T	T	T
11_TD	T	C	A	A	C	A	G	C	T	T	T

## D. Secuencias de Consenso

### 1. Genes de Maxicírculo

>ND1\_154\_TC

TCGAAAAAATAATGTACGCATAGTTGCTAAATAAACAAAACAACCTAGAAA  
ATAAAAAGCATCCAACCTAAAAAACACTAAACACATTACACACTAAGTGTAT  
ACTTAATAAAAACAAGATGGAAAAGCTTTTATCAAAAAGAATAATAATCCT  
AAAGGTAGGAAGAATCATGGAAAAAATATGCAGAATAACGTTATTAATAATC  
CGAAAAGAAAGTAAATACCATCAAAACCAATTATAAATAAAGTAAATTTAAC  
AAAAAGTTTAATGCCATCTGTAATAGGTGTCAATATCCCAAATAAAAAAGA  
GCTGGCCCAACTCTAAGTTGTACAATAGCCAAAACCTTTCCTTTCACAAAGGCT  
AACAA

>ND1\_151\_TC

tcgaaaaaataatgtacgcatagttgctaataaacaacaactagaaaataaaaagcatccaactaaaaaacactaaacac  
attacacactaagtgataacttaataaaaacaagatggaaaagctttatcaaaaagaataataaatcctaaaggttaggaagaatca  
tggaaaaaatatgcagaataacgttattaataatccgaaaagaaagtaaataccatcaaaaccaattataaataaagtaaatttac  
aaaaagttaatgccatctgtaataggtgtcaatatcccaataaaaaaagagctggcccaactctaagttgtacaatagccaaaa  
ctttcctttcacaaggctaaca

>ND1\_128\_TC

tcgaaaaaataatgtacgcatagttgctaataaacaacaactagaaaataaaaagcatccaactaaaaaacactaaacac  
attacacactaagtgataacttaataaaaacaagatggaaaagctttatcaaaaagaataataaatcctaaaggttaggaagaatca  
tggaaaaaatatgcagaataacgttattaataatccgaaaagaaagtaaataccatcaaaaccaattataaataaagtaaatttac  
aaaaagttaatgccatctgtaataggtgtcaatatcccaataaaaaaagagctggcccaactctaagttgtacaatagccaaaa  
ctttcctttcacaaggctaaca

>ND1\_127\_TC

tcgaaaaaataatgtacgcatagttgctaataaacaacaactagaaaataaaaagcatccaactaaaaaacactaaacac  
attacacactaagtgataacttaataaaaacaagatggaaaagctttatcaaaaagaataataaatcctaaaggttaggaagaatca  
tggaaaaaatatgcagaataacgttattaataatccgaaaagaaagtaaataccatcaaaaccaattataaataaagtaaatttac  
aaaaagttaatgccatctgtaataggtgtcaatatcccaataaaaaaagagctggcccaactctaagttgtacaatagccaaaa  
ctttcctttcacaaggctaaca

>ND1\_113\_TC

TCGAAAAAATAATGTACGCATAGTTGCTAAATAAACAAAACAACCTAGAAA  
ATAAAAAGCATCCAACCTAAAAAACACTAAACACATTACACACTAAGTGTAT  
ACTTAATAAAAACAAGATGGAAAAGCTTTTATCAAAAAGAATAATAATCCT  
AAAGGTAGGAAGAATCATGGAAAAAATATGCAGAATAACGTTATTAATAATC  
CGAAAAGAAAGTAAATACCATCAAAACCAATTATAAATAAAGTAAATTTAAC

AAAAAGTTTAATGCCATCTGTAATAGGTGTCAATATCCCAAATAAAAAAAGA  
GCTGGCCCAACTCTAAGTTGTACAATAGCCAAAACCTTTCCTTTCACAAAGGCT  
AACAA

>ND1\_100\_TC

TCGAAAAAATAATGTACGCATAGTTGCTAAATAAACAAAACAACACTAGAAA  
ATAAAAAGCATCCAACCTAAAAAACACTAAACACATTACACACTAAGTGTAT  
ACTTAATAAAAACAAGATGGAAAAGCTTTTATCAAAAAGAATAATAAATCCT  
AAAGGTAGGAAGAATCATGGAAAAAATATGCAGAATAACGTTATTAATAATC  
CGAAAAGAAAGTAAATACCATCAAAACCAATTATAAATAAAGTAAATTTAAC  
AAAAAGTTTAATGCCATCTGTAATAGGTGTCAATATCCCAAATAAAAAAAGA  
GCTGGCCCAACTCTAAGTTGTACAATAGCCAAAACCTTTCCTTTCACAAAGGCT  
AACAA

>ND1\_99\_TC

tcgaaaaaataatgtacgcatagttgctaataaacaacaactagaaaataaaaagcatccaactaaaaaacactaaacac  
attacacactaagtgataacttaataaaaacaagatggaaaagctttatcaaaaagaataataatcctaaaggtaggaagaatca  
tggaaaaaatatgcagaataacgttattaataatccgaaaagaagtaataccatcaaaaccaattataaataaagtaaatttac  
aaaaagttaatgccatctgtaataggtgtcaatatcccaataaaaaaagagctggccaactctaagttgtacaatagccaaa  
ctttccttcacaaaggctaaca

>ND1\_95\_TC

TCGAAAAAATAATGTACGCATAGTTGCTAAATAAACAAAACAACACTAGAAA  
ATAAAAAGCATCCAACCTAAAAAACACTAAACACATTACACACTAAGTGTAT  
ACTTAATAAAAACAAGATGGAAAAGCTTTTATCAAAAAGAATAATAAATCCT  
AAAGGTAGGAAGAATCATGGAAAAAATATGCAGAATAACGTTATTAATAATC  
CGAAAAGAAAGTAAATACCATCAAAACCAATTATAAATAAAGTAAATTTAAC  
AAAAAGTTTAATGCCATCTGTAATAGGTGTCAATATCCCAAATAAAAAAAGA  
GCTGGCCCAACTCTAAGTTGTACAATAGCCAAAACCTTTCCTTTCACAAAGGCT  
AACAA

>ND1\_83\_TC

TCGAAAAAATAATGTACGCATAGTTGCTAAATAAACAAAACAACACTAGAAA  
ATAAAAAGCATCCAACCTAAAAAACACTAAACACATTACACACTAAGTGTAT  
ACTTAATAAAAACAAGATGGAAAAGCTTTTATCAAAAAGAATAATAAATCCT  
AAAGGTAGGAAGAATCATGGAAAAAATATGCAGAATAACGTTATTAATAATC  
CGAAAAGAAAGTAAATACCATCAAAACCAATTATAAATAAAGTAAATTTAAC  
AAAAAGTTTAATGCCATCTGTAATAGGTGTCAATATCCCAAATAAAAAAAGA  
GCTGGCCCAACTCTAAGTTGTACAATAGCCAAAACCTTTCCTTTCACAAAGGCT  
AACAA

>ND1\_70\_TC

TCGAAAAAATAATGTACGCATAGTTGCTAAATAAACAAAACAACCTAGAAA  
 AAAAAAGCATCCAACCTAAAAAACACTAAACACATTACACACTAAGTGTAT  
 ACTTAATAAAAACAAGATGGAAAAGCTTTTATCAAAAAGAATAATAAATCCT  
 AAAGGTAGGAAGAATCATGGAAAAAATATGCAGAATAACGTTATTAATAATC  
 CGAAAAGAAAGTAAATACCATCAAACCAATTATAAATAAAGTAAATTTAAC  
 AAAAAGTTTAATGCCATCTGTAATAGGTGTCAATATCCCAAATAAAAAAAGA  
 GCTGGCCCAACTCTAAGTTGTACAATAGCCAAAACCTTTCCTTTCACAAAGGCT  
 AACAA

>ND1\_67\_TC

TCGAAAAAATAATGTACGCATAGTTGCTAAATAAACAAAACAACCTAGAAA  
 AAAAAAGCATCCAACCTAAAAAACACTAAACACATTACACACTAAGTGTAT  
 ACTTAATAAAAACAAGATGGAAAAGCTTTTATCAAAAAGAATAATAAATCCT  
 AAAGGTAGGAAGAATCATGGAAAAAATATGCAGAATAACGTTATTAATAATC  
 CGAAAAGAAAGTAAATACCATCAAACCAATTATAAATAAAGTAAATTTAAC  
 AAAAAGTTTAATGCCATCTGTAATAGGTGTCAATATCCCAAATAAAAAAAGA  
 GCTGGCCCAACTCTAAGTTGTACAATAGCCAAAACCTTTCCTTTCACAAAGGCT  
 AACAA

>ND1\_61\_TC

tcgaaaaaataatgtacgcataagttgctaataaacaacaactagaaaataaaaagcatccaactaaaaaacactaaacac  
 attacacactaagtgataacttaataaaaacaagatggaaaagcttttatcaaaaagaataataaatcctaaaggtaggaagaatca  
 tggaaaaaatatgcagaataacgttattaataatccgaaaagaaagtaataacatcaaaaccaattataaataaagtaaatttac  
 aaaaagtttaatgccatctgtaataggtgtcaatatccaaataaaaaaagagctggcccaactctaagttgtacaatagccaaa  
 ctttctttcacaaggctaaca

>ND1\_53\_TC

TCGAAAAAATAATGTACGCATAGTTGCTAAATAAACAAAACAACCTAGAAA  
 AAAAAAGCATCCAACCTAAAAAACACTAAACACATTACACACTAAGTGTAT  
 ACTTAATAAAAACAAGATGGAAAAGCTTTTATCAAAAAGAATAATAAATCCT  
 AAAGGTAGGAAGAATCATGGAAAAAATATGCAGAATAACGTTATTAATAATC  
 CGAAAAGAAAGTAAATACCATCAAACCAATTATAAATAAAGTAAATTTAAC  
 AAAAAGTTTAATGCCATCTGTAATAGGTGTCAATATCCCAAATAAAAAAAGA  
 GCTGGCCCAACTCTAAGTTGTACAATAGCCAAAACCTTTCCTTTCACAAAGGCT  
 AACAA

>ND1\_46\_TC

TCGAAAAAATAATGTACGCATAGTTGCTAAATAAACAAAACAACCTAGAAA  
 AAAAAAGCATCCAACCTAAAAAACACTAAACACATTACACACTAAGTGTAT  
 ACTTAATAAAAACAAGATGGAAAAGCTTTTATCAAAAAGAATAATAAATCCT

AAAGGTAGGAAGAATCATGGAAAAAATATGCAGAATAACGTTATTAATAATC  
 CGAAAAGAAAGTAAATACCATCAAACCAATTATAAATAAAGTAAATTTAAC  
 AAAAAGTTTAATGCCATCTGTAATAGGTGTCAATATCCCAAATAAAAAAGA  
 GCTGGCCCAACTCTAAGTTGTACAATAGCCAAAACCTTTCCTTTCACAAAGGCT  
 ACAA

>ND1\_38\_TC

TCGAAAAAATAATGTACGCATAGTTGCTAAATAAACAAAACAACTAGAAA  
 AAAAAAGCATCCAATAAAAAACACTAAACACATTACACACTAAGTGTAT  
 ACTTAATAAAAAACAAGATGGAAAAGCTTTTATCAAAAAGAATAATAATCCT  
 AAAGGTAGGAAGAATCATGGAAAAAATATGCAGAATAACGTTATTAATAATC  
 CGAAAAGAAAGTAAATACCATCAAACCAATTATAAATAAAGTAAATTTAAC  
 AAAAAGTTTAATGCCATCTGTAATAGGTGTCAATATCCCAAATAAAAAAGA  
 GCTGGCCCAACTCTAAGTTGTACAATAGCCAAAACCTTTCCTTTCACAAAGGCT  
 ACAA

>ND1\_11\_TC

tcgaaaaaataatgtacgcataagttgctaataaacaacaactagaaaataaaaagcatccaactaaaaaacactaaacac  
 attacacactaagtgataacttaataaaaacaagatggaaaagctttatcaaaaagaataataaatcctaaaggtaggaagaatca  
 tggaaaaaatatgcagaataacgttattaataatccgaaaagaaagtaataaccatcaaaaccaattataataaagtaaattaac  
 aaaaagttaatgccatctgtaataggtgtcaatatcccaataaaaaaagagctggccaactctaagttgtacaatagccaaaa  
 ctttccttcacaaaggctaaca

>COII\_154\_TC

CTTTCTACAGTTTTATTTGTTACAAAGATAAATAATATATATTGTACATGAGA  
 TTTTATATCATCAAATTTGTGGATACTTATTGGTTTGTAATAGGAGTTATGTT  
 TATTATGTGTTTATTATTAAGACTATGTTTATTGCTATATTTTCGGTTGTTTAAA  
 TTTTGTAGTTTTGATTTATGTAAGGTTGTAGGATTTCAATGATATTGAGTATA  
 CTTTTTATTTGGAGAACTACAATATTCAGCAATTTAATACTTGAGAGTGATT  
 ATTTGGTAGGTGATATGCGTCTATTACAGTGCAACCATGTACTCACATTATTA  
 AGTTTAGTAATTTATAAATTGTGAGTATCAGCTGTAGATGTTATCCATTCAAT  
 TACTAGCTAGTTTAGGCATTAAGGTAGAGAACCGGGGAGGT

>COII\_151\_TC

ctttctacagtttattgttacaaagataaataatataatgtacatgagattttatcatcaaaattgtggatactattggtttgaat  
 aggagttatgttattatgtgttattattaagactatgttattgctatattcggttgttaaattttagttttagttatgtaagggttag  
 gatttcaatgatattgagatacttttatttgagaaactacaatattcagcaatttaacttgagagtgattttgtaggtgatag  
 cgtctattacagtgcaacatgtactcacatttaagtttagtaattataaattgtgagatcagctgtagatgtatccattcattac  
 actagctagtttaggcattaaggtagagaaccggggaggt

>COII\_128\_TC

ctttctacagttttattgttacaaagataaataatataatgtacatgagattttatatcatcaaaattgtggatacttattggttgtaat  
aggagttatgtttattatgtgtttattattaagactatgtttattgctatatttcgggtgttaaattttgttagtttgatttatgtaaggttgtag  
gatttcaatgatattgagtatactttttattggagaaactacaatattcagcaatttaataacttgagagtgattattggtaggtgatatg  
cgtctattacagtgcaaccatgtactcacattattaagtttagtaattataaattgtgagtatcagctgtagatgttatccattcatttac  
actagctagtttaggtattaaggtagagaaccggggaggt

>COII\_127\_TC

ctttctacagttttattgttacaaagataaataatataatgtacatgagattttatatcatcaaaattgtggatacttattggttgtaat  
aggagttatgtttattatgtgtttattattaagactatgtttattgctatatttcgggtgttaaattttgttagtttgatttatgtaaggttgtag  
gatttcaatgatattgagtatactttttattggagaaactacaatattcagcaatttaataacttgagagtgattattggtaggtgatatg  
cgtctattacagtgcaaccatgtactcacattattaagtttagtaattataaattgtgagtatcagctgtagatgttatccattcatttac  
actagctagtttaggcattaaggtagagaaccggggaggt

>COII\_113\_TC

CTTTCTACAGTTTTATTTGTTACAAAGATAAATAATATATATTGTACATGAGA  
TTTTATATCATCAAATTTGTGGATACTTATTGGTTTGTAATAGGAGTTATGTT  
TATTATGTGTTTATTATTAAGACTATGTTTATTGCTATATTTTCGGTTGTTTAAA  
TTTTGTTAGTTTTGATTTATGTAAGGTTGTAGGATTTCAATGATATTGAGTATA  
CTTTTTATTTGGAGAACTACAATATTCAGCAATTAATACTTGAGAGTGATT  
ATTTGGTAGGTGATATGCGTCTATTACAGTGCAACCATGTACTCACATTATTA  
AGTTTAGTAATTTATAAATTGTGAGTATCAGCTGTAGATGTTATCCATTCATT  
TACTAGCTAGTTTAGGTATTAAGGTAGAGAACCGGGGAGGT

>COII\_100\_TC

CTTTCTACAGTTTTATTTGTTACAAAGATAAATAATATATATTGTACATGAGA  
TTTTATATCATCAAATTTGTGGATACTTATTGGTTTGTAATAGGAGTTATGTT  
TATTATGTGTTTATTATTAAGACTATGTTTATTGCTATATTTTCGGTTGTTTAAA  
TTTTGTTAGTTTTGATTTATGTAAGGTTGTAGGATTTCAATGATATTGAGTATA  
CTTTTTATTTGGAGAACTACAATATTCAGCAATTAATACTTGAGAGTGATT  
ATTTGGTAGGTGATATGCGTCTATTACAGTGCAACCATGTACTCACATTATTA  
AGTTTAGTAATTTATAAATTGTGAGTATCAGCTGTAGATGTTATCCATTCATT  
TACTAGCTAGTTTAGGCATTAAGGTAGAGAACCGGGGAGGT

>COII\_99\_TC

CTTTCTACAGTTTTATTTGTTACAAAGATAAATAATATATATTGTACATGAGA  
TTTTATATCATCAAATTTGTGGATACTTATTGGTTTGTAATAGGAGTTATGTT  
TATTATGTGTTTATTATTAAGACTATGTTTATTGCTATATTTTCGGTTGTTTAAA  
TTTTGTTAGTTTTGATTTATGTAAGGTTGTAGGATTTCAATGATATTGAGTATA  
CTTTTTATTTGGAGAACTACAATATTCAGCAATTAATACTTGAGAGTGATT  
ATTTGGTAGGTGATATGCGTCTATTACAGTGCAACCATGTACTCACATTATTA

AGTTTAGTAATTTATAAATTGTGAGTATCAGCTGTAGATGTTATCCATTCATT  
TACTAGCTAGTTTAGGTATTAAGGTAGAGAACCGGGGAGGT

>COII\_95\_TC

CTTTCTACAGTTTTATTTGTTACAAAGATAAATAATATATATTGTACATGAGA  
TTTTATATCATCAAATTTGTGGATACTTATTGGTTTGTAATAGGAGTTATGTT  
TATTATGTGTTTATTATTAAGACTATGTTTATTGCTATATTTTCGGTTGTTTAAA  
TTTTGTTAGTTTTGATTTATGTAAGGTTGTAGGATTTCAATGATATTGAGTATA  
CTTTTTATTTGGAGAACTACAATATTCAGCAATTTAATACTTGAGAGTGATT  
ACTTGGTAGGTGATATGCGTCTATTACAGTGCAACCATGTACTCACATTATTA  
AGTTTAGTAATTTATAAATTGTGAGTATCAGCTGTAGATGTTATCCATTCATT  
TACTAGCTAGTTTAGGTATTAAGGTAGAGAACCGGGGAGGT

>COII\_83\_TC

CTTTCTACAGTTTTATTTGTTACAAAGATAAATAATATATATTGTACATGAGA  
TTTTATATCATCAAATTTGTGGATACTTATTGGTTTGTAATAGGAGTTATGTT  
TATTATGTGTTTATTATTAAGACTATGTTTATTGCTATATTTTCGGTTGTTTAAA  
TTTTGTTAGTTTTGATTTATGTAAGGTTGTAGGATTTCAATGATATTGAGTATA  
CTTTTTATTTGGAGAACTACAATATTCAGCAATTTAATACTTGAGAGTGATT  
ATTTGGTAGGTGATATGCGTCTATTACAGTGCAACCATGTACTCACATTATTA  
AGTTTAGTAATTTATAAATTGTGAGTATCAGCTGTAGATGTTATCCATTCATT  
TACTAGCTAGTTTAGGCATTAAGGTAGAGAACCGGGGAGGT

>COII\_70\_TC

CTTTCTACAGTTTTATTTGTTACAAAGATAAATAATATATATTGTACATGAGA  
TTTTATATCATCAAATTTGTGGATACTTATTGGTTTGTAATAGGAGTTATGTT  
TATTATGTGTTTATTATTAAGACTATGTTTATTGCTATATTTTCGGTTGTTTAAA  
TTTTGTTAGTTTTGATTTATGTAAGGTTGTAGGATTTCAATGATATTGAGTATA  
CTTTTTATTTGGAGAACTACAATATTCAGCAATTTAATACTTGAGAGTGATT  
ATTTGGTAGGTGATATGCGTCTATTACAGTGCAACCATGTACTCACATTATTA  
AGTTTAGTAATTTATAAATTGTGAGTATCAGCTGTAGATGTTATCCATTCATT  
TACTAGCTAGTTTAGGTATTAAGGTAGAGAACCGGGGAGGT

>COII\_67\_TC

CTTTCTACAGTTTTATTTGTTACAAAGATAAATAATATATATTGTACATGAGA  
TTTTATATCATCAAATTTGTGGATACTTATTGGTTTGTAATAGGAGTTATGTT  
TATTATGTGTTTATTATTAAGACTATGTTTATTGCTATATTTTCGGTTGTTTAAA  
TTTTGTTAGTTTTGATTTATGTAAGGTTGTAGGATTTCAATGATATTGAGTATA  
CTTTTTATTTGGAGAACTACAATATTCAGCAATTTAATACTTGAGAGTGATT  
ACTTGGTAGGTGATATGCGTCTATTACAGTGCAACCATGTACTCACATTATTA

AGTTTAGTAATTTATAAATTGTGAGTATCAGCTGTAGATGTTATCCATTCATT  
TACTAGCTAGTTTAGGTATTAAGGTAGAGAACCGGGGAGGT

>COII\_61\_TC

cttctacagttttattgttacaaagataaataatataattgtacatgagattttatatcatcaaaattgtggatactattggtttgaat  
aggagttatgtttattatgtgtttattattaagactatgtttattgctatatttcgggtgttaaattttgttagtttgatttatgtaaggttgtag  
gatttcaatgatattgagtatactttttatttggagaaactacaatattcagcaatthaataacttgagagtgatttttggtaggtgatag  
cgtctattacagtgcaacctgtactcacattattaagtttagtaattataaattgtgagatcagctgtagatgtatccattcatttac  
actagctagtttaggcattaaggttagagaaccggggaggt

>COII\_53\_TC

cttctacagttttattgttacaaagataaataatataattgtacatgagattttatatcatcaaaattgtggatactattggtttgaat  
aggagttatgtttattatgtgtttattattaagactatgtttattgctatatttcgggtgttaaattttgttagtttgatttatgtaaggttgtag  
gatttcaatgatattgagtatactttttatttggagaaactacaatattcagcaatthaataacttgagagtgatttttggtaggtgatag  
cgtctattacagtgcaacctgtactcacattattaagtttagtaattataaattgtgagatcagctgtagatgtatccattcatttac  
actagctagtttaggcattaaggttagagaaccggggaggt

>COII\_46\_TC

CTTTCTACAGTTTTATTTGTTACAAAGATAAATAATATATATTGTACATGAGA  
TTTTATATCATCAAATTTGTGGATACTTATTGGTTTGTAATAGGAGTTATGTT  
TATTATGTGTTTATTATTAAGACTATGTTTATTGCTATATTTTCGGTTGTTTAAA  
TTTTGTTAGTTTTGATTTATGTAAGGTTGTAGGATTTCAATGATATTGAGTATA  
CTTTTTATTTGGAGAACTACAATATTCAGCAATTAATACTTGAGAGTGATT  
ATTTGGTAGGTGATATGCGTCTATTACAGTGCAACCATGTACTCACATTATTA  
AGTTTAGTAATTTATAAATTGTGAGTATCAGCTGTAGATGTTATCCATTCATT  
TACTAGCTAGTTTAGGTATTAAGGTAGAGAACCGGGGAGGT

>COII\_38\_TC

CTTTCTACAGTTTTATTTGTTACAAAGATAAATAATATATATTGTACATGAGA  
TTTTATATCATCAAATTTGTGGATACTTATTGGTTTGTAATAGGAGTTATGTT  
TATTATGTGTTTATTATTAAGACTATGTTTATTGCTATATTTTCGGTTGTTTAAA  
TTTTGTTAGTTTTGATTTATGTAAGGTTGTAGGATTTCAATGATATTGAGTATA  
CTTTTTATTTGGAGAACTACAATATTCAGCAATTAATACTTGAGAGTGATT  
ATTTGGTAGGTGATATGCGTCTATTACAGTGCAACCATGTACTCACATTATTA  
AGTTTAGTAATTTATAAATTGTGAGTATCAGCTGTAGATGTTATCCATTCATT  
TACTAGCTAGTTTAGGTATTAAGGTAGAGAACCGGGGAGGT

>COII\_11\_TC

cttctacagttttattgttacaaagataaataatataattgtacatgagattttatatcatcaaaattgtggatactattggtttgaat  
aggagttatgtttattatgtgtttattattaagactatgtttattgctatatttcgggtgttaaattttgttagtttgatttatgtaaggttgtag  
gatttcaatgatattgagtatactttttatttggagaaactacaatattcagcaatthaataacttgagagtgatttttggtaggtgatag

cgctattacagtgaacacgtactcacattattaagtttagtaattataaattgtgagatcagctgtagatggtatccattcatttac  
actagctagtttaggcattaaggtagagaaccggggaggt

>MurflA\_154\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTAAAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
ATAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
GTATAAATAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
CAAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAACAAGTTTTATAAA  
TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTAATAAAAACAA  
AACAAAACATAGAAAGT

>MurflA\_151\_TC

actaagtataaaattataaaaaatgaaaaaagatgaaattcataagaaagtaatttcggtatatttaatatcaaaaatattgtaaatc  
aaaaaaagtaataaaaattaacaaaatgcatagacttatgctataaattaaatgaaaattgaggtataaataaaagatgtaattttt  
gtggagataaaaattagaaataaaaagcaaaaattattacactaagtaacaaagagtaaaactataattgcaaagctattcaatcca  
attataacgcaagtaacaggattgtaataaaacaagttttataatataatataagaaatagactaagcatattagtaaataaattaaat  
aaaacaaaacaaaacatagaaagt

>MurflA\_128\_TC

actaagtataaaattataaaaaatgaaaaaagatgaaattcataagaaagtaatttcggtatatttaatatcaaaaatattgtaaatc  
aaaaaaagtaataaaaattaacaaaatgcatagacttatgctataaattaaatgaaaattgaggtataaataaaagatgtaattttt  
gtggagataaaaattagaaataaaaagcaaaaattattacactaagtaacaaagagtaaaactataattgcaaagctattcaatcca  
attataacgcaagtaacaggattgtaataaaacaagttttataatataatataagaaatagactaagcatattagtaaataaattaaat  
aaaacaaaacaaaacatagaaagt

>MurflA\_127\_TC

actaagtataaaattataaaaaatgaaaaaagatgaaattcataagaaagtaatttcggtatatttaatatcaaaaatattgtaaatc  
aaaaaaagtaataaaaattaacaaaatgcatagacttatgctataaattaaatgaaaattgaggtataaataaaagatgtaattttt  
gtggagataaaaattagaaataaaaagcaaaaattattacactaagtaacaaagagtaaaactataattgcaaagctattcaatcca  
attataacgcaagtaacaggattgtaataaaacaagttttataatataatataagaaatagactaagcatattagtaaataaattaaat  
aaaacaaaacaaaacatagaaagt

>MurflA\_113\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTAAAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
ATAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
GTATAAATAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
CAAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAACAAGTTTTATAAA

TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTA AAAATAAAAACAA  
AACAAAACATAGAAAGT

>MurflA\_100\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTA AAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
ATAAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
GTATAAATAAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
CAAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAAACAAGTTTTATAAA  
TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTA AAAATAAAAACAA  
AACAAAACATAGAAAGT

>MurflA\_99\_TC

actaagtataaaattataaaaaatgaaaaaagatgaaattcataagaagtaatttcggtatatttaaatcaaaaatattgtaaatc  
aaaaaaagtaataaaaattaacaaaatgcatagacttatgctataaattaaatgaaaattgaggataaataaaagatgtaattttt  
gtggagataaaaattagaaataaaaagcaaaaattattacactaagtaacaaagagtaaaactataattgcaaagctattcaatcca  
attataacgcaagtagcaggattgtaataaacaagttttataatataatagaaatagactaagcatattagtaaaataaataaaat  
aaaacaaaacaaaacatagaaagt

>MurflA\_95\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTA AAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
ATAAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
GTATAAATAAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
CAAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAAACAAGTTTTATAAA  
TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTA AAAATAAAAACAA  
AACAAAACATAGAAAGT

>MurflA\_83\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTA AAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
ATAAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
GTATAAATAAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
CAAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAAACAAGTTTTATAAA  
TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTA AAAATAAAAACAA  
AACAAAACATAGAAAGT

>MurflA\_70\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTAAAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
 GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
 AAAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
 GTATAAATAAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
 CAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
 TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAACAAGTTTTATAAA  
 TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTA AAAATAAAAACAA  
 AACAAAACATAGAAAGT

>MurflA\_67\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTAAAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
 GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
 AAAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
 GTATAAATAAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
 CAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
 TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAACAAGTTTTATAAA  
 TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTA AAAATAAAAACAA  
 AACAAAACATAGAAAGT

>MurflA\_61\_TC

actaagtataaaattattaaaaaatgaaaaaagatgaaattcataagaagtaatttcggtatatttaatatcaaaaatattgtaaatc  
 aaaaaaagtaataaaaattaacaaaatgcatagacttatgctataaattaaatgaaaattgaggataaataaaagatgtaattttt  
 gtggagataaaaattagaaataaaaagcaaaaattattacactaagtaacaaagagtaaaactataaattgcaaagctattcaatcca  
 attataacgcaagtacaggattgtaataaaacaagttttataatataatagaaatagactaagcatattagtaaataaattaaat  
 aaaacaaaacaaaacatagaagt

>MurflA\_53\_TC

actaagtataaaattattaaaaaatgaaaaaagatgaaattcataagaagtaatttcggtatatttaatatcaaaaatattgtaaatc  
 aaaaaaagtaataaaaattaacaaaatgcatagacttatgctataaattaaatgaaaattgaggataaataaaagatgtaattttt  
 gtggagataaaaattagaaataaaaagcaaaaattattacactaagtaacaaagagtaaaactataaattgcaaagctattcaatcca  
 attataacgcaagtacaggattgtaataaaacaagttttataatataatagaaatagactaagcatattagtaaataaattaaat  
 aaaacaaaacaaaacatagaagt

>MurflA\_46\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTAAAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
 GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
 AAAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
 GTATAAATAAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
 CAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
 TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAACAAGTTTTATAAA

TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTA AAAATAAAAACAA  
AACAAAACATAGAAAGT

>MurflA\_38\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTA AAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
ATAAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
GTATAAATAAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
CAAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAAACAAGTTTTATAAA  
TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTA AAAATAAAAACAA  
AACAAAACATAGAAAGT

>MurflA\_11\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTA AAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
ATAAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
GTATAAATAAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
CAAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAAACAAGTTTTATAAA  
TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTA AAAATAAAAACAA  
AACAAAACATAGAAAGT

>MurflB\_154\_TC

CAAAAATTA AAAAACAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAAGTGCAGGAGTA  
AGAAGTAAAGCAATA AAAAATAATAGAATAAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
ATAATATCATAAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAGTA  
AGAAAAGTAGTAACTAAAAGTTCAAATAAAAATTGATATAAAAATTATATG  
TGTTACAAATA AAAAATAAATAAATAAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
AATAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAGAAACAA  
AAAAGAAATAAAAATTA AAAATATAAAGCATAACATATGAATCTAAAATAAT  
ACAATAAATCC

>MurflB\_151\_TC

caaaaataaaaaacaaaatcacataggaagaagcaaaagtcaggagtaagaagtaagcaataaaaaataatagaataaaa  
ttaattaagttaatcatataataatcataaaattaatatttatccaaagcgacttgataataaaagtaagaaaagtagtaaaactaa  
aaagttcaataaaattgatataaaaattatgtgttacaaataaaaaataataataataatgtattgaataataattatcataataa  
aaatcttgtgtcaaatgtaagaaaacaaaacataaaaagaacaaaaagaataaaaataaaaataaagcatatataatgaat  
ctaaaaataatacaataaatcc

>MurflB\_128\_TC

caaaaattaaaaacaaaaatcacataggaagaagcaaaagtcaggagtaagaagtaagcaataaaaaataatagaataaaa  
 ttaattaagttaatcatataataatcatataaaattaatattttatatccaaagcgacttgataataaaagtaagaaaagtagtaaaactaa  
 aaagttcaataaaaattgatataaaaatttatatgtgttacaataaaaaataataataataatgtattgaataataattatcataataa  
 aaatcttgtgtcaaatgtaagaaaacaaaacataaaaaagaacaaaaaagaataaaaattaaaaatataaagcatatatatgaat  
 ctaaaaataatacaataaatcc

>Murf1B\_127\_TC

caaaaattaaaaacaaaaatcacataggaagaagcaaaagtcaggagtaagaagtaagcaataaaaaataatagaataaaa  
 ttaattaagttaatcatataataatcatataaaattaatattttatatccaaagcgacttgataataaaagtaagaaaagtagtaaaactaa  
 aaagttcaataaaaattgatataaaaatttatatgtgttacaataaaaaataataataataatgtattgaataataattatcataataa  
 aaatcttgtgtcaaatgtaagaaaacaaaacataaaaaagaacaaaaaagaataaaaattaaaaatataaagcatatatatgaat  
 ctaaaaataatacaataaatcc

>Murf1B\_113\_TC

CAAAAATTAAAAAACAAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAAGTGCAGGAGTA  
 AGAAGTAAAGCAATAAAAAATAATAGAATAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
 ATAATATCATAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAAGTA  
 AGAAAAGTAGTAACTAAAAAGTTCAAATAAAATTGATATAAAAATTATATG  
 TGTTACGAATAAAAAATAATAATAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
 AATAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAAGAAACAA  
 AAAAGAAATAAAATTAATAATATAAAGCATATATATGAATCTAAAAATAATA  
 CAATAAATCC

>Murf1B\_100\_TC

CAAAAATTAAAAAACAAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAAGTGCAGGAGTA  
 AGAAGTAAAGCAATAAAAAATAATAGAATAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
 ATAATATCATAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAAGTA  
 AGAAAAGTAGTAACTAAAAAGTTCAAATAAAATTGATATAAAAATTATATG  
 TGTTACAAATAAAAAATAATAATAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
 AATAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAAGAAACAA  
 AAAAGAAATAAAATTAATAATATAAAGCATATATATGAATCTAAAAATAATA  
 CAATAAATCC

>Murf1B\_99\_TC

caaaaattaaaaacaaaaatcacataggaagaagcaaaagtcaggagtaagaagtaagcaataaaaaataatagaataaaa  
 ttaattaagttaatcatataataatcatataaaattaatattttatatccaaagcgacttgataataaaagtaagaaaagtagtaaaactaa  
 aaagttcaataaaaattgatataaaaatttatatgtgttacaataaaaaataataataataatgtattgaataataattatcataataa  
 aaatcttgtgtcaaatgtaagaaaacaaaacataaaaaagaacaaaaaagaataaaaattaaaaatataaagcatatatatgaat  
 ctaaaaatagtaataaatcc

>Murf1B\_95\_TC

CAAAAATTAAAAAACAAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAAAGTGCAGGAGTA  
 AGAAGTAAAGCAATAAAAAATAATAGAATAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
 ATAATATCATAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAAGTA  
 AGAAAAGTAGTAAACTAAAAAGTTCAAATAAAATTGATATAAAAATTATATG  
 TGTTACAAATAAAAAATAATAATAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
 AATAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAAGAAACAA  
 AAAAGAAATAAAATTAAAAAATATAAAGCATATATATGAATCTAAAAATAATA  
 CAATAAATCC

>MurflB\_83\_TC

CAAAAATTAAAAAACAAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAAAGTGCAGGAGTA  
 AGAAGTAAAGCAATAAAAAATAATAGAATAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
 ATAATATCATAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAAGTA  
 AGAAAAGTAGTAAACTAAAAAGTTCAAATAAAATTGATATAAAAATTATATG  
 TGTTACAAATAAAAAATAATAATAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
 AATAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAAGAAACAA  
 AAAAGAAATAAAATTAAAAAATATAAAGCATATATATGAATCTAAAAATAATA  
 CAATAAATCC

>MurflB\_70\_TC

CAAAAATTAAAAAACAAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAAAGTGCAGGAGTA  
 AGAAGTAAAGCAATAAAAAATAATAGAATAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
 ATAATATCATAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAAGTA  
 AGAAAAGTAGTAAACTAAAAAGTTCAAATAAAATTGATATAAAAATTATATG  
 TGTTACAAATAAAAAATAATAATAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
 AATAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAAGAAACAA  
 AAAAGAAATAAAATTAAAAAATATAAAGCATATATATGAATCTAAAAATAGTA  
 CAATAAATCC

>MurflB\_67\_TC

CAAAAATTAAAAAACAAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAAAGTGCAGGAGTA  
 AGAAGTAAAGCAATAAAAAATAATAGAATAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
 ATAATATCATAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAAGTA  
 AGAAAAGTAGTAAACTAAAAAGTTCAAATAAAATTGATATAAAAATTATATG  
 TGTTACAAATAAAAAATAATAATAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
 AATAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAAGAAACAA  
 AAAAGAAATAAAATTAAAAAATATAAAGCATATATATGAATCTAAAAATAATA  
 CAATAAATCC

>MurflB\_61\_TC

caaaaattaaaaacaaaaatcacataggaagaagcaaaagtcaggagtaagaagtaagcaataaaaaataatagaataaaa  
 ttaattaagttaatcatataataatcatataaaattaatattttatatccaaagcgacttgataataaaagtaagaaaagtagtaaaactaa  
 aaagttcaataaaaattgatataaaaatttatatgtgttacaataaaaaataataataataatgtattgaataataattatcataataa  
 aaatcttgtgtcaaatgtaagaaaacaaaacataaaaaagaacaaaaaagaataaaaattaaaaatataaagcatatatatgaat  
 ctaaaaataatacaataaatcc

>Murf1B\_53\_TC

caaaaattaaaaacaaaaatcacataggaagaagcaaaagtcaggagtaagaagtaagcaataaaaaataatagaataaaa  
 ttaattaagttaatcatataataatcatataaaattaatattttatatccaaagcgacttgataataaaagtaagaaaagtagtaaaactaa  
 aaagttcaataaaaattgatataaaaatttatatgtgttacaataaaaaataataataataatgtattgaataataattatcataataa  
 aaatcttgtgtcaaatgtaagaaaacaaaacataaaaaagaacaaaaaagaataaaaattaaaaatataaagcatatatatgaat  
 ctaaaaataatacaataaatcc

>Murf1B\_46\_TC

CAAAAATTAAAAAACAAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAAGTGCAGGAGTA  
 AGAAGTAAAGCAATAAAAAATAATAGAATAAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
 ATAATATCATAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAAGTA  
 AGAAAAGTAGTAAACTAAAAAGTTCAAATAAAATTGATATAAAAATTATATG  
 TGTTACGAATAAAAAATAATATAATAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
 AATAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAAGAAACAA  
 AAAAGAAATAAAATTAATAATATAAAGCATATATGAATCTAAAAATAATA  
 CAATAAATCC

>Murf1B\_38\_TC

CAAAAATTAAAAAACAAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAAGTGCAGGAGTA  
 AGAAGTAAAGCAATAAAAAATAATAGAATAAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
 ATAATATCATAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAAGTA  
 AGAAAAGTAGTAAACTAAAAAGTTCAAATAAAATTGATATAAAAATTATATG  
 TGTTACAAATAAAAAATAATATAATAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
 AATAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAAGAAACAA  
 AAAAGAAATAAAATTAATAATATAAAGCATATATGAATCTAAAAATAGTA  
 CAATAAATCC

>Murf1B\_11\_TC

caaaaattaaaaacaaaaatcacataggaagaagcaaaagtcaggagtaagaagtaagcaataaaaaataatagaataaaa  
 ttaattaagttaatcatataataatcatataaaattaatattttatatccaaagcgacttgataataaaagtaagaaaagtagtaaaactaa  
 aaagttcaataaaaattgatataaaaatttatatgtgttacaataaaaaataataataataatgtattgaataataattatcataataa  
 aaatcttgtgtcaaatgtaagaaaacaaaacataaaaaagaacaaaaaagaataaaaattaaaaatataaagcatatatatgaat  
 ctaaaaataatacaataaatcc

>Murf1A\_154\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTAAAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
 GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
 AAAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
 GTATAAATAAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
 CAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
 TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAACAAGTTTTATAAA  
 TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTAATAAAAACAA  
 AACAAAACATAGAAAGT

>Murf1A\_151\_TC

actaagtataaaattattaaatgaaaaaagatgaaattcataagaagtaatttcggttatattaatcaaaaatattgtaaatc  
 aaaaaaagtaataaaattaacaaaatgcatagacttatgctataaattaaatgaaaatgaggataaataaaagatgtaattttt  
 gtggagataaaaattagaataaaaagcaaaaattttactaactaagtaacaaagagtaaaactataaattgcaaagctattcaatcca  
 attataacgcaagtacaggattgtaataaaacaagttttataatataatagaaatagactaagcatattagtaaataaattaaat  
 aaacaaaacaaaacatagaaagt

>Murf1A\_128\_TC

actaagtataaaattattaaatgaaaaaagatgaaattcataagaagtaatttcggttatattaatcaaaaatattgtaaatc  
 aaaaaaagtaataaaattaacaaaatgcatagacttatgctataaattaaatgaaaatgaggataaataaaagatgtaattttt  
 gtggagataaaaattagaataaaaagcaaaaattttactaactaagtaacaaagagtaaaactataaattgcaaagctattcaatcca  
 attataacgcaagtacaggattgtaataaaacaagttttataatataatagaaatagactaagcatattagtaaataaattaaat  
 aaacaaaacaaaacatagaaagt

>Murf1A\_127\_TC

actaagtataaaattattaaatgaaaaaagatgaaattcataagaagtaatttcggttatattaatcaaaaatattgtaaatc  
 aaaaaaagtaataaaattaacaaaatgcatagacttatgctataaattaaatgaaaatgaggataaataaaagatgtaattttt  
 gtggagataaaaattagaataaaaagcaaaaattttactaactaagtaacaaagagtaaaactataaattgcaaagctattcaatcca  
 attataacgcaagtacaggattgtaataaaacaagttttataatataatagaaatagactaagcatattagtaaataaattaaat  
 aaacaaaacaaaacatagaaagt

>Murf1A\_113\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTAAAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
 GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
 AAAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
 GTATAAATAAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
 CAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
 TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAACAAGTTTTATAAA  
 TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTAATAAAAACAA  
 AACAAAACATAGAAAGT

>Murf1A\_100\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTAAAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
 GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
 ATAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
 GTATAAATAAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
 CAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
 TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAACAAGTTTTATAAA  
 TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTAATAAAAACAA  
 AACAAAACATAGAAAGT

>MurflA\_99\_TC

actaagtataaaattattaaatgaaaaaagatgaaattcataagaagtaatttcggtatatttaaatcaaaaatattgtaaatc  
 aaaaaaagtaataaaattaacaaatgcatagacttatgctataaattaatgaaaattgaggataaataaagatgtaattttt  
 gtggagataaaaattagaataaaaagcaaaaattttactaagtaacaaagagtaaaactataattgcaaagctattcaatcca  
 attataacgcaagtacaggattgtaataaacaagttttataatataatagaaatagactaagcatattagtaaataattaaat  
 aaacaaaacaaacatagaagt

>MurflA\_95\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTAAAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
 GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
 ATAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
 GTATAAATAAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
 CAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
 TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAACAAGTTTTATAAA  
 TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTAATAAAAACAA  
 AACAAAACATAGAAAGT

>MurflA\_83\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTAAAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
 GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
 ATAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
 GTATAAATAAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
 CAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
 TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAACAAGTTTTATAAA  
 TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTAATAAAAACAA  
 AACAAAACATAGAAAGT

>MurflA\_70\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTAAAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
 GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
 ATAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
 GTATAAATAAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG

CAAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
 TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAACAAGTTTTATAAA  
 TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTTAAAATAAAACAA  
 AACAAAACATAGAAAAGT

>MurflA\_67\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTTAAAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
 GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
 ATAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
 GTATAAATAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
 CAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
 TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAACAAGTTTTATAAA  
 TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTTAAAATAAAACAA  
 AACAAAACATAGAAAAGT

>MurflA\_61\_TC

actaagtataaaattattaaatgaaaaaagatgaaattcataagaaagtaatttcggtatattaatcaaaaatattgtaaatc  
 aaaaaaagtaataaaatgaaaaatgcatagacttatgctataaattaaatgaaaattgaggataaataaaagatgtaattttt  
 gtggagataaaaattagaaataaaaagcaaaaattattacactaagtaacaagagtaaaactataattgcaaagctattcaatcca  
 attataacgcaagtagcaggattgtaataaaacaagttttataatataatagaaatagactaagcatattagtaaaataattaaat  
 aaacaaaacaaaacatagaaaagt

>MurflA\_53\_TC

actaagtataaaattattaaatgaaaaaagatgaaattcataagaaagtaatttcggtatattaatcaaaaatattgtaaatc  
 aaaaaaagtaataaaatgaaaaatgcatagacttatgctataaattaaatgaaaattgaggataaataaaagatgtaattttt  
 gtggagataaaaattagaaataaaaagcaaaaattattacactaagtaacaagagtaaaactataattgcaaagctattcaatcca  
 attataacgcaagtagcaggattgtaataaaacaagttttataatataatagaaatagactaagcatattagtaaaataattaaat  
 aaacaaaacaaaacatagaaaagt

>MurflA\_46\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTTAAAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
 GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT  
 ATAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
 GTATAAATAAAAGATGTAATTTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
 CAAAATTATTTACACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
 TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAACAAGTTTTATAAA  
 TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTTAAAATAAAACAA  
 AACAAAACATAGAAAAGT

>MurflA\_38\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTTAAAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
 GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAAATCAAAAAAAGTAAT

ATAAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
 GTATAAATAAAAGATGTAATTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
 CAAAATTATTTACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
 TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAACAAGTTTTATAAA  
 TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTAATAAAAACAA  
 AACAAAACATAGAAAGT

>Murf1A\_11\_TC

ACTAAGTATAAAAATTATTAAAAAATGAAAAAAGATGAAATTCATAAGAAA  
 GTAATTTTCGTTATATTTAATATCAAAAATATTGTAATCAAAAAAAGTAAT  
 AATAAATTAACAAAATGCATAGACTTATGCTATAAATTAATGAAAATTGAG  
 GTATAAATAAAAGATGTAATTTTTGTGGAGATAAAAATTAGAAATAAAAAG  
 CAAAATTATTTACTAAGTACAAAGAGTAACTTATAATTGCAAAGCTAT  
 TCAATCCAATTATAACGCAAGTACAGGATTGTAATAAAACAAGTTTTATAAA  
 TATAATATAGAAATAGACTAAGCATATTAGTAAAATAATTAATAAAAACAA  
 AACAAAACATAGAAAGT

>Murf1B\_154\_TC

CAAAAATTAAAAAACAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAGTGCAGGAGTA  
 AGAAGTAAAGCAATAAAAAATAATAGAATAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
 ATAATATCATAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAAGTA  
 AGAAAAGTAGTAACTAAAAAGTTCAAATAAAATTGATATAAAAATTATATG  
 TGTTACAAATAAAAAATAATAATAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
 AATAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAAGAAACAA  
 AAAAGAAATAAAATTAAAAATATAAAGCATAACATATGAATCTAAAAATAAT  
 ACAATAAATCC

>Murf1B\_151\_TC

caaaaataaaaaacaaaatcacataggaagaagcaaaagtcaggagtaagaagtaagcaataaaaaataagaataaaa  
 ttaattaagttaatcatataataatcataaaattaatatttatatccaaagcgacttgataataaaagtaagaaaagtagtaaaactaa  
 aaagttcaataaaaattgatataaaaatttatatgtgttacaataaaaaataataataataatgtattgaataataattatcataaataa  
 aatcttgtgtcaaatgaagaaaacaaaacataaaaaagaacaaaaagaataaaatataaaataaagcatatatatgaat  
 ctaaaaataatacaataaatcc

>Murf1B\_128\_TC

caaaaataaaaaacaaaatcacataggaagaagcaaaagtcaggagtaagaagtaagcaataaaaaataagaataaaa  
 ttaattaagttaatcatataataatcataaaattaatatttatatccaaagcgacttgataataaaagtaagaaaagtagtaaaactaa  
 aaagttcaataaaaattgatataaaaatttatatgtgttacaataaaaaataataataataatgtattgaataataattatcataaataa  
 aatcttgtgtcaaatgaagaaaacaaaacataaaaaagaacaaaaagaataaaatataaaataaagcatatatatgaat  
 ctaaaaataatacaataaatcc

>Murf1B\_127\_TC

caaaaattaaaaacaaaatcacataggaagaagcaaaagtgcaggagtaagaagtaagcaataaaaaataatagaataaaa  
 ttaattaagttaatcatataataatcataaaattaatatttatatccaaagcgacttgataataaaagtaagaaaagtagtaaactaa  
 aaagttcaataaaaattgatataaaaatttatatgtgttacaaataaaaaataataataataatgtattgaataataattatcataataa  
 aatcttgtgtcaaatgaagaaaacaaaacataaaaaagaacaaaaagaataaaaattaaaaatataaagcatatatatgaat  
 ctaaaaataatacaataaatcc

>Murf1B\_113\_TC

CAAAAATTAAAAAACAAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAAGTGCAGGAGTA  
 AGAAGTAAAGCAATAAAAAATAATAGAATAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
 ATAATATCATAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAAGTA  
 AGAAAAGTAGTAAACTAAAAAGTTCAAATAAAATTGATATAAAAATTATATG  
 TGTTACGAATAAAAAATAATATAATAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
 AATAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAAGAAACAA  
 AAAAGAAATAAAATTAATAATATAAAGCATATATATGAATCTAAAAATAATA  
 CAATAAATCC

>Murf1B\_100\_TC

CAAAAATTAAAAAACAAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAAGTGCAGGAGTA  
 AGAAGTAAAGCAATAAAAAATAATAGAATAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
 ATAATATCATAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAAGTA  
 AGAAAAGTAGTAAACTAAAAAGTTCAAATAAAATTGATATAAAAATTATATG  
 TGTTACAAATAAAAAATAATATAATAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
 AATAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAAGAAACAA  
 AAAAGAAATAAAATTAATAATATAAAGCATATATATGAATCTAAAAATAATA  
 CAATAAATCC

>Murf1B\_99\_TC

caaaaattaaaaacaaaatcacataggaagaagcaaaagtgcaggagtaagaagtaagcaataaaaaataatagaataaaa  
 ttaattaagttaatcatataataatcataaaattaatatttatatccaaagcgacttgataataaaagtaagaaaagtagtaaactaa  
 aaagttcaataaaaattgatataaaaatttatatgtgttacaaataaaaaataataataataatgtattgaataataattatcataataa  
 aatcttgtgtcaaatgaagaaaacaaaacataaaaaagaacaaaaagaataaaaattaaaaatataaagcatatatatgaat  
 ctaaaaatagtaataaatcc

>Murf1B\_95\_TC

CAAAAATTAAAAAACAAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAAGTGCAGGAGTA  
 AGAAGTAAAGCAATAAAAAATAATAGAATAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
 ATAATATCATAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAAGTA  
 AGAAAAGTAGTAAACTAAAAAGTTCAAATAAAATTGATATAAAAATTATATG  
 TGTTACAAATAAAAAATAATATAATAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
 AATAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAAGAAACAA

AAAAGAAATAAAATTTAAAAATATAAAGCATATATATGAATCTAAAAATAATA  
CAATAAATCC

>MurflB\_83\_TC

CAAAAATTTAAAAAACAAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAAGTGCAGGAGTA  
AGAAGTAAAGCAATAAAAAATAATAGAATAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
ATAATATCATAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAAGTA  
AGAAAAGTAGTAAACTAAAAAGTTCAAATAAAATTGATATAAAAAATTATATG  
TGTTACAAATAAAAAATAATATAATAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
AATAAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAAGAAACAA  
AAAAGAAATAAAATTTAAAAATATAAAGCATATATATGAATCTAAAAATAATA  
CAATAAATCC

>MurflB\_70\_TC

CAAAAATTTAAAAAACAAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAAGTGCAGGAGTA  
AGAAGTAAAGCAATAAAAAATAATAGAATAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
ATAATATCATAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAAGTA  
AGAAAAGTAGTAAACTAAAAAGTTCAAATAAAATTGATATAAAAAATTATATG  
TGTTACAAATAAAAAATAATATAATAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
AATAAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAAGAAACAA  
AAAAGAAATAAAATTTAAAAATATAAAGCATATATATGAATCTAAAAATAGTA  
CAATAAATCC

>MurflB\_67\_TC

CAAAAATTTAAAAAACAAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAAGTGCAGGAGTA  
AGAAGTAAAGCAATAAAAAATAATAGAATAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
ATAATATCATAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAAGTA  
AGAAAAGTAGTAAACTAAAAAGTTCAAATAAAATTGATATAAAAAATTATATG  
TGTTACAAATAAAAAATAATATAATAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
AATAAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAAGAAACAA  
AAAAGAAATAAAATTTAAAAATATAAAGCATATATATGAATCTAAAAATAATA  
CAATAAATCC

>MurflB\_61\_TC

caaaaattaaaaacaaaaatcacataggaagaagcaaaagtcaggagtaagaagtaagcaataaaaaataatagaataaaa  
ttaattaagttaatcatataataatcataaaattaattttatatccaaagcgacttgataataaaagtaagaaaagtagtaaaactaa  
aaagttcaataaaattgatataaaaattatgtgttacaataaaaaataataataataatgtattgaataataattatcataataa  
aaatcttgtgtcaaatgtaagaaaacaaaacataaaaagaacaaaaagaataaaaattaaaaatataaagcatatataatgaat  
ctaaaaataatacaataaatcc

>MurflB\_53\_TC

caaaaataaaaaacaaaaatcacataggaagaagcaaaagtgcaggagtaagaagtaagcaataaaaaataatagaataaaa  
 ttaattaagttaatcatataataatcatataaaattaatattttatatccaaagcgacttgataataaaagtaagaaaagtagtaactaa  
 aaagttcaataaaaattgatataaaaatttatgtgttacaataaaaaataataataataatgtattgaataataattatcataataa  
 aatcttgtgtcaaatgtaagaaaacaaaacataaaaaagaacaaaaaagaataaaaattaaaaatataaagcatatatatgaat  
 ctaaaaataatacaataaatcc

>MurflB\_46\_TC

CAAAAATTAAAAAACAAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAAAGTGCAGGAGTA  
 AGAAGTAAAGCAATAAAAATAATAGAATAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
 ATAATATCATAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAAGTA  
 AGAAAAGTAGTAAACTAAAAAGTTCAAATAAAATTGATATAAAAATTATATG  
 TGTTACGAATAAAAATAATATAATAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
 AATAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAAGAAACAA  
 AAAAGAAATAAAATTAATAATATAAAGCATATATATGAATCTAAAAATAATA  
 CAATAAATCC

>MurflB\_38\_TC

CAAAAATTAAAAAACAAAAATCACATAGGAAGAAGCAAAAAGTGCAGGAGTA  
 AGAAGTAAAGCAATAAAAATAATAGAATAAAATTAATTAAGTTAATCATATA  
 ATAATATCATAAAATTAATATTTTATATCCAAAGCGACTTGATAATAAAAGTA  
 AGAAAAGTAGTAAACTAAAAAGTTCAAATAAAATTGATATAAAAATTATATG  
 TGTTACAAATAAAAATAATATAATAATAATGTATTGAATAATAATTATCATA  
 AATAAAAATCTTGTGTCAAATGTAAGAAAACAAAACATAAAAAAGAAACAA  
 AAAAGAAATAAAATTAATAATATAAAGCATATATATGAATCTAAAAATAGTA  
 CAATAAATCC

>MurflB\_11\_TC

caaaaataaaaaacaaaaatcacataggaagaagcaaaagtgcaggagtaagaagtaagcaataaaaaataatagaataaaa  
 ttaattaagttaatcatataataatcatataaaattaatattttatatccaaagcgacttgataataaaagtaagaaaagtagtaactaa  
 aaagttcaataaaaattgatataaaaatttatgtgttacaataaaaaataataataataatgtattgaataataattatcataataa  
 aatcttgtgtcaaatgtaagaaaacaaaacataaaaaagaacaaaaaagaataaaaattaaaaatataaagcatatatatgaat  
 ctaaaaataatacaataaatcc

>9S\_154\_TC

TAAATCGTTGTAAAGCAGATTTGTTTATATATTTAATTAATATAAGGAGTGC  
 ATAGTAATATTAGTACGCAAGGATCAATTATTTGTTATTTTATATACTACT  
 TCAAGGTTTAATATTAACCTTAAGTCTATTGTTATTATTCATATTAATTTTTT  
 AAAAGTTTTTAAGTTTTATGCTAGTTTATTTTAAATAATTTTATTTGTCATAT  
 TTTAGGAATAGATAATAATA

>9S\_151\_TC

taaaatcgttgtaaagcagatttgttatataatattaatataaggagtgcatagtaatattagtagcgaaggatcaattattgttattt  
 tataataactactcaagggttaataataacttaagtctattgttattattcatattaatTTTTTAAAAGTTTTAAGTTTTATGCTAGTTTT  
 aaaataatTTTTATTGTCATTTTTAGGAATAGATAATAATA

>9S\_128\_TC

taaaatcgttgtaaagcagatttgttatataatattaatataaggagtgcatagtaatattagtagcgaaggatcaattattgttattt  
 tataataactactcaagggttaataataacttaagtctattgttattattcatattaatTTTTTAAAAGTTTTAAGTTTTATGCTAGTTTT  
 aaaataatTTTTATTGTCATTTTTAGGAATAGATAATAATA

>9S\_127\_TC

taaaatcgttgtaaagcagatttgttatataatattaatataaggagtgcatagtaatattagtagcgaaggatcaattattgttattt  
 tataataactactcaagggttaataataacttaagtctattgttattattcatattaatTTTTTAAAAGTTTTAAGTTTTATGCTAGTTTT  
 aaaataatTTTTATTGTCATTTTTAGGAATAGATAATAATA

>9S\_113\_TC

TAAAATCGTTGTAAAGCAGATTTGTTTATATATTTAATTAATATAAGGAGTGC  
 ATAGTAATATTAGTACGCAAGGATCAATTATTTGTTATTTTATATATACTACT  
 TCAAGGTTTAATATTAAACTTAAGTCTATTGTTATTATTCATATTAATTTTTTT  
 AAAAGTTTTTAAGTTTTATGCTAGTTTATTTTAAAATAATTTTATTTGTCATAT  
 TTTAGGAATAGATAATAATA

>9S\_100\_TC

TAAAATCGTTGTAAAGCAGATTTGTTTATATATTTAATTAATATAAGGAGTGC  
 ATAGTAATATTAGTACGCAAGGATCAATTATTTGTTATTTTATATATACTACT  
 TCAAGGTTTAATATTAAACTTAAGTCTATTGTTATTATTCATATTAATTTTTTT  
 AAAAGTTTTTAAGTTTTATGCTAGTTTATTTTAAAATAATTTTATTTGTCATAT  
 TTTAGGAATAGATAATAATA

>9S\_99\_TC

taaaatcgttgtaaagcagatttgttatataatattaatataaggagtgcatagtaatattagtagcgaaggatcaattattgttattt  
 tataataactactcaagggttaataataacttaagtctattgttattattcatattaatTTTTTAAAAGTTTTAAGTTTTATGCTAGTTTT  
 aaaataatTTTTATTGTCATTTTTAGGAATAGATAATAATA

>9S\_95\_TC

TAAAATCGTTGTAAAGCAGATTTGTTTATATATTTAATTAATATAAGGAGTGC  
 ATAGTAATATTAGTACGCAAGGATCAATTATTTGTTATTATATATATACTACT  
 TCAAGGTTTAATATTAAACTTAAGTCTATTGTTATTATTCATATTAATTTTTTT  
 AAAAGTTTTTAAGTTTTATGCTAGTTTATTTTAAAATAATTTTATTTGTCATAT  
 TTTAGGAATAGATAATAATA

>9S\_83\_TC

TAAAATCGTTGTAAAGCAGATTTGTTTATATATTTAATTAATATAAGGAGTGC  
 ATAGTAATATTAGTACGCAAGGATCAATTATTTGTTATTTTATATATACTACT  
 TCAAGGTTTAATATTAAACTTAAGTCTATTGTTATTATTCATATTAATTTTTTT  
 AAAAGTTTTTAAGTTTTATGCTAGTTTATTTTAAAATAATTTTATTTGTCATAT  
 TTTAGGAATAGATAATAATA

>9S\_70\_TC

TAAAATCGTTGTAAAGCAGATTTGTTTATATATTTAATTAATATAAGGAGTGC  
 ATAGTAATATTAGTACGCAAGGATCAATTATTTGTTATTTTATATATACTACT  
 TCAAGGTTTAATATTAAACTTAAGTCTATTGTTATTATTCATATTAATTTTTTT  
 AAAAGTTTTTAAGTTTTATGCTAGTTTATTTTAAAATAATTTTATTTGTCATAT  
 TTTAGGAATAGATAATAATA

>9S\_67\_TC

TAAAATCGTTGTAAAGCAGATTTGTTTATATATTTAATTAATATAAGGAGTGC  
 ATAGTAATATTAGTACGCAAGGATCAATTATTTGTTATTATATATATACTACT  
 TCAAGGTTTAATATTAAACTTAAGTCTATTGTTATTATTCATATTAATTTTTTT  
 AAAAGTTTTTAAGTTTTATGCTAGTTTATTTTAAAATAATTTTATTTGTCATAT  
 TTTAGGAATAGATAATAATA

>9S\_61\_TC

taaaatcgttgtaaagcagatttgttatataatattaatataaggagtgcatagtaatattagtagcaaggatcaattattgttatt  
 tatataactactcaaggtttaataataacttaagtctattgttattatcatattaatTTTTTAAAAGTTTTAAGTTTTATGCTAGTTATTT  
 AAAATAATTTTATTTGTCATATTTAGGAATAGATAATAATA

>9S\_53\_TC

taaaatcgttgtaaagcagatttgttatataatattaatataaggagtgcatagtaatattagtagcaaggatcaattattgttatt  
 tatataactactcaaggtttaataataacttaagtctattgttattatcatattaatTTTTTAAAAGTTTTAAGTTTTATGCTAGTTATTT  
 AAAATAATTTTATTTGTCATATTTAGGAATAGATAATAATA

>9S\_46\_TC

TAAAATCGTTGTAAAGCAGATTTGTTTATATATTTAATTAATATAAGGAGTGC  
 ATAGTAATATTAGTACGCAAGGATCAATTATTTGTTATTTTATATATACTACT  
 TCAAGGTTTAATATTAAACTTAAGTCTATTGTTATTATTCATATTAATTTTTTT  
 AAAAGTTTTTAAGTTTTATGCTAGTTTATTTTAAAATAATTTTATTTGTCATAT  
 TTTAGGAATAGATAATAATA

>9S\_38\_TC

TAAAATCGTTGTAAAGCAGATTTGTTTATATATTTAATTAATATAAGGAGTGC  
 ATAGTAATATTAGTACGCAAGGATCAATTATTTGTTATTTTATATATACTACT  
 TCAAGGTTTAATATTAAACTTAAGTCTATTGTTATTATTCATATTAATTTTTTT

AAAAGTTTTTAAGTTTTATGCTAGTTTATTTTAAAATAATTTTATTTGTCATAT  
TTTAGGAATAGATAATAATA

>9S\_11\_TC

taaaatcgttgtaaagcagatttgttatataatataaggagtgcatagtaatattagtagcgaaggatcaattattggtatt  
tatataactactcaaggtttaataataaacttaagctattggtattatcatattaatTTTTTAAAAGTTTTAAGTTTTATGCTAGTTT  
AAAATAATTTATTTGTCATATTTAGGAATAGATAATAATA

>12S\_154\_TC

GTCTAAGAAATATATTTAAGATTATTCTTGTATATATATTTATAAATTAATAA  
TTCTAAAAATAAAAATAAAGTTCCTCGAAAATAAAATTTTAGTAGCATAGTAA  
TTTGTTAACTAATTATTAAGGTGTTCCACAGAAATTTTTTAAATTA AAAACAAA  
AAAAATAATTTATGAATTA AAAATAAAAATTTTAATAAAAATTAATAATTA  
AATAGGACAAGTCCTACTCTCCTTTACAAAGAGAACGTTTCAATAATACGTA

>12S\_151\_TC

gtctaagaaatataatagattattctgtatataatataaataaataaattctaaaaataaataaagttcctcgaaaataaaatTTtag  
tagcatagtaattgtaactaattataaagtggtccacagaaatTTTTAATAAAAACAAAAAATAATTTATGAATTAATAAAAA  
TTTTAATAAAAATAAATAAATAAATAGGACAAGTCCTACTCTCCTTTACAAAGAGAACGTTTCAATAATACGTA

>12S\_128\_TC

gtctaagaaatataatagattattctgtatataatataaataaataaattctaaaaataaataaagttcctcgaaaataaaatTTtag  
tagcatagtaattgtaactaattataaagtggtccacagaaatTTTTAATAAAAACAAAAAATAATTTATGAATTAATAAAAA  
TTTTAATAAAAATAAATAAATAAATAGGACAAGTCCTACTCTCCTTTACAAAGAGAACGTTTCAATAATACGTA

>12S\_127\_TC

gtctaagaaatataatagattattctgtatataatataaataaataaattctaaaaataaataaagttcctcgaaaataaaatTTtag  
tagcatagtaattgtaactaattataaagtggtccacagaaatTTTTAATAAAAACAAAAAATAATTTATGAATTAATAAAAA  
TTTTAATAAAAATAAATAAATAAATAGGACAAGTCCTACTCTCCTTTACAAAGAGAACGTTTCAATAATACGTA

>12S\_113\_TC

GTCTAAGAAATATATTTAAGATTATTCTTGTATATATATTTATAAATTAATAA  
TTCTAAAAATAAAAATAAAGTTCCTCGAAAATAAAATTTTAGTAGCATAGTAA  
TTTGTTAACTAATTATTAAGGTGTTCCACAGAAATTTTTTAAATTA AAAACAAA  
AAAAATAATTTATGAATTA AAAATAAAAATTTTAATAAAAATTAATAATTA  
AATAGGACAAGTCCTACTCTCCTTTACAAAGAGAACGTTTCAATAATACGTA

>12S\_100\_TC

GTCTAAGAAATATATTTAAGATTATTCTTGTATATATATTTATAAATTAATAA  
TTCTAAAAATAAAAATAAAGTTCCTCGAAAATAAAATTTTAGTAGCATAGTAA  
TTTGTTAACTAATTATTAAGGTGTTCCACAGAAATTTTTTAAATTA AAAACAAA

AAAAATAATTTATGAATTA AAAATAAAAATTTTAATAAAAATTA AATAATTAA  
AATAGGACAAGTCCTACTCTCCTTTACAAAGAGAACGTTTCAATAATACGTA

>12S\_99\_TC

gtctaagaaatatttaagattattctgtatatatatttataaattaataattctaaaaataaaataaagttcctcgaaaataaaatttag  
tagcatagtaatttgtaactaattattaagtggtccacagaatttttaattaaaacaaaaataattatgaattaaaataaaaa  
ttttaataaaaattaataaataataggacaagtcctactctcctttacaagagaacgtttcaataatagta

>12S\_95\_TC

GTCTAAGAAATATATTTAAGATTATTCTTGTATATATATTTATAAATTAATAA  
TTCTAAAAATAAAAATAAAGTTCCTCGAAAATAAAATTTTAGTAGCATAGTAA  
TTTGTTAACTAATTATTAAGGTGTTCCACAGAAATTTTTTAATTA AAAACAAA  
AAAAATAATTTATGAATTA AAAATAAAAATTTTAATAAAAATTA AATAATTAA  
AATAGGGCAAGTCCTACTCTCCTTTACAAAGAGAACGTTTCAATAATACGTA

>12S\_83\_TC

GTCTAAGAAATATATTTAAGATTATTCTTGTATATATATTTATAAATTAATAA  
TTCTAAAAATAAAAATAAAGTTCCTCGAAAATAAAATTTTAGTAGCATAGTAA  
TTTGTTAACTAATTATTAAGGTGTTCCACAGAAATTTTTTAATTA AAAACAAA  
AAAAATAATTTATGAATTA AAAATAAAAATTTTAATAAAAATTA AATAATTAA  
AATAGGACAAGTCCTACTCTCCTTTACAAAGAGAACGTTTCAATAATACGTA

>12S\_70\_TC

GTCTAAGAAATATATTTAAGATTATTCTTGTATATATATTTATAAATTAATAA  
TTCTAAAAATAAAAATAAAGTTCCTCGAAAATAAAATTTTAGTAGCATAGTAA  
TTTGTTAACTAATTATTAAGGTGTTCCACAGAAATTTTTTAATTA AAAACAAA  
AAAAATAATTTATGAATTA AAAATAAAAATTTTAATAAAAATTA AATAATTAA  
AATAGGACAAGTCCTACTCTCCTTTACAAAGAGAACGTTTCAATAATACGTA

>12S\_67\_TC

GTCTAAGAAATATATTTAAGATTATTCTTGTATATATATTTATAAATTAATAA  
TTCTAAAAATAAAAATAAAGTTCCTCGAAAATAAAATTTTAGTAGCATAGTAA  
TTTGTTAACTAATTATTAAGGTGTTCCACAGAAATTTTTTAATTA AAAACAAA  
AAAAATAATTTATGAATTA AAAATAAAAATTTTAATAAAAATTA AATAATTAA  
AATAGGGCAAGTCCTACTCTCCTTTACAAAGAGAACGTTTCAATAATACGTA

>12S\_61\_TC

gtctaagaaatatttaagattattctgtatatatatttataaattaataattctaaaaataaaataaagttcctcgaaaataaaatttag  
tagcatagtaatttgtaactaattattaagtggtccacagaatttttaattaaaacaaaaataattatgaattaaaataaaaa  
ttttaataaaaattaataaataataggacaagtcctactctcctttacaagagaacgtttcaataatagta

>12S\_53\_TC

gtctaagaaatatttaagattattcttgatataatattataaattaataattctaaaaataaaataaagttcctcgaaaataaaatttag  
tagcatagtaatttgtaactaattattaaagtggtccacagaaatttttaattaaaacaaaaaaataattatgaattaaaataaaaa  
ttttaataaaaattaaataaataaataaggacaagtcctactctcctttacaagagaacgttcaataatagcga

>12S\_46\_TC

GTCTAAGAAATATATTTAAGATTATTCTTGTATATATATTTATAAATTAATAA  
TTCTAAAAATAAAATAAAGTTCCTCGAAAATAAAATTTTAGTAGCATAGTAA  
TTTGTTAACTAATTATTAAGTGTTCCACAGAAATTTTTTAATTA AAAACAAA  
AAAAATAATTTATGAATTA AAAATAAAAAATTTAATAAAAAATTAATAATTA  
AATAGGACAAGTCCTACTCTCCTTTACAAAGAGAACGTTTCAATAATACGTA

>12S\_38\_TC

GTCTAAGAAATATATTTAAGATTATTCTTGTATATATATTTATAAATTAATAA  
TTCTAAAAATAAAATAAAGTTCCTCGAAAATAAAATTTTAGTAGCATAGTAA  
TTTGTTAACTAATTATTAAGTGTTCCACAGAAATTTTTTAATTA AAAACAAA  
AAAAATAATTTATGAATTA AAAATAAAAAATTTAATAAAAAATTAATAATTA  
AATAGGACAAGTCCTACTCTCCTTTACAAAGAGAACGTTTCAATAATACGTA

>12S\_11\_TC

gtctaagaaatatttaagattattcttgatataatattataaattaataattctaaaaataaaataaagttcctcgaaaataaaatttag  
tagcatagtaatttgtaactaattattaaagtggtccacagaaatttttaattaaaacaaaaaaataattatgaattaaaataaaaa  
ttttaataaaaattaaataaataaataaggacaagtcctactctcctttacaagagaacgttcaataatagcga

>ND5b\_154\_TC

TGATTACCAGATGCAATGGAAGGACCAATACCTGTATCTGCATTAATACATG  
CTGCAACGTTAGTTGTATGTGGAATAATATTAGGTAGTTTCATATTTTGGTGT  
TTCGAATTTTGATTTAGCTATTTTATAGTATAATTTGCTGAACAACCGCAAT  
AATAGTATTAATGAGTCTGTGTGTCTTTTATAATTTTGACGCAAAACGTTATA  
TAGCATTTAGTACAATCTGTCAAATAAGTTTTTCGTTTTTTTGTGTATTTGTT  
TAGATCTTTATGTAGGTTGCTTATTTTTTTGTTATCACATGTTTTATAAGGCAT  
CTTTGTTTATAGTAATAGGTATATGAATACATATATTCTTTGGTCTAC

>ND5b\_151\_TC

tgattaccagatgcaatggaaggaccaatcctgtatctgcattaatacatgctgcaacgtagtgatgtggaataatattaggta  
gtttcatatttgggtttcgaatttgatttagctattttatagataatgctgaacaaccgcaataatagattatagctgtgtgctc  
tttataatttgacgcaaacgltatagcatttagcaaatctgtcaataagttttcgtttttgtgtattttagatctttatgtag  
gttgctattttttgtatcacatgtttataaggcatctttgtttatagtaataggatataatgacatatattctttggctac

>ND5b\_128\_TC

tgattaccagatgcaatggaaggaccaatacctgtatctgcattaatacatgctgcaacattagttgtatgtggaataatattagga  
 gtttcatatgttggtgttcgaatttgatttagctatttatagtagataaattgctgaacaaccgcaataatagtagtattagtagtctgtgtgc  
 tttataatgtgacgcaaacggtatagcatttagtacaatctgcaataagttttcgtttttgggtattgttttagatctttatgtag  
 gttgcttatttttggatcacatgtttataaggcatctttgttatagtagaataggtatatgaatacatatattctttggctac

>ND5b\_127\_TC

tgattaccagatgcaatggaaggaccaatacctgtatctgcattaatacatgctgcaacgtagttgtatgtggaataatattagga  
 gtttcatatgttggtgttcgaatttgatttagctatttatagtagataaattgctgaacaaccgcaataatagtagtattagtagtctgtgtgc  
 tttataatgtgacgcaaacggtatagcatttagtacaatctgcaataagttttcgtttttgggtattgttttagatctttatgtag  
 gttgcttatttttggatcacatgtttataaggcatctttgttatagtagaataggtatatgaatacatatattctttggctac

>ND5b\_113\_TC

TGATTACCAGATGCAATGGAAGGACCAATACCTGTATCTGCATTAATACATG  
 CTGCAACGTTAGTTGTATGTGGAATAAATATTAGGTAGTTTCATATTTTGGTGT  
 TTCGAATTTTGATTTAGCTATTTTATAGTATAAATTTGCTGAACAACCGCAAT  
 AATAGTATTAATGAGTCTGTGTGTCTTTTATAAATTTGACGCAAACGTTATA  
 TAGCATTTAGTACAATCTGTCAAATAAGTTTTTCGTTTTTTTGGTTGATTTGTT  
 TAGATCTTTATGTAGGTTGCTTATTTTTTTGTTATCACATGTTTTATAAGGCAT  
 CTTTGTTTATAGTAATAGGTATATGAATACATATATTCTTTGGTCTAC

>ND5b\_100\_TC

TGATTACCAGATGCAATGGAAGGACCAATACCTGTATCTGCATTAATACATG  
 CTGCAACGTTAGTTGTATGTGGAATAAATATTAGGTAGTTTCATATTTTGGTGT  
 TTCGAATTTTGATTTAGCTATTTTATAGTATAAATTTGCTGAACAACCGCAAT  
 AATAGTATTAATGAGTCTGTGTGTCTTTTATAAATTTGACGCAAACGTTATA  
 TAGCATTTAGTACAATCTGTCAAATAAGTTTTTCGTTTTTTTGGTTGATTTGTT  
 TAGATCTTTATGTAGGTTGCTTATTTTTTTGTTATCACATGTTTTATAAGGCAT  
 CTTTGTTTATAGTAATAGGTATATGAATACATATATTCTTTGGTCTAC

>ND5b\_99\_TC

tgattaccagatgcaatggaaggaccaatacctgtatctgcattaatacatgctgcaacgtagttgtatgtggaataatattagga  
 gtttcatatgttggtgttcgaatttgatttagctatttatagtagataaattgctgaacaaccgcaataatagtagtattagtagtctgtgtgc  
 tttataatgtgacgcaaacggtatagcatttagtacaatctgcaataagttttcgtttttgggtattgttttagatctttatgtag  
 gttgcttatttttggatcacatgtttataaggcatctttgttatagtagaataggtatatgaatacatatattctttggctac

>ND5b\_95\_TC

TGATTACCAGATGCAATGGAAGGACCAATACCTGTATCTGCATTAATACATG  
 CTGCAACGTTAGTTGTATGTGGAATAAATATTAGGTAGTTTCATATTTTGGTGT  
 TTCGAATTTTGATTTAGCTATTTTATAGTATAAATTTGCTGAACAACCGCAAT  
 AATAGTATTAATGAGTCTGTGTGTCTTTTATAAATTTGACGCAAACGTTATA  
 TAGCATTTAGTACAATTTGTCAAATAAGTTTTTCGTTTTTTTGGTTGATTTGTT

TAGATCTTTATGTAGGTTGCTTATTTTTTTGTTATCACATGTTTTATAAGGCAT  
CTTTGTTTATAGTAATAGGTATATGAATACATATATTCTTTGGTCTAC

>ND5b\_83\_TC

TGATTACCAGATGCAATGGAAGGACCAATACCTGTATCTGCATTAATACATG  
CTGCAACGTTAGTTGTATGTGGAATAATATTAGGTAGTTTCATATTTTGGTGT  
TTCGAATTTTGATTTAGCTATTTTTATAGTATAATTTGCTGAACAACCGCAAT  
AATAGTATTAATGAGTCTGTGTGTCTTTTTATAATTTTGACGCAAAACGTTATA  
TAGCATTTAGTACAATCTGTCAAATAAGTTTTTCGTTTTTTTTGTTGTATTTGTT  
TAGATCTTTATGTAGGTTGCTTATTTTTTTGTTATCACATGTTTTATAAGGCAT  
CTTTGTTTATAGTAATAGGTATATGAATACATATATTCTTTGGTCTAC

>ND5b\_70\_TC

TGATTACCAGATGCAATGGAAGGACCAATACCTGTATCTGCATTAATACATG  
CTGCAACGTTAGTTGTATGTGGAATAATATTAGGTAGTTTCATATTTTGGTGT  
TTCGAATTTTGATTTAGCTATTTTTATAGTATAATTTGCTGAACAACCGCAAT  
AATAGTATTAATGAGTCTGTGTGTCTTTTTATAATTTTGACGCAAAACGTTATA  
TAGCATTTAGTACAATCTGTCAAATAAGTTTTTCGTTTTTTTTGTTGTATTTGTT  
TAGATCTTTATGTAGGTTGCTTATTTTTTTGTTATCACATGTTTTATAAGGCAT  
CTTTGTTTATAGTAATAGGTATATGAATACATATATTCTTTGGTCTAC

>ND5b\_67\_TC

TGATTACCAGATGCAATGGAAGGACCAATACCTGTATCTGCATTAATACATG  
CTGCAACGTTAGTTGTATGTGGAATAATATTAGGTAGTTTCATATTTTGGTGT  
TTCGAATTTTGATTTAGCTATTTTTATAGTATAATTTGCTGAACAACCGCAAT  
AATAGTATTAATGAGTCTGTGTGTCTTTTTATAATTTTGACGCAAAACGTTATA  
TAGCATTTAGTACAATTTGTCAAATAAGTTTTTCGTTTTTTTTGTTGTATTTGTT  
TAGATCTTTATGTAGGTTGCTTATTTTTTTGTTATCACATGTTTTATAAGGCAT  
CTTTGTTTATAGTAATAGGTATATGAATACATATATTCTTTGGTCTAC

>ND5b\_61\_TC

tgattaccagatgcaatggaaggaccaatacctgtatctgcattaatacatgctgcaacgtagttgtatgtggaataatattagga  
gtttcatattttggtgttcgaatttgatttagctattttatagtataatgtctgaacaaccgcaataatagtattaatgagtctgtgtgc  
ttttataattttgacgcaaacgttatagcatttagtacaatctgtcaataagttttcgTTTTTTGTTGTATTTGTT  
ggtgcttatttttgtatcacatgtttataaggcatctttgtttatagtaataggtatatgaatacatatattctttggtctac

>ND5b\_53\_TC

tgattaccagatgcaatggaaggaccaatacctgtatctgcattaatacatgctgcaacgtagttgtatgtggaataatattagga  
gtttcatattttggtgttcgaatttgatttagctattttatagtataatgtctgaacaaccgcaataatagtattaatgagtctgtgtgc  
ttttataattttgacgcaaacgttatagcatttagtacaatctgtcaataagttttcgTTTTTTGTTGTATTTGTT  
ggtgcttatttttgtatcacatgtttataaggcatctttgtttatagtaataggtatatgaatacatatattctttggtctac

>ND5b\_46\_TC

TGATTACCAGATGCAATGGAAGGACCAATACCTGTATCTGCATTAATACATG  
 CTGCAACGTTAGTTGTATGTGGAATAATATTAGGTAGTTTCATATTTTGGTGT  
 TTCGAATTTTGATTTAGCTATTTTTATAGTATAATTTGCTGAACAACCGCAAT  
 AATAGTATTAATGAGTCTGTGTGTCTTTTATAATTTTGACGCAAAACGTTATA  
 TAGCATTTAGTACAATCTGTCAAATAAGTTTTTCGTTTTTTTGTGTATTTGTT  
 TAGATCTTTATGTAGGTTGCTTATTTTTTTGTTATCACATGTTTTATAAGGCAT  
 CTTTGTTTATAGTAATAGGTATATGAATACATATATTCTTTGGTCTAC

>ND5b\_38\_TC

TGATTACCAGATGCAATGGAAGGACCAATACCTGTATCTGCATTAATACATG  
 CTGCAACGTTAGTTGTATGTGGAATAATATTAGGTAGTTTCATATTTTGGTGT  
 TTCGAATTTTGATTTAGCTATTTTTATAGTATAATTTGCTGAACAACCGCAAT  
 AATAGTATTAATGAGTCTGTGTGTCTTTTATAATTTTGACGCAAAACGTTATA  
 TAGCATTTAGTACAATCTGTCAAATAAGTTTTTCGTTTTTTTGTGTATTTGTT  
 TAGATCTTTATGTAGGTTGCTTATTTTTTTGTTATCACATGTTTTATAAGGCAT  
 CTTTGTTTATAGTAATAGGTATATGAATACATATATTCTTTGGTCTAC

>ND5b\_11\_TC

tgattaccagatgcaatggaaggaccaataacctgtatctgcattaatacatgctgcaacgtagtgtatgtggaataatattaggtg  
 gtttcatatgttggtgttcgaatfttgatttagctatftttatagtataatftgctgaacaaccgcaataatagtattaatgagtctgtgtgc  
 tttataatfttgacgcaaacgfttatatagcatttagtacaatctgcaataagfttttcgftttttgtgtatftgfttagatctttatgtag  
 gttgcttftttttgtatcacatgftttataaggcatctftgtttatagtaaataggatataatgacatataatctttggtctac

>ND5a\_154\_TC

GTACATACTGTTGCTGATAGATCTTGTATTTTGTFTTTATACTATTTTACGCATT  
 TTATTATATGTATTTTGTATATTTTGTAGGACGATTTCTTAATATTTTGTGAAT  
 GTTCATTTTATGTATGAACFTTTTATATTATCATATGATTTTATAACAGCATA  
 TTGTGGTTGAGAATTATTAGGGTTATATTCTTTTATTAATATCTTATTTTGT  
 ATACCGTTTCATCTCCATAAAATTCGGTTTTAAAGCATTFTTTTATAGGTAATA  
 TAGGAGATATATTGCTCATATTTGCATTTTCAATATTATTTTCAATGAATGGTT  
 ATTACATAGCAACGTTTCATATTATAAATTTTATGTGTGTTGATTACTATTACA  
 TAGTATTTATAACTTTAATATTATTATGTTGTGCTTTTACGAAAA

>ND5a\_151\_TC

gtacatactggtgctgatagatcttgatftttgtttatactatftttacgcattftttatataatgattttgatataatfttaggacgatttctaata  
 tftttgaaatgftcattftatgtatgaactftttatattatcatatgattttataacagcatattgtggttgagaattattagggtatattctfttt  
 tattaataatctatftttgataccgfttcatctccataaaatcggtfttaagcattftttataggtaaaataggagatataatgctcatatft  
 gcattftcaataatftttcaatgaatggttattacatagcaacgfttcatattataaattftatgtgtggtgattactattacatagattttata  
 actfttaataatattatggtgtgctftttacgaaaa

>ND5a\_128\_TC

gtacatactggtgctgatagatcttgatatttgtttatactattttacgcattttattatatgtattttgatataatttttagggcgatttcttaata  
 tttttgaatgttcattttatgatgaactttttatattatcatatgattttataacagcatatttggttgagaattattagggttatattcttttt  
 tattaatatcttattttgataccgttcatctccataaaaattcggttttaaagcatttttataggtaaaataggagatatattgctcatattt  
 gcattttcaatatttttcaatgaatggttattacatagcaacgtttcatattataaattttatgtgtgttgattactattacatagattttata  
 actttaatattattatggtgtgcttttacgaaaa

>ND5a\_127\_TC

gtacatactggtgctgatagatcttgatatttgtttatactattttacgcattttattatatgtattttgatataatttttaggacgatttcttaata  
 tttttgaatgttcattttatgatgaactttttatattatcatatgattttataacagcatatttggttgagaattattagggttatattcttttt  
 tattaatatcttattttgataccgttcatctccataaaaattcggttttaaagcatttttataggtaaaataggagatatattgctcatattt  
 gcattttcaatatttttcaatgaatggttattacatagcaacgtttcatattataaattttatgtgtgttgattactattacatagattttata  
 actttaatattattatggtgtgcttttacgaaaa

>ND5a\_113\_TC

GTACATACTGTTGCTGATAGATCTTGTATTTTGTTTTATACTATTTTACGCATT  
 TTATTATATGTATTTTGATATATTTTLAGGGCGATTTCTTAATATTTTGAAT  
 GTTCATTTTATGTATGAACCTTTTTATATTATCATATGATTTTATAACAGCATA  
 TTGTGGTTGAGAATTATTAGGGTTATATTCTTTTTTATTAATATCTTATTTTTG  
 ATACCGTTTCATCTCCATAAAAATTCGGTTTTAAAGCATTTTTTATAGGTAAAA  
 TAGGAGATATATTGCTCATATTTGCATTTTCAATATTATTTTCAATGAATGGTT  
 ATTACATAGCAACGTTTCATATTATAAATTTTATGTGTGTTGATTACTATTACA  
 TAGTATTTATAACTTTAATATTATTATGTTGTGCTTTTACGAAAA

>ND5a\_100\_TC

GTACATACTGTTGCTGATAGATCTTGTATTTTGTTTTATACTATTTTACGCATT  
 TTATTATATGTATTTTGATATATTTTLAGGACGATTTCTTAATATTTTGAAT  
 GTTCATTTTATGTATGAACCTTTTTATATTATCATATGATTTTATAACAGCATA  
 TTGTGGTTGAGAATTATTAGGGTTATATTCTTTTTTATTAATATCTTATTTTTG  
 ATACCGTTTCATCTCCATAAAAATTCGGTTTTAAAGCATTTTTTATAGGTAAAA  
 TAGGAGATATATTGCTCATATTTGCATTTTCAATATTATTTTCAATGAATGGTT  
 ATTACATAGCAACGTTTCATATTATAAATTTTATGTGTGTTGATTACTATTACA  
 TAGTATTTATAACTTTAATATTATTATGTTGTGCTTTTACGAAAA

>ND5a\_99\_TC

gtacatactggtgctgatagatcttgatatttgtttatactattttacgcattttattatatgtattttgatataatttttaggacgatttcttaata  
 tttttgaatgttcattttatgatgaactttttatattatcatatgattttataacagcatatttggttgagaattattagggttatattcttttt  
 tattaatatcttattttgataccgttcatctccataaaaattcggttttaaagcatttttataggtaaaataggagatatattgctcatattt  
 gcattttcaatatttttcaatgaatggttattacatagcaacgtttcatattataaattttatgtgtgttgattactattacatagattttata  
 actttaatattattatggtgtgcttttacgaaaa

>ND5a\_95\_TC

GTACATACTGTTGCTGATAGATCTTGTATTTTGTTTTATACTATTTTACGCATT  
 TTATTATATGTATTTTGATATATTTTAGGGCGATTTCTTAATATTTTTTGAAT  
 GTTCATTTTATGTATGAACTTTTTATATTATCATATGATTTTATAACAGCATA  
 TTGTGGTTGAGAATTATTAGGGTTATATTCTTTTTTATTAATATCTTATTTTTG  
 ATACCGTTTCATCTCCATAAAAATTCGGTTTTAAAGCATTTTTTATAGGTAAAA  
 TAGGAGATATATTGCTCATATTTGCATTTTCAATATTATTTTCAATGAATGGTT  
 ATTACATAGCAACGTTTCATATTATAAATTTTATGTGTGTTGATTACTATTACA  
 TAGTATTTATAACTTTAATATTATTATGTTGTGCTTTTACGAAAA

>ND5a\_83\_TC

GTACATACTGTTGCTGATAGATCTTGTATTTTGTTTTATACTATTTTACGCATT  
 TTATTATATGTATTTTGATATATTTTAGGACGATTTCTTAATATTTTTTGAAT  
 GTTCATTTTATGTATGAACTTTTTATATTATCATATGATTTTATAACAGCATA  
 TTGTGGTTGAGAATTATTAGGGTTATATTCTTTTTTATTAATATCTTATTTTTG  
 ATACCGTTTCATCTCCATAAAAATTCGGTTTTAAAGCATTTTTTATAGGTAAAA  
 TAGGAGATATATTGCTCATATTTGCATTTTCAATATTATTTTCAATGAATGGTT  
 ATTACATAGCAACGTTTCATATTATAAATTTTATGTGTGTTGATTACTATTACA  
 TAGTATTTATAACTTTAATATTATTATGTTGTGCTTTTACGAAAA

>ND5a\_70\_TC

GTACATACTGTTGCTGATAGATCTTGTATTTTGTTTTATACTATTTTACGCATT  
 TTATTATATGTATTTTGATATATTTTAGGACGATTTCTTAATATTTTTTGAAT  
 GTTCATTTTATGTATGAACTTTTTATATTATCATATGATTTTATAACAGCATA  
 TTGTGGTTGAGAATTATTAGGGTTATATTCTTTTTTATTAATATCTTATTTTTG  
 ATACCGTTTCATCTCCATAAAAATTCGGTTTTAAAGCATTTTTTATAGGTAAAA  
 TAGGAGATATATTGCTCATATTTGCATTTTCAATATTATTTTCAATGAATGGTT  
 ATTACATAGCAACGTTTCATATTATAAATTTTATGTGTGTTGATTACTATTACA  
 TAGTATTTATAACTTTAATATTATTATGTTGTGCTTTTACGAAAA

>ND5a\_67\_TC

GTACATACTGTTGCTGATAGATCTTGTATTTTGTTTTATACTATTTTACGCATT  
 TTATTATATGTATTTTGATATATTTTAGGGCGATTTCTTAATATTTTTTGAAT  
 GTTCATTTTATGTATGAACTTTTTATATTATCATATGATTTTATAACAGCATA  
 TTGTGGTTGAGAATTATTAGGGTTATATTCTTTTTTATTAATATCTTATTTTTG  
 ATACCGTTTCATCTCCATAAAAATTCGGTTTTAAAGCATTTTTTATAGGTAAAA  
 TAGGAGATATATTGCTCATATTTGCATTTTCAATATTATTTTCAATGAATGGTT  
 ATTACATAGCAACGTTTCATATTATAAATTTTATGTGTGTTGATTACTATTACA  
 TAGTATTTATAACTTTAATATTATTATGTTGTGCTTTTACGAAAA

>ND5a\_61\_TC

gtacatactgttgctgatagatcttgatctgtttgtttatactatctttacgcattttattatatgtatctttgatatacttttaggacgatttcttaata  
 tttttgaatgttcattttatgatgaactttttatattatcatatgattttataacagcatattgtggttgagaattattagggttatattcctttt  
 tattaatatcttattttgataccgtttcatctccataaaaatcgggtttaaagcatttttataggtaaaataggagatatattgctcatattt  
 gcattttcaatattattttcaatgaatgggtattacatagcaacgtttcatattataaattttatgtgtgttgattactattacatagattttata  
 actttaatattattatggttgcttttacgaaaa

>ND5a\_53\_TC

gtacatactgttgctgatagatcttgatctgtttgtttatactatctttacgcattttattatatgtatctttgatatacttttaggacgatttcttaata  
 tttttgaatgttcattttatgatgaactttttatattatcatatgattttataacagcatattgtggttgagaattattagggttatattcctttt  
 tattaatatcttattttgataccgtttcatctccataaaaatcgggtttaaagcatttttataggtaaaataggagatatattgctcatattt  
 gcattttcaatattattttcaatgaatgggtattacatagcaacgtttcatattataaattttatgtgtgttgattactattacatagattttata  
 actttaatattattatggttgcttttacgaaaa

>ND5a\_46\_TC

GTACATACTGTTGCTGATAGATCTTGTATTTTGTGTTTATACTATTTTACGCATT  
 TTATTATATGTATTTTGTATATTTTATAGGGCGATTTCTTAATATTTTGAAT  
 GTTCATTTTATGTATGAACCTTTTTATATTATCATATGATTTTATAACAGCATA  
 TTGTGGTTGAGAATTATTAGGGTTATATTCTTTTTTATTAATATCTTATTTTIG  
 ATACCGTTTCATCTCCATAAAAATTCGGTTTTAAAGCATTTTTTTATAGGTAAAA  
 TAGGAGATATATTGCTCATATTTGCATTTTCAATATTATTTTCAATGAATGGTT  
 ATTACATAGCAACGTTTCATATTATAAATTTTATGTGTGTTGATTACTATTACA  
 TAGTATTTATAACTTTAATATTATTATGTTGTGCTTTTACGAAAA

>ND5a\_38\_TC

GTACATACTGTTGCTGATAGATCTTGTATTTTGTGTTTATACTATTTTACGCATT  
 TTATTATATGTATTTTGTATATTTTATAGGACGATTTCTTAATATTTTGAAT  
 GTTCATTTTATGTATGAACCTTTTTATATTATCATATGATTTTATAACAGCATA  
 TTGTGGTTGAGAATTATTAGGGTTATATTCTTTTTTATTAATATCTTATTTTIG  
 ATACCGTTTCATCTCCATAAAAATTCGGTTTTAAAGCATTTTTTTATAGGTAAAA  
 TAGGAGATATATTGCTCATATTTGCATTTTCAATATTATTTTCAATGAATGGTT  
 ATTACATAGCAACGTTTCATATTATAAATTTTATGTGTGTTGATTACTATTACA  
 TAGTATTTATAACTTTAATATTATTATGTTGTGCTTTTACGAAAA

>ND5a\_11\_TC

gtacatactgttgctgatagatcttgatctgtttgtttatactatctttacgcattttattatatgtatctttgatatacttttaggacgatttcttaata  
 tttttgaatgttcattttatgatgaactttttatattatcatatgattttataacagcatattgtggttgagaattattagggttatattcctttt  
 tattaatatcttattttgataccgtttcatctccataaaaatcgggtttaaagcatttttataggtaaaataggagatatattgctcatattt  
 gcattttcaatattattttcaatgaatgggtattacatagcaacgtttcatattataaattttatgtgtgttgattactattacatagattttata  
 actttaatattattatggttgcttttacgaaaa

>Sp18\_154\_TC

TTTGTTTTTAAGAGTTAAATATTTAAATAATAATATATTTATTACATATAACAT  
 GTATTTTAATAAAAAGCGGAGAAAAGAGGAAGGGTCTTCTAATGTCAGGTTG  
 TTTATATAGGATATATGGAGTGGGGTTCAGTTTAGGTCTATTTATTATGTTAC  
 AGATAATATGTGGTGTGGCTTAGCATGAATGTTTTTAGTTGTTTTATTTGTG  
 CAAATTGATATTTTATTTTATTTTGTGAGACTTTGATTTAGGTTTTGTGATTA  
 GAAGTATTCATATCTGTTTTACTTCTTTGCTATATTTTCTATTATATGTGCATA  
 TATTTAAATGTATAATATTGGTAATTTTATTTGACACACATTTATTAGTATGAT  
 TTATAGGATTTATATTATTTATGTTTATAATAATTATTGCATTTATTGGGTACG  
 TGTTACCATGTACAATGATGTCTTATTGAGGATTAACAGTTTTTAGTAATATT  
 TTAGCTACTGTTCCCTGTATTCGGCCAGTGATTATGTTATTGAATATGGGGTAG  
 TGAATTTATAAATGATTTTACGCTTTTAAACTTCATGTATTACATGTCTTGCT  
 CCCTTTTGTTTTAATTATGGTATTA

>Sp18\_151\_TC

TTTGTTTTTAAGAGTTAAATATTTAAATAATAATATATTTATTACATATAACAT  
 GTATTTTAATAAAAAGCGGAGAAAAGAGGAAGGGTCTTCTAATGTCAGGTTG  
 TTTATATAGGATATATGGAGTGGGGTTCAGTTTAGGTCTATTTATTATGTTAC  
 AGATAATATGTGGTGTGGCTTAGCATGAATGTTTTTAGTTGTTTTATTTGTG  
 CAAATTGATATTTTATTTTATTTTGTGAGACTTTGATTTAGGTTTTGTGATTA  
 GAAGTATTCATATCTGTTTTACTTCTTTGCTATATTTTCTATTATATGTGCATA  
 TATTTAAATGTATAATATTGGTAATTTTATTTGACACACATTTATTAGTATGAT  
 TTATAGGATTTATATTATTTATGTTTATAATAATTATTGCATTTATTGGGTACG  
 TGTTACCATGTACAATGATGTCTTATTGAGGATTAACAGTTTTTAGTAATATT  
 TTAGCTACTGTTCCCTGTATTCGGCCAGTGATTATGTTATTGAATATGGGGTAG  
 TGAATTTATAAATGATTTTACGCTTTTAAACTTCATGTATTACATGTCTTGCT  
 CCCTTTTGTTTTAATTATGGTATTA

>Sp18\_128\_TC

TTTGTTTTTAAGAGTTAAATATTTAAATAATAATATATTTATTACATATAACAT  
 GTATTTTAATAAAAAGCGGAGAAAAGAGGAAGGGTCTTCTAATGTCAGGTTG  
 TTTATATAGGATATATGGAGTGGGGTTCAGTTTAGGTCTATTTATTATGTTAC  
 AGATAATATGTGGTGTGGCTTAGCATGAATGTTTTTAGTTGTTTTATTTGTG  
 CAAATTGATATTTTATTTTATTTTGTGAGACTTTGATTTAGGTTTTGTGATTA  
 GAAGTATTCATATCTGTTTTACTTCTTTGCTATATTTTCTATTATATGTGCATA  
 TATTTAAATGTATAATATTGGTAATTTTATTTGACACACATTTATTAGTATGAT  
 TTATAGGATTTATATTATTTATGTTTATAATAATTATTGCATTTATTGGGTACG  
 TGTTACCATGTACAATGATGTCTTATTGAGGATTAACAGTTTTTAGTAATATT  
 TTAGCTACTGTTCCCTGTATTCGGCCAGTGATTATGTTATTGAATATGGGGTAG  
 TGAATTTATAAATGATTTTACGCTTTTAAACTTCATGTATTACATGTCTTGCT  
 CCCTTTTGTTTTAATTATGGTATTA

>Sp18\_127\_TC

TTTGTTTTTAAGAGTTAAATATTTAAATAATAATATATTTATTACATATAACAT  
 GTATTTTAATAAAAAGCGGAGAAAAGAGGAAGGGTCTTCTAATGTCAGGTTG  
 TTTATATAGGATATATGGAGTGGGGTTCAGTTTAGGTCTATTTATTATGTTAC  
 AGATAATATGTGGTGTGGCTTAGCATGAATGTTTTTAGTTGTTTTATTTGTG  
 CAAATTGATATTTTATTTTATTTTGTGAGACTTTGATTTAGGTTTTGTGATTA  
 GAAGTATTCATATCTGTTTTACTTCTTTGCTATATTTTCTATTATATGTGCATA  
 TATTTAAATGTATAATATTGGTAATTTTATTTGACACACATTTATTAGTATGAT  
 TTATAGGATTTATATTATTTATGTTTATAATAATTATTGCATTTATTGGGTACG  
 TGTTACCATGTACAATGATGTCTTATTGAGGATTAACAGTTTTTAGTAATATT  
 TTAGCTACTGTTCCCTGTATTCGGCCAGTGATTATGTTATTGAATATGGGGTAG  
 TGAATTTATAAATGATTTTACGCTTTTAAACTTCATGTATTACATGTCTTGCT  
 CCCTTTTGTTTTAATTATGGTATTA

>Sp18\_113\_TC

TTTGTTTTTAAGAGTTAAATATTTAAATAATAATATATTTATTACATATAACAT  
 GTATTTTAATAAAAAGCGGAGAAAAGAGGAAGGGTCTTCTAATGTCAGGTTG  
 TTTATATAGGATATATGGAGTGGGGTTCAGTTTAGGTCTATTTATTATGTTAC  
 AGATAATATGTGGTGTGGCTTAGCATGAATGTTTTTAGTTGTTTTATTTGTG  
 CAAATTGATATTTTATTTTATTTTGTGAGACTTTGATTTAGGTTTTGTGATTA  
 GAAGTATTCATATCTGTTTTACTTCTTTGCTATATTTTCTATTATATGTGCATA  
 TATTTAAATGTATAATATTGGTAATTTTATTTGACACACATTTATTAGTATGAT  
 TTATAGGATTTATATTATTTATGTTTATAATAATTATTGCATTTATTGGGTACG  
 TGTTACCATGTACAATGATGTCTTATTGAGGATTAACAGTTTTTAGTAATATT  
 TTAGCTACTGTTCCCTGTATTCGGCCAGTGATTATGTTATTGAATATGGGGTAG  
 TGAATTTATAAATGATTTTACGCTTTTAAACTTCATGTATTACATGTCTTGCT  
 CCCTTTTGTTTTAATTATGGTATTA

>Sp18\_100\_TC

TTTGTTTTTAAGAGTTAAATATTTAAATAATAATATATTTATTACATATAACAT  
 GTATTTTAATAAAAAGCGGAGAAAAGAGGAAGGGTCTTCTAATGTCAGGTTG  
 TTTATATAGGATATATGGAGTGGGGTTCAGTTTAGGTCTATTTATTATGTTAC  
 AGATAATATGTGGTGTGGCTTAGCATGAATGTTTTTAGTTGTTTTATTTGTG  
 CAAATTGATATTTTATTTTATTTTGTGAGACTTTGATTTAGGTTTTGTGATTA  
 GAAGTATTCATATCTGTTTTACTTCTTTGCTATATTTTCTATTATATGTGCATA  
 TATTTAAATGTATAATATTGGTAATTTTATTTGACACACATTTATTAGTATGAT  
 TTATAGGATTTATATTATTTATGTTTATAATAATTATTGCATTTATTGGGTACG  
 TGTTACCATGTACAATGATGTCTTATTGAGGATTAACAGTTTTTAGTAATATT  
 TTAGCTACTGTTCCCTGTATTCGGCCAGTGATTATGTTATTGAATATGGGGTAG  
 TGAATTTATAAATGATTTTACGCTTTTAAACTTCATGTATTACATGTCTTGCT  
 CCCTTTTGTTTTAATTATGGTATTA

>Sp18\_99\_TC\_Rvs

TTTGTTTTAAGAGTTAAATATTTAAATAAATAATATATTTATTACATATAAC  
 ATGTATTTAATAAAAAGCGGAGAAAAGAGGAAGGGTCTTCTAATGTCAGGT  
 TGTTTATATAGGATATATGGAGTGGGGTTCAGTTTAGGTCTATTTATTATGTT  
 ACAGATAATATGTGGTGTGGCTAGCATGAATGTTTTTAGTTGTTTTATTG  
 TGCAAATTGATATTTTATTTTATTTTGTGAGACTTTGATTTAGGTTTTGTGAT  
 TAGAAGTATTCATATCTGTTTTACTTCTTTGCTATATTTTCTATTATATGTGCA  
 TATATTTAAATGTATAAATTTGGTAATTTTATTTGACACACATTTATTAGTATG  
 ATTTATAGGATTTATATTATTTATGTTTATAAATAATTATTGCATTTATCGGGTA  
 CGTGTACCATGTACAATGATGTCTTACTGAGGATTAACAGTTTTTAGTAATA  
 TCTTAGCTACTGTCCTGTATTCGGCCAGTGATTATGTTAATGAATATGGGGTAGC  
 AATTATAAATGATTTTACGCTTTTAAACTTCATGTATTACATGTCTTGCTCC  
 CTTTTGTTTTAATTATGGTATTA

>Sp18\_95\_TC

TTTGTTTTAAGAGTTAAATATTTAAATAAATAATATATTTATTACATATAACAT  
 GTATTTAATAAAAAGCGGAGAAAAGAGGAAGGGTCTTCTAATGTCAGGTTG  
 TTTATATAGGATATATGGAGTGGGGTTCAGTTTAGGTCTATTTATTATGTTAC  
 AGATAAATATGTGGTGTGGCTTAGCATGAATGTTTTTAGTTGTTTTATTTGTG  
 CAAATTGATATTTTATTTTATTTTGTGAGACTTTGATTTAGGTTTTGTGATTA  
 GAAGTATTCATATCTGTTTTACTTCTTTGCTATATTTTCTATTATATGTGCATA  
 TATTTAAATGTATAAATTTGGTAATTTTATTTGACACACATTTATTAGTATGAT  
 TTATAGGATTTATATTATTTATGTTTATAAATAATTATTGCATTTATTGGGTACG  
 TGTTACCATGTACAATGATGTCTTATTGAGGATTAACAGTTTTTAGTAATATT  
 TTAGCTACTGTTCCGTATTCGGCCAGTGATTATGTTATTGAATATGGGGTAG  
 TGAATTTATAAATGATTTTACGCTTTTAAACTTCATGTATTACATGTCTTGCT  
 CCCTTTGTTTTAATTATGGTATTA

>Sp18\_83\_TC

TTTGTTTTAAGAGTTAAATATTTAAATAAATAATATATTTATTACATATAACAT  
 GTATTTAATAAAAAGCGGAGAAAAGAGGAAGGGTCTTCTAATGTCAGGTTG  
 TTTATATAGGATATATGGAGTGGGGTTCAGTTTAGGTCTATTTATTATGTTAC  
 AGATAAATATGTGGTGTGGCTTAGCATGAATGTTTTTAGTTGTTTTATTTGTG  
 CAAATTGATATTTTATTTTATTTTGTGAGACTTTGATTTAGGTTTTGTGATTA  
 GAAGTATTCATATCTGTTTTACTTCTTTGCTATATTTTCTATTATATGTGCATA  
 TATTTAAATGTATAAATTTGGTAATTTTATTTGACACACATTTATTAGTATGAT  
 TTATAGGATTTATATTATTTATGTTTATAAATAATTATTGCATTTATTGGGTACG  
 TGTTACCATGTACAATGATGTCTTATTGAGGATTAACAGTTTTTAGTAATATT  
 TTAGCTACTGTTCCGTATTCGGCCAGTGATTATGTTATTGAATATGGGGTAG  
 TGAATTTATAAATGATTTTACGCTTTTAAACTTCATGTATTACATGTCTTGCT  
 CCCTTTGTTTTAATTATGGTATTA

>Sp18\_70\_TC

TTTGTTTTTAAGAGTTAAATATTTAAATAAATAATATATTTATTACATATAAC  
 ATGTATTTAATAAAAAGCGGAGAAAAGAGGAAGGGTCTTCTAATGTCAGGT  
 TGTTTATATAGGATATATGGAGTGGGGTTCAGTTTAGGTCTATTTATTATGTT  
 ACAGATAATATGTGGTGTGGCTTAGCATGAATGTTTTTTAGTTGTTTTATTG  
 TGCAAATTGATATTTTATTTTATTTTGTGAGACTTTGATTTAGGTTTTGTGAT  
 TAGAAGTATTCATATCTGTTTTACTTCTTTGCTATATTTTCTATTATATGTGCA  
 TATATTTAAATGTATAAATATTGGTAATTTTATTTGACACACATTTATTAGTATG  
 ATTTATAGGATTTATATTATTTATGTTTATAATAATTATTGCATTTATTGGGTA  
 CGTGTTACCATGTACAATGATGTCTTATTGAGGATTAACAGTTTTTAGTAATA  
 TTTTAGCTACTGTTCCCTGTATTCGGCCAGTGATTATGTTATTGAATATGGGGT  
 AGTGAATTTATAAATGATTTTACGCTTTTAAACTTCATGTATTACATGTCTTG  
 CTCCTTTTGTTTAATTATGGTATTA

>Sp18\_67\_TC

TTTGTTTTTAAGAGTTAAATATTTAAATAAATAATATATTTATTACATATAACAT  
 GTATTTAATAAAAAGCGGAGAAAAGAGGAAGGGTCTTCTAATGTCAGGTTG  
 TTTATATAGGATATATGGAGTGGGGTTCAGTTTAGGTCTATTTATTATGTTAC  
 AGATAATATGTGGTGTGGCTTAGCATGAATGTTTTTTAGTTGTTTTATTTGTG  
 CAAATTGATATTTTATTTTATTTTGTGAGACTTTGATTTAGGTTTTGTGATTA  
 GAAGTATTCATATCTGTTTTACTTCTTTGCTATATTTTCTATTATATGTGCATA  
 TATTTAAATGTATAAATATTGGTAATTTTATTTGACACACATTTATTAGTATGAT  
 TTATAGGATTTATATTATTTATGTTTATAATAATTATTGCATTTATTGGGTACG  
 TGTTACCATGTACAATGATGTCTTATTGAGGATTAACAGTTTTTAGTAATATT  
 TTAGCTACTGTTCCCTGTATTCGGCCAGTGATTATGTTATTGAATATGGGGTAG  
 TGAATTTATAAATGATTTTACGCTTTTAAACTTCATGTATTACATGTCTTGCT  
 CCCTTTTGTTTAATTATGGTATTA

>Sp18\_61\_TC

ttgttttaagagttaaatatttaataataatattattaccatataacatgtattttaaaaaagcggagaaaagaggaagggtctt  
 ctaatgacaggtgtttatattagatattggagtggttcagtttaggtctattattatgttacagataaatgtggtgtttgcttagc  
 atgaatgttttagttgtttattgtgcaaattgatattttattttgtgagactttgatttaggtttgtgattagaagtattcatatctg  
 tttacttctttgctatattttctattatattgtcatatattaaatgtataaattggtaattttattgacacacatttattagtagattatag  
 gatttatattttatgtttataaattattgcattattgggtacgtgtaccatgtacaatgatgtcttattgaggattaacagtttttagt  
 aatatttagctactgttccctgtattcggccagtgattatgtattgaatattgggtagtgaattataaatgattttacgctttaaaact  
 catgtattacatgtcttgcctttgttttaattatggatatta

>Sp18\_53\_TC

ttgttttaagagttaaatatttaataataatattattaccatataacatgtattttaaaaaagcggagaaaagaggaagggtctt  
 ctaatgacaggtgtttatattagatattggagtggttcagtttaggtctattattatgttacagataaatgtggtgtttgcttagc

atgaatgttttagtggtttattgtgcaaattgatattttattttgtgagactttgatttaggtttgtgattagaagtattcatatctg  
 tttacttcttctatattttctatttatatgtgcatatatttaaatgtataatattggaattttatttgacacacatttattagtagattatag  
 gatttatattttatgtttataataattattgcatttattgggtacgtgtccatgtacaatgatgtcttattgaggattaacagtttttagt  
 aatattttagctactgttctgtattcggccagtgattatgttattgaatatgggtagtgaattataaatgattttacgcttttaaaact  
 catgtattacatgcttgcctttgttttaattatggtatta

>Sp18\_46\_TC

TTTGTTTTTAAGAGTTAAATATTTAAATAATAATATATTTATTACATATAACAT  
 GTATTTTAATAAAAAGCGGAGAAAAGAGGAAGGGTCTTCTAATGTCAGGTTG  
 TTTATATAGGATATATGGAGTGGGGTTCAGTTTAGGTCTATTTATTATGTTAC  
 AGATAATATGTGGTGTGGCTTAGCATGAATGTTTTTAGTTGTTTTATTTGTG  
 CAAATTGATATTTTATTTTATTTTGTGAGACTTTGATTTAGGTTTTGTGATTA  
 GAAGTATTCATATCTGTTTTACTTCTTTGCTATATTTTCTATTATATGTGCATA  
 TATTTAAATGTATAAATTTGGTAATTTTATTTGACACACATTTATTAGTATGAT  
 TTATAGGATTTATATTATTTATGTTTATAAATAATTATTGCATTTATTGGGTACG  
 TGTTACCATGTACAATGATGTCTTATTGAGGATTAACAGTTTTTAGTAATATT  
 TTAGCTACTGTTCTGTATTCGGCCAGTGATTATGTTATTGAATATGGGGTAG  
 TGAATTTATAAATGATTTTACGCTTTTAAACTTCATGTATTACATGTCTTGCT  
 CCCTTTTGTTTTAATTATGGTATTA

>Sp18\_38\_TC

TTTGTTTTTAAGAGTTAAATATTTAAATAATAATATATTTATTACATATAAC  
 ATGTATTTTAATAAAAAGCGGAGAAAAGAGGAAGGGTCTTCTAATGTCAGGT  
 TGTTTATATAGGATATATGGAGTGGGGTTCAGTTTAGGTCTATTTATTATGTT  
 ACAGATAATATGTGGTGTGGCTTAGCATGAATGTTTTTAGTTGTTTTATTTG  
 TGCAAATTGATATTTTATTTTATTTTGTGAGACTTTGATTTAGGTTTTGTGAT  
 TAGAAGTATTCATATCTGTTTTACTTCTTTGCTATATTTTCTATTATATGTGCA  
 TATATTTAAATGTATAAATTTGGTAATTTTATTTGACACACATTTATTAGTATG  
 ATTTATAGGATTTATATTATTTATGTTTATAAATAATTATTGCATTTATTGGGTA  
 CGTGTACCATGTACAATGATGTCTTATTGAGGATTAACAGTTTTTAGTAATA  
 TTTTAGCTACTGTTCTGTATTCGGCCAGTGATTATGTTATTGAATATGGGGT  
 AGTGAATTTATAAATGATTTTACGCTTTTAAACTTCATGTATTACATGTCTTG  
 CTCCCTTTTGTTTTAATTATGGTATTA

>Sp18\_11\_TC

ttgttttaagagttaaatatttaataataatatttattacatataacatgtatttaataaaaagcggagaaaagaggaagggtctt  
 ctaatgtcagggtgtttatagatataatggagtggttcagtttaggtctatttattatgttacagataaatgtggtgttcttagc  
 atgaatgttttagtggtttattgtgcaaattgatattttattttgtgagactttgatttaggtttgtgattagaagtattcatatctg  
 tttacttcttctatattttctatttatatgtgcatatatttaaatgtataatattggaattttatttgacacacatttattagtagattatag  
 gatttatattttatgtttataataattattgcatttattgggtacgtgtccatgtacaatgatgtcttattgaggattaacagtttttagt



ATTGAAATGTGATATTACTATCATAATATTACTATACATGCTATTGAACTTA  
TTGAGCTAAAAATTACTAAGTAAAATATTGCAAATATAAATC

>ND4\_113\_TC

TACTAAAGATATAGATAATAATGTTATTCCTAGCATAATAATAGTGTCTACAA  
AACCCAAAAATCATAATGATAAACTATTAATGACATAAACAAAAATTTGAA  
TACTCCAAAAAACCTATTTTTAATACTACACTTGCTAATACTACACTCATTT  
CGGTGTTTACTTCCACATGCATTTCCGGTAATCACACATGAAATGGTCATATT  
GGGTATTTTATAGAAAACATTACGAATAAAAAGATTTCATATAAAAATAGCTA  
AATGCATACTGTGCGAAAAAACAAATATCTAAAAAAATTTGTAAATTTAATAT  
ATTGAAATGTGATATTACTATCATAATATTACTATACATGCTATTGAACTTA  
TTGAGCTAAAAATTACTAAGTAAAATATTGCAAATATAAATC

>ND4\_100\_TC

TACTAAAGATATAGATAATAATGTTATTCCTAGCATAATAATAGTGTCTACAA  
AACCCAAAAATCATAATGATAAACTATTAATGACATAAACAAAAATTTGAA  
TACTCCAAAAAACCTATTTTTAATACTACACTTGCTAATACTACACTCATTT  
CGGTGTTTACTTCCACATGCATTTCCGGTAATCACACATGAAATGGTCATATT  
GGGTATTTTATAGAAAACATTACGAATAAAAAGATTTCATATAAAAATAGCTA  
AATGCATACTGTGCGAAAAAACAAATATCTAAAAAAATTTGTAAATTTAATAT  
ATTGAAATGTGATATTACTATCATAATATTACTATACATGCTATTGAACTTA  
TTGAGCTAAAAATTACTAAGTAAAATATTGCAAATATAAATC

>ND4\_99\_TC

TACTAAAGATATAGATAATAATGTTATTCCTAGCATAATAATAGTGTCTACAA  
AACCCAAAAATCATAATGATAGACTATTAATGACATAAACAAAAATTTGAA  
TACTCCAAAAAACCTATTTTTAATACTACACTTGCTAATACTACACTCATTT  
CGGTGTTTACTTCCACATGCATTTCCGGTAATCACACATGAAATGGTCATATT  
GGGTATTTTATAGAAAACATTACGAATAAAAAGATTTCATATAAAAATAGCTA  
AATACATACTGTGCGAAAAAACAAATATCTAAAAAAATTTGTAAATTTAATAT  
ATTGAAATGTGATATTACTATCATAATATTACTATACATGCTATTGAACTTA  
TTGAGCTAAAAATTACTAAGTAAAATATTGCAAATATAAATC

>ND4\_95\_TC

TACTAAAGATATAGATAATAATGTTATTCCTAGCATAATAATAGTGTCTACAA  
AACCCAAAAATCATAATGATAAACTATTAATGACATAAACAAAAATTTGAA  
TACTCCAAAAAACCTATTTTTAATACTACACTTGCTAATACTACACTCATTT  
CGGTGTTTACTTCCACATGCATTTCCGGTAATCACACATGAAATGGTCATATT  
GGGTATTTTATAGAAAACATTACGAATAAAAAGATTTCATATAAAAATAGCTA  
AATGCATACTGTGCGAAAAAACAAATATCTAAAAAAATTTGTAAATTTAATAT

ATTGAAATGTGATATTACTATCATAATATTACTATACATGCTATTGAACTTA  
TTGAGCTAAAAATTACTAAGTAAAATATTGCAAATATAAATC

>ND4\_83\_TC

TACTAAAGATATAGATAATAATGTTATTCCTAGCATAATAATAGTGTCTACAA  
AACCCAAAAATCATAATGATAAACTATTAATGACATAAACAAAAATTTGAA  
TACTCCAAAAAACCTATTTTAAATACTACACTTGCTAATACTACACTCATT  
CGGTGTTTACTTCCACATGCATTTCCGGTAATCACACATGAAATGGTCATATT  
GGGTATTTTATAGAAAACATTACGAATAAAAAGATTCATATAAAAATAGCTA  
AATGCATACTGTCGAAAAAACAAATATCTAAAAAAATTTGTAAATTTAATAT  
ATTGAAATGTGATATTACTATCATAATATTACTATACATGCTATTGAACTTA  
TTGAGCTAAAAATTACTAAGTAAAATATTGCAAATATAAATC

>ND4\_70\_TC

TACTAAAGATATAGATAATAATGTTATTCCTAGCATAATAATAGTGTCTACAA  
AACCCAAAAATCATAATGATAAACTATTAATGACATAAACAAAAATTTGAA  
TACTCCAAAAAACCTATTTTAAATACTACACTTGCTAATACTACACTCATT  
CGGTGTTTACTTCCACATGCATTTCCGGTAATCACACATGAAATGGTCATATT  
GGGTATTTTATAGAAAACATTACGAATAAAAAGATTCATATAAAAATAGCTA  
AATGCATACTGTCGAAAAAACAAATATCTAAAAAAATTTGTAAATTTAATAT  
ATTGAAATGTGATATTACTATCATAATATTACTATACATGCTATTGAACTTA  
TTGAGCTAAAAATTACTAAGTAAAATATTGCAAATATAAATC

>ND4\_67\_TC

TACTAAAGATATAGATAATAATGTTATTCCTAGCATAATAATAGTGTCTACAA  
AACCCAAAAATCATAATGATAGACTATTAATGACATAAACAAAAATTTGAA  
TACTCCAAAAAACCTATTTTAAATACTACACTTGCTAATACTACACTCATT  
CGGTGTTTACTTCCACATGCATTTCCGGTAATCACACATGAAATGGTCATATT  
GGGTATTTTATAGAAAACATTACGAATAAAAAGATTCATATAAAAATAGCTA  
AATACATACTGTCGAAAAAACAAATATCTAAAAAAATTTGTAAATTTAATAT  
ATTGAAATGTGATATTACTATCATAATATTACTATACATGCTATTGAACTTA  
TTGAGCTAAAAATTACTAAGTAAAATATTGCAAATATAAATC

>ND4\_61\_TC

TACTAAAGATATAGATAATAATGTTATTCCTAGCATAATAATAGTGTCTACAA  
AACCCAAAAATCATAATGATAAACTATTAATGACATAAACAAAAATTTGAA  
TACTCCAAAAAACCTATTTTAAATACTACACTTGCTAATACTACACTCATT  
CGGTGTTTACTTCCACATGCATTTCCGGTAATCACACATGAAATGGTCATATT  
GGGTATTTTATAGAAAACATTACGAATAAAAAGATTCATATAAAAATAGCTA  
AATGCATACTGTCGAAAAAACAAATATCTAAAAAAATTTGTAAATTTAATAT  
ATTGAAATGTGATATTACTATCATAATATTACTATACATGCTATTGAACTTA  
TTGAGCTAAAAATTACTAAGTAAAATATTGCAAATATAAATC

>ND4\_53\_TC

TACTAAAGATATAGATAATAATGTTATTCCTAGCATAATAATAGTGTCTACAA  
 AACCCAAAAATCATAATGATAAACTATTAATGACATAAAACAAAAATTTGAA  
 TACTCCAAAAAACCTATTTTTAATACTACACTTGCTAATACTACACTCATT  
 CGGTGTTTACTTCCACATGCATTTCCGGTAATCACACATGAAATGGTCATATT  
 GGGTATTTTATAGAAAACATTACGAATAAAAAGATTCATATAAAAATAGCTA  
 AATGCATACTGTCGAAAAAACAAATATCTAAAAAAATTTGTAAATTTAATAT  
 ATTGAAATGTGATATTACTATCATAACATATTACTATACATGCTATTGAACTTA  
 TTGAGCTAAAAATTACTAAGTAAAATATTGCAAATATAAATC

>ND4\_46\_TC

TACTAAAGATATAGATAATAATGTTATTCCTAGCATAATAATAGTGTCTACAA  
 AACCCAAAAATCATAATGATAAACTATTAATGACATAAAACAAAAATTTGAA  
 TACTCCAAAAAACCTATTTTTAATACTACACTTGCTAATACTACACTCATT  
 CGGTGTTTACTTCCACATGCATTTCCGGTAATCACACATGAAATGGTCATATT  
 GGGTATTTTATAGAAAACATTACGAATAAAAAGATTCATATAAAAATAGCTA  
 AATGCATACTGTCGAAAAAACAAATATCTAAAAAAATTTGTAAATTTAATAT  
 ATTGAAATGTGATATTACTATCATAACATATTACTATACATGCTATTGAACTTA  
 TTGAGCTAAAAATTACTAAGTAAAATATTGCAAATATAAATC

>ND4\_38\_TC

TACTAAAGATATAGATAATAATGTTATTCCTAGCATAATAATAGTGTCTACAA  
 AACCCAAAAATCATAATGATAAACTATTAATGACATAAAACAAAAATTTGAA  
 TACTCCAAAAAACCTATTTTTAATACTACACTTGCTAATACTACACTCATT  
 CGGTGTTTACTTCCACATGCATTTCCGGTAATCACACATGAAATGGTCATATT  
 GGGTATTTTATAGAAAACATTACGAATAAAAAGATTCATATAAAAATAGCTA  
 AATGCATACTGTCGAAAAAACAAATATCTAAAAAAATTTGTAAATTTAATAT  
 ATTGAAATGTGATATTACTATCATAACATATTACTATACATGCTATTGAACTTA  
 TTGAGCTAAAAATTACTAAGTAAAATATTGCAAATATAAATC

>ND4\_11\_TC

TACTAAAGATATAGATAATAATGTTATTCCTAGCATAATAATAGTGTCTACAA  
 AACCCAAAAATCATAATGATAAACTATTAATGACATAAAACAAAAATTTGAA  
 TACTCCAAAAAACCTATTTTTAATACTACACTTGCTAATACTACACTCATT  
 CGGTGTTTACTTCCACATGCATTTCCGGTAATCACACATGAAATGGTCATATT  
 GGGTATTTTATAGAAAACATTACGAATAAAAAGATTCATATAAAAATAGCTA  
 AATGCATACTGTCGAAAAAACAAATATCTAAAAAAATTTGTAAATTTAATAT  
 ATTGAAATGTGATATTACTATCATAACATATTACTATACATGCTATTGAACTTA  
 TTGAGCTAAAAATTACTAAGTAAAATATTGCAAATATAAATC

2. *CYT b* de *T. dimidiata*

&gt;154\_Cytb\_TD

ATAAAATTTGTCTAATTGGGTAAAAGGTGAGTCCTTGGAATTTACTTTTATTG  
 GTAATTGGGAGAATTAGGATAATGGCAATTGATGATACTATTGCAATAACTC  
 CTCCTAATTTGTTAGGAATAGATCGTAGGATTGCATATGCAAATAGGAAGTA  
 TCATTCTGGTTGAATATGTACTGGTGTAAGTGGGTTTGCAGGGATAAAGT  
 TTTCTGGATCTATTAATAATTGGGGCTTCTCATAGACTTAGGAGGATGAAAAAT  
 ATAAGAGTTAGGGATACTCCTATTAGGTCTTTAATAGAAAAATATGGGTGGA  
 ATGGGATTTTGTCAAAGTTTCTGTTTAATCCTAATGGATTTCTGGATCCTGTTT  
 GATGTAAAAATAGGAGGTGGATTATTACCATAGCTGCAATAATGAAGGGCAG  
 GAGGAAGTGAAGAGCAAAAAATCGGGTTAAGGTGGCGTTATCTACAGAAA  
 TCCCCCTCATAATCATTAACTAAATCGTTTCCTAGGTAAGGGATAGCAGATA  
 TTAGATTGGTAATAACAGTAGCTCCTCATAAGGATATTTGTCCTCAGGGAAG  
 AACATATCCTAGGAATGCAGCTCCTATAGTAATAAATAAAATAA

&gt;151\_Cytb\_TD

ATAAAATTTGTCTAATTGGGTAAAAGGTGAGTCCTTGAAATTTACTTTTATTG  
 GTAATTGGGAGAATTAGGATAATGGCAATTGATGATACTATTGCAATAACTC  
 CTCCTAATTTGTTAGGAATAGATCGTAGAATTGCATATGCAAATAGGAAGTA  
 TCATTCTGGTTGAATATGTACTGGTGTAAGTGGGTTTGCAGGGATGAAGT  
 TTTCTGGATCTATTAATAATTGGGGCTTCTCACAGACTTAGGAGGATGAAAAAT  
 ATAAGAGTTAGGGATACTCCTATTAGGTCTTTAATAGAGAAATATGGATGGA  
 ATGGGATTTTGTCAAAGTTTCTGTTTAACCCTAATGGATTTCTGGATCCTGTTT  
 GATGTAAAAATAGGAGGTGGATTATTACCATAGCTGCAATAATGAAGGGCAG  
 GAGGAAGTGAAGAGCAAAAAATCGGGTTAAGGTGGCGTTATCTACGGAAA  
 TCCCCCTCATAATCATTAACTAAATCGTTTCCTAGGTAAGGGATAGCAGATA  
 TTAGATTGGTAATAACAGTAGCTCCTCATAAGGATATTTGTCCTCAGGGAAG  
 AACATATCCTAGGAATGCAGCTCCTATAGTAATAAATAAAATAA

&gt;128\_Cytb\_TD

ATAAAATTTGTCTAATTGGTTAAAAGGTGAGTCCTTGAAATTTACTTTTATTG  
 GTAATTGGGAGAATTAGAATAATGGCAATTGATGATACTATTGCAATAACTC  
 CTCCTAATTTGTTAGGAATAGATCGTAGGATTGCATATGCAAATAGGAAGTA  
 TCATTCTGGTTGAATATGTACTGGTGTAAGTGGGTTTGCAGGGATGAAGT  
 TTTCTGGATCTATTAATAATTGGGGCTTCTCACAGACTTAGGAGGATGAAAAAT  
 ATAAGAGTTAGGGATACTCCTATTAGGTCTTTAATAGAGAAATATGGATGGA  
 ATGGGATTTTGTCAAAGTTTCTGTTTAACCCTAATGGATTTCTGGATCCTGTTT  
 GATGTAAAAATAGGAGGTGGATTATTACCATAGCTGCAATAATGAAGGGCAG  
 GAGGAAGTGAAGAGCAAAAAATCGGGTTAAGGTGGCGTTATCTACAGAAA  
 TCCCCCTCATAATCATTAACTAAATCGTTTCCTAGGTAAGGGATAGCAGATA

TTAGATTGGTAATAACAGTAGCTCCTCATAAGGATATTTGTCCTCAGGGAAG  
AACATATCCTAGGAATGCAGCTCCTATAGTAATAAATAAAATAA

>127\_Cytb\_TD

ATAAAATTTGTCTAATTGGGTAAAAGGTGAGTCCTTGGAATTTACTTTTATTG  
GTAATTGGGAGAATTAGAATAATGGCAATTGATGATACTATTGCAATAACTC  
CTCCTAATTTGTTAGGAATAGATCGTAGGATTGCATATGCAAATAGGAAGTA  
TCATTCTGGTTGAATATGTAAGTGGTGAAGTGGGTTTGCAGGGATGAAGT  
TTTCTGGATCTATTAATAATTGGGGCTTCTCACAGACTTAGGAGGATGAAAAAT  
ATAAGAGTTAGGGATACTCCTATTAGGTCTTTAATAGAGAAATATGGATGGA  
ATGGGATTTTGTCAAAGTTTCTGTTTAACCCCTAATGGATTTCTGGATCCTGTT  
GATGTAAAAATAGGAGGTGGATTATTACCATAGCTGCAATAATGAAGGGCAG  
GAGGAAGTGAAGAGCAAAAAATCGGGTTAAGGTGGCGTTATCTACAGAAAA  
TCCCCCTCATAATCATTTAACTAAATCGTTTCCTAGGTAAGGGATAGCAGATA  
TTAGATTGGTAATAACAGTAGCTCCTCATAAGGATATTTGTCCTCAGGGAAG  
AACATATCCTAGGAATGCAGCTCCTATAGTAATAAATAAAATAA

>113\_Cytb\_TD

ATAAAATTTGTCTGATTGGGTAAAAGGTGAGTCCTTGAAATTTACTTTTATTA  
GTAATTGGGAGAATTAGGATAATGGCAATTGATGAGACCATTGCGATAACTC  
CTCCTAATTTATTAGGAATAGATCGTAGAATTGCATATGCAAATAGGAAATA  
TCATTCTGGTTGAATATGTAAGTGGTGAAGTGGGTTTGCAGGGATAAAGT  
TTTCTGGGTCTATTAATAATTGGAGCTTCTCATAGACTGAGGAGGGTGAAGAA  
TATTAGGGTTAGGGATACTCCTATTAGGTCTTAATAGAGAAATATGGATGG  
AATGGGATTTTATCAAAGTTTCTGTTTAACCCCTAATGGATTTCTGGATCCTGTT  
TGATGTAAAAATAGGAGGTGGATTATTACCATAGCTGCAATAATAAAGGGCA  
GGAGAAAGTGAAGGGCAAAAAATCGGGTTAAGGTGGCATTATCTACAGAGA  
ATCCTCCTCATAATCATTTAACTAAATCGTTTCCTAAGTAAGGGATAGCGGAT  
ATTAGATTGGTAATAACAGTAGCTCCTCATAAGGATATTTGTCCTCAGGGAA  
GAACATATCCTAGGAATGCAGCCCCCATAGTAATAAATAAAGATAA

>100\_Cytb\_TD

ATAAAATTTGTCTGATTGGGTAAAAGGTGAGTCCTTGAAATTTACTTTTATTA  
GTAATTGGGAGAATTAGGATAATGGCAATTGATGAGACCATTGCGATAACTC  
CTCCTAATTTATTAGGAATAGATCGTAGAATTGCATATGCAAATAGGAAATA  
TCATTCTGGTTGAATATGTAAGTGGTGAAGTGGGTTTGCAGGGATAAAGT  
TTTCTGGGTCTATTAATAATTGGAGCTTCTCATAGACTGAGGAGGATGAAGAA  
TATTAGGGTTAGGGATACTCCTATTAGGTCTTAATAGAGAAATATGGATGG  
AATGGGATTTTGTCAAAGTTTCTGTTTAACCCCTAATGGATTTCTGGATCCTGTT  
TGATGTAAAAATAGGAGGTGGATTATTACCATGGCTGCAATAATAAAGGGCA  
GGAGAAAGTGAAGGGCAAAAAATCGGGTTAAGGTGGCATTATCTACAGAAA

ATCCCCCTCATAATCATTAACTAAATCGTTTCCTAAGTAAGGGATAGCGGAT  
 ATTAGATTGGTAATAACAGTAGCTCCTCATAAGGATATTTGTCCTCAGGGAA  
 GAACATATCCTAGGAATGCAGCTCCCATAGTAATAAATAAGATAA

>99\_Cytb\_TD

ATAAAATTTGTCTGATTGGGTAAAAGGTGAGTCCTTGAAATTTACTTTTATTA  
 GTAATTGGGAGAATTAGGATAATGGCAATTGATGAGACCATTGCGATAACTC  
 CTCCTAATTTATTAGGAATAGATCGTAGAATTGCATATGCAAATAGGAAATA  
 TCATTCTGGTTGAATATGTACTIONGGTGTAAACCAGTGGGTTTGCAGGGATAAAGT  
 TTTCTGGGTCTATTAATAATTGGAGCTTCTCATAGACTGAGGAGGATGAAGAA  
 TATTAGGGTTAGGGATACTCCTATTAGGTCCTTAATAGAGAAATATGGATGG  
 AATGGGATTTTGTCAAAGTTTCTGTTTAACCCTAATGGATTTCTGGATCCTGTT  
 TGATGTAAAAATAGGAGGTGGATTATTACCATGGCTGCAATAATAAAGGGCA  
 GGAGAAAGTGAAGGGCAAAAAATCGGGTTAAGGTGGCATTATCTACAGAAA  
 ATCCCCCTCATAATCATTAACTAAATCGTTTCCTAAGTAAGGGATAGCGGAT  
 ATTAGATTGGTAATAACAGTAGCTCCTCATAAGGATATTTGTCCTCAGGGAA  
 GAACATATCCTAGGAATGCAGCTCCCATAGTAATAAATAAGATAA

>83\_Cytb\_TD

ATAAAATTTGTCTGATTGGGTAAAAGGTGAGTCCTTGGAATTTACTTTTATTA  
 GTAATTGGGAGAATTAGGATAATGGCAATTGATGAGACCATTGCGATAACTC  
 CTCCTAATTTATTAGGAATAGATCGTAGAATTGCATATGCAAATAGGAAATA  
 TCATTCTGGTTGAATATGTACTIONGGTGTAAACCAGTGGGTTTGCAGGGATAAAGT  
 TTTCTGGGTCTATTAATAATTGGAGCTTCTCATAGACTGAGGAGGATAAAGAA  
 TATTAGGGTTAGGGATACTCCTATTAGGTCCTTAATAGAGAAATATGGATGG  
 AATGGGATTTTGTCAAAGTTTCTGTTTAACCCTAATGGATTTCTGGATCCTGTT  
 TGATGTAAAAATAGGAGGTGGATTATTACCATGGCTGCAATAATAAAGGGCA  
 GGAGAAAGTGAAGGGCAAAAAATCGGGTTAAGGTGGCATTATCTACAGAAA  
 ATCCCCCTCATAATCATTAACTAAATCGTTTCCTAAGTAAGGGATAGCGGAT  
 ATTAGATTGGTAATAACAGTAGCTCCTCATAAGGATATTTGTCCTCAGGGAA  
 GAACATATCCTAGGAATGCAGCTCCCATAGTAATAAATAAGATAA

>70\_Cytb\_TD

ATAAAATTTGTCTGATTGGGTAAAAGGTGAGTCCTTGAAATTTACTTTTATTA  
 GTAATTGGGAGAATTAGGATAATGGCAATTGATGAGACCATTGCGATAACTC  
 CTCCTAATTTATTAGGAATAGATCGTAGAATTGCATATGCAAATAGGAAGTA  
 TCATTCTGGTTGAATATGTACTIONGGTGTAAACCAGTGGGTTTGCAGGGATAAAGT  
 TTTCTGGGTCTATTAATAATTGGAGCTTCTCATAGACTGAGGAGGATAAAGAA  
 TATTAGGGTTAGGGATACTCCTATTAGGTCCTTAATAGAAAATATGGATGG  
 AATGGGATTTTGTCAAAGTTTCTGTTTAACCCTAATGGATTTCTGGATCCTGTT  
 TGATGTAAAAATAGGAGGTGGATTATTACCATGGCTGCAATAATAAAGGGCA

GGAGAAAGTGAAGGGCAAAAAATCGGGTTAAGGTGGCATTATCTACAGAAA  
 ATCCTCCTCATAATCATTTAACTAAATCGTTCCCTAAGTAAGGGATAGCGGAT  
 ATTAGATTTGTAATAACAGTAGCTCCTCATAAGGATATTTGTCCTCAGGGAAG  
 AACATATCCTAGGAATGCAGCTCCCATAGTAATAAATAAGATAA

>67\_Cytb\_TD

ATAAAAATTTGTCTGATTGGGTAAAAGGTGAGTCCTTGAAATTTACTTTTATTA  
 GTAATTGGGAGAATTAGGATAATGGCAATTGATGAGACCATTGCGATAACTC  
 CTCCTAATTTATTAGGAATAGATCGTAGAATTGCATATGCAAATAGGAAATA  
 TCATTCTGGTTGAATGTGTAAGTGGTGTAAACCAGTGGGTTTGCAGGGATAAAGT  
 TTTCTGGGTCTATTAATAATTGGAGCTTCTCATAGACTGAGGAGGATGAAGAA  
 TATTAGGGTTAGAGATACTCCTATTAGGTCTTAATAGAGAAATATGGATGG  
 AATGGGATTTTGTCAAAGTTTCTGTTTAACCCTAATGGATTTCTGGATCCTGTT  
 TGATGTAAAAATAGGAGGTGGATTATTACCATGGCTGCAATAATAAAGGGCA  
 GGAGAAAGTGAAGGGCAAAAAATCGGGTTAAGGTGGCATTATCTACAGAAA  
 ATCCCCCTCATAATCATTTAACTAAATCGTTTCCTAAGTAAGGGATAGCGGAT  
 ATCAGATTGGTAATAACAGTAGCTCCTCATAAGGATATTTGTCCTCAGGGA  
 GAACATATCCTAGGAATGCAGCTCCTATAGTAATAAATAAGATAA

>61\_Cytb\_TD

ATAAAAATTTGTCTGATTGGGTAAAAGGTGAGTCCTTGAAATTTACTTTTATTA  
 GTAATTGGGAGAATTAGGATAATGGCAATTGATGAGACCATTGCGATAACTC  
 CTCCTAATTTATTAGGAATAGATCGTAGAATTGCATATGCAAATAGGAAATA  
 TCATTCTGGTTGAATATGTAAGTGGTGTAAACCAGTGGGTTTGCAGGGATAAAGT  
 TTTCTGGGTCTATTAATAATTGGAGCTTCTCATAGACTGAGGAGGATGAAGAA  
 TATTAGGGTTAGGATACTCCTATTAGGTCTTAATAGAGAAATATGGATGG  
 AATGGGATTTTGTCAAAGTTTCTGTTTAACCCTAATGGATTTCTGGATCCTGTT  
 TGATGTAAAAATAGGAGGTGGATTATTACCATAGCTGCAATAATAAAGGGCA  
 GGAGAAAGTGAAGGGCAAAAAATCGGGTTAAGGTGGCATTATCTACAGAGA  
 ATCCCCCTCATAATCATTTAACTAAATCGTTTCCTAAGTAAGGGATAGCGGAT  
 ATTAGATTGGTAATAACAGTGGCTCCTCATAAGGATATTTGTCCTCAGGGA  
 GAACATATCCTAGGAATGCAGCTCCCATAGTAATAAATAAGATAA

>53\_Cytb\_TD

ATAAAAATTTGTCTAATTGGGTAAAAGGAAAGTCCTTGAAATTTGTTTTTATTA  
 GTAATTGGGAGAATTAGGATAATGGCAATTGATGAAACTATTGCAATAACTC  
 CTCCTAATTTATTGGGAATAGATCGTAGGATCGCATATGCAAATAGGAAGTA  
 TCATTCTGGTTGAATATGTAAGTGGTGTAACTAGTGGATTTGCAGGGATAAAGT  
 TTTCTGGGTCTATTAATAATTGGGGCTTCTCATAGACTTAGGAGGGTAAAGAAT  
 ATTAGAGTTAGGGATACTCCTATTAGGTCTTAATAGAGAAATATGGATGGA  
 ATGGGATTTTGTCAAAGTTTCTGTTTAATCCTAATGGATTTCTGGATCCTGTTT

GATGTAAAAATAGGAGGTGGATTATTACCATAGCTGCAATAATAAAGGGCAG  
 AAGAAAGTGAAGGGCGAAGAATCGGGTTAAGGTGGCGTTATCTACAGAAAA  
 TCCCCCTCATAATCATTAACTAAATCGTTTCCTAGGTAAGGAATAGCGGATA  
 TTAAATTGGTAATTACAGTAGCTCCTCATAAAGATATTTGTCCTCAGGGAAGA  
 ACATATCCTAGGAATGCAGCTCCTATAGTAATAAATAAAATAA

>46\_Cytb\_TD

ATAAAAATTTGTCTAATTGGGTAAAAGGAAAGTCCTTGAAATTTGTTTTTATTA  
 GTAATTGGGAGAATTAGGATAATGGCAATTGATGAACTATTGCAATAACTC  
 CTCCTAATTTATTGGGAATAGATCGTAGGATCGCATATGCAAATAGGAAGTA  
 TCATTCTGGTTGAATATGTAAGTGGTGAAGTGGATTTGCAGGGATAAAGT  
 TTTCTGGGTCTATTAATAATTGGGGCTTCTCATAGACTTAGGAGGGTAAAGAAT  
 ATTAGAGTTAGGGATACTCCTATTAGGTCTTTAATAGAGAAATATGGATGGA  
 ATGGGATTTTGTCAAAGTTTCTGTTTAATCCTAATGGATTTCTGGATCCTGTTT  
 GATGTAAAAATAGGAGGTGGATTATTACCATAGCTGCAATAATAAAGGGCAG  
 AAGAAAGTGAAGGGCGAAGAATCGGGTTAAGGTGGCGTTATCTACAGAAAA  
 TCCCCCTCATAATCATTAACTAAATCGTTTCCTAGGTAAGGAATAGCGGATA  
 TTAAATTGGTAATTACAGTAGCTCCTCATAAAGATATTTGTCCTCAGGGAAGA  
 ACATATCCTAGGAATGCAGCTCCTATAGTAATAAATAAAATAA

>38\_Cytb\_TD

ATAAAAATTTGTCTGATTGGGTAAAAGGTGAGTCCTTGGAATTTACTTTTATTA  
 GTAATTGGGAGAATTAGGATAATGGCAATTGATGAGACCATTGCGATAACTC  
 CTCCTAATTTATTAGGAATAGATCGTAGAATTGCATATGCAAATAGGAAATA  
 TCATTCTGGTTGAATATGTAAGTGGTGAAGTGGATTTGCAGGGATAAAGT  
 TTTCTGGGTCTATTAATAATTGGAGCTTCTCATAGACTGAGGAGGATGAAGAA  
 TATTAAGGTTAGGGATACTCCTATTAGGTCTTAATAGAGAAATATGGATGG  
 AATGGGATTTTATCAAAGTTTCTGTTTAATCCTAATGGATTTCTGGATCCTGTT  
 TGATGTAAAAATAGGAGGTGGATTATTACCATGGCTGCAATAATAAAGGGTA  
 GGAGAAAGTGAAGGGCAAAAAATCGGGTTAAGGTGGCATTATCTACAGAAA  
 ATCCTCCTCATAATCATTAACTAAATCGTTTCCTAAGTAAGGGATAGCGGAT  
 ATTAGATTGGTAATAACAGTAGCTCCTCATAAGGATATTTGTCCTCAGGGAA  
 GAACATATCCTAGGAATGCAGCCCCCATAGTAATAAATAAAGATAA

>11\_Cytb\_TD

ATAAAAATTTGTCTAATTGGGTAAAAGGTGAGTCCTTGAAATTTACTTTTATTG  
 GTAATTGGGAGAATTAGGATAATGGCAATTGATGATACTATTGCAATAACTC  
 CTCCTAATTTGTTAGGAATAGATCGTAGGATTGCATATGCAAATAGGAAGTA  
 TCATTCTGGTTGAATATGTAAGTGGTGAAGTGGATTTGCAGGGATGAAGT  
 TTTCTGGATCTATTAATAATTGGGGCTTCTCACAGACTTAGGAGGATGAAAAAT  
 ATAAGAGTTAGGGATACTCCTATTAGATCTTTAATAGAGAAATATGGATGGA

ATGGGATTTTGTCAAAGTTTCTGTTTAAACCCTAATGGGTTTCTGGATCCTGTTT  
 GATGTAAAAATAGGAGGTGGATTATTACTATAGCTGCAATAATGAAGGGCAG  
 GAGGAAGTGAAGAGCAAAAAATCGGGTTAAGGTGGCGTTATCTACGGAAAA  
 TCCCCTCATAATCATTAACTAAATCGTTTCCTAGGTAAGGGATAGCAGATA  
 TTAGATTGGTAATAACAGTAGCTCCTCATAAGGATATTTGTCCTCAGGGAAG  
 AACATATCCTAGGAATGCAGCTCCTATAGTAATAAATAAAATAA

### 3. *ND4 de T. dimidiata*

>ND4\_154\_TD

AGGATGATAAGAATATTATTGTATTTGTTTTTTTTGATCCCTTTTTCTTTGTTT  
 AATTTGTGGTGATTTATAGTTTTATATTTGATGGCTGGTGTCTTTTATTATTTA  
 AATACTTTTTGGTTTTTTAATTATTATTCTATGGTTAGATATTCTTTCGGGGGT  
 GATGTTTTGTCTATATGTATAATTTTCTTGAGTTTTTTGAATTGTAGCTTTAATA  
 ATTGTGGCTAGTTATAGTGTTTATAAATTTAGTAATTATAGAGGTGAGTTTAT  
 TGCTGTGAATGTTTTTTTATTAGTTTTTTTAGTTCTTTCTTTTTCTACTTCTAAT  
 TTGTTTTTATTTTATTTATTTTTTTGAATCTTCTTTAATTCCTACTTTATTTTTAAT  
 TTTTGGTTGGGGTATCAGCCCGAACGATTGAGAGCTGGGTTTTATTGCTTT  
 TCTATACTTTGTTTGCTTCTTTACCTCTTTTGTAGGTATTTTTTATATTGCACG  
 TACTTCTAGAGGGGTGTTTTATTTTTTTGATTACGGTTGATTGTAATTTTTATTT  
 GTTTATTTCTATGATTTGGCTTTTTTAGT

>ND4\_151\_TD

AGGATGATAAGAATATTATTGTATTTGTTTTTTTTGATCCCTTTTTCTTTGTTT  
 AATTTGTGGTGATTTATAGTTTTATATTTGATGGTTGGTGTCTTTTATTATTTA  
 AATACTTTTTGGTTTTTTAATTATTATTCTATGGTTAGATATTCTTTCGGGGGC  
 GATGTTTTGTCTATATGTATAATTTTCTTGAGTTTTTTGAATTGTAGCTTTAATA  
 ATTGTGGCTAGTTATAGTGTTTATAAATTTAGTAATTATAGAGGTGAGTTTAT  
 TGCTGTGAATGTTTTTTTATTAGTTTTTTTAGTTCTTTCTTTTTCTACTTCTAAT  
 TTGTTTTTATTTTATTTATTTTTTTGAATCTTCTTTAATTCCTACTTTATTTTTAAT  
 TTTTGGTTGGGGCTATCAGCCCGAACGATTGAGAGCTGGGTTTTATTGCTTT  
 TCTATACTTTATTTGCTTCTTTACCTCTTTTGTAGGTATTTTTTATATTGCATG  
 TACTTCTAGGGGGGTGTTTTATTTTTTTGATTACGGTTGATTGTAATTTTTATTT  
 GTTTATTTCTATGATTTGGCTTTTTTAGT

>ND4\_128\_TD

AGGATGATAAGAATATTATTGTATTTGTTTTTTTTGATCCCTTTTTCTTTGTTT  
 AATTTGTGGTGATTTATAGTTTTATATTTGATGGCTGGTGTCTTTTATTATTTA  
 AATACTTTTTGGTTTTTTAATTATTATTCTATGGTTAGATATTCTTTCGGGGGC  
 GATGTTTTGTCTATATGTATAATTTTCTTGAGTTTTTTGAATTGTAGCTTTAATA  
 ATTGTGGCTAGTTATAGTGTTTATAAATTTAGTAATTATAGAGGTGAGTTTAT  
 TGCTGTGAATGTTTTTTTATTAGTTTTTTTAGTTCTTTCTTTTTCTACTTCTAAT

TTGTTTTATTTTATTTATTTTGAATCTTCTTTAATTCCTACTTTATTTTAAAT  
 TTTTGGTTGGGGTTATCAGCCCGAACGATTGAGAGCTGGGTTTTATTTGCTTT  
 TCTATACTTTATTTGCTTCTTTACCTCTTTTGTAGGTATTTTTATATTGCATG  
 TACTTCTAGAGGGGTGTTTTATTTTTGATTACGGTTGATTGTAATTTTTATTT  
 GTTTATTTCTATGATTTTGGCTTTTTTAGT

>ND4\_127\_TD

AGGATGATAAGAATATTATTGTATTTGTTTTTTTTGATCCCCTTTTCTTTGTTT  
 AATTTGTGGTGATTTATAGTTTTATATTTGATGGCTGGTGTCTTTTATTATTTA  
 AATACTTTTGGTTTTTTAATTATTATTCTATGGTTAGATATTCTTTCGGGGGC  
 GATGTTTTGTCTATATGTATAATTTTCTTGAGTTTTTGAATTGTAGCTTTAATA  
 ATTTGGCTAGTTATAGTGTTTATAAATTTAGTAATTATAGAGGTGAGTTTAT  
 TGCTGTGAATGTTTTTTTATTAGTTTTTTTAGTTCTTTCTTTTCTACTTCTAAT  
 TTGTTTTATTTTATTTATTTTGAATCTTCTTTAATTCCTACTTTATTTTAAAT  
 TTTTGGTTGGGGTTATCAGCCCGAACGATTGAGAGCTGGGTTTTATTTGCTTT  
 TCTATACTTTATTTGCTTCTTTACCTCTTTTGTAGGTATTTTTATATTGCATG  
 TACTTCTAGAGGGGTGTTTTATTTTTGATTACGGTTGATTGTAATTTTTATTT  
 GTTTATTTCTATGATTTTGGCTTTTTTAGT

>ND4\_113\_TD

AGGATGATAAGAATATTATTATATTTGTTTTTTTTGATCCCCTTTTCTTTGTTT  
 AATTTGTGGTGATTTATGGTTTTATATTTGATGGTTGGTGTCTTTTATTATTTA  
 AATACTTTTGGTTTTTTAATTATTATTCTATGGTTAGATATTCTTTCGGGGGT  
 GATGTTTTGTCTATATGTATAATTTTTTTGAGTTTTTGGATTGTAGCTTTAATG  
 GTTGGCTAGTTATAGTGTTTATAAATTTAGTAATTATAGAGGTGAGTTTAT  
 TGCTGTGAATGTTTTTTTGTAGTTTTTTTAGTTCTTTCTTTTCTACCTCTAAT  
 TTATTTTTGTTTTATTTATTTTGGAGTCTTCTTTAATTCCTACTTTATTTTAAAT  
 TTTTGGTTGGGGTTATCAGCCTGAGCGATTGAGAGCTGGGTTTTATTTGCTTTT  
 TTATACTTTGTTTGCTTCTTTGCCTCTTTTGTAGGTATTTTTTATATTGCACGT  
 ACTTCTAGAGGAGTGTTTTATTTTTGATTACGGTTGATTGTAATTTTTATTTG  
 TTTATTTCTATGATTTGGCTTTTTTAGT

>ND4\_100\_TD

AGGATGATAAGAATATTATTGTATTTGTTTTTTTTGATCCCCTTTTCTTTGTTT  
 AATTTGTGGTGATTTATGGTTTTATATTTGATGGCTGGTGTCTTTTATTATTTA  
 AATACTTTTGGTTTTTTAATTATTATTCTATGGTTAGATATTCTTTCGGGGGT  
 GATGTTTTGTCTATATGTATAATTTTTTTGAGTTTTTGGATTGTAGCTTTAATG  
 GTTGGCTAGTTATAGTGTTTATAAATTTAGTAATTATAGAGGTGAGTTTAT  
 TGCTGTGAATGTCTTTTTGTTAGTTTTTTTAGTTCTTTCTTTTCTACCTCTAAT  
 TTATTTTTATTTTACTTATTTTTTGGAGTCTTCTTTAATTCCTACTTTATTTTAAAT  
 TTTTGGTTGGGGTTATCAGCCTGAGCGATTGAGAGCTGGGTTTTATTTGCTTTT

TTATACTTTGTTTGCTTCTTTACCTCTTTTGTTAGGTATTTTTTATATTGCACGT  
 ACTTCTAGAGGAGTGTTTTATTTTTTGATTACGGTTGATTGTAACCTTTATTG  
 TTTATTTCTATGATTTGGCTTTTTTAGT

>ND4\_99\_TD

AGGATGATAAGAATATTATTGTATTTGTTTTTTTTGATCCCCTTTTCTTTGTTT  
 AATTTGTGGTGATTTATGGTTTTATATTTGATGGCTGGTGTCTTTTATTATTTA  
 AATACTTTTTGGTTTTTTAATTATTATTCTATGGTTAGATATTCTTTCGGGGGT  
 GATGTTTTGTCTATATGTATAATTTTTTTGAGTTTTTGGATTGTAGCTTTAATG  
 GTTGTGGCTAGTTATAGTGTTTATAAATTTAGTAATTATAGAGGTGAGTTTAT  
 TGCTGTGAATGCTTTTTGTTAGTTTTTTAGTTCTTTCTTTTTCTACCTCTAAT  
 TTATTTTTATTTACTTATTTTTGAGTCTTCTTTAATCCTACTTTATTTTTAAT  
 TTTTGGTTGGGGTTATCAGCCTGAGCGATTGAGAGCTGGGTTTTATTTGCTTTT  
 TTATACTTTGTTTGCTTCTTTACCTCTTTTGTTAGGTATTTTTTATATTGCACGT  
 ACTTCTAGAGGAGTGTTTTATTTTTTGATTACGGTTGATTGTAATTTTTATTG  
 TTTATTTCTATGATTTGGCTTTTTTAGT

>ND4\_95\_TD

AGGATGATAAGAATATTATTATATTTGTTTTTTTTGATCCCCTTTTCTTTGTTT  
 AATTTGTGGTGATTTATGGTTTTATATTTGATGGTTGGTGTCTTTTATTATTTA  
 AATACTTTTTGGTTTTTTAATTATTATTCTATGGTTAGATATTCTTTCGGGGGT  
 GATGTTTTGTCTATATGTATAATTTTTTTGAGTTTTTGGATTGTAGCTTTAATG  
 GTTGTGGCTAGTTATAGTGTTTATAAATTTAGTAATTATAGAGGTGAGTTTAT  
 TGCTGTGAATGTTTTTTTGGTTAGTTTTTTAGTTCTTTCTTTTTCTACCTCTAAT  
 TTATTTTTGTTTTATTTATTTTTGAGTCTTCTTTAATCCTACTTTATTTTTAAT  
 TTTTGGTTGGGGTTATCAGCCTGAGCGATTGAGAGCTGGGTTTTATTTGCTTTT  
 TTATACTTTGTTTGCTTCTTTACCTCTTTTGTTAGGTATTTTTTATATTGCACGT  
 ACTTCTAGAGGAGTGTTTTATTTTTTGATTACGGTTGATTGTAATTTTTATTG  
 TTTATTTCTATGATTTGGCTTTTTTAGT

>ND4\_83\_TD

AGGATGATAAGAATATTATTGTATTTGTTTTTTTTGATCCCCTTTTCTTTGTTT  
 AATTTGTGGTGATTTATAGTTTTATATTTGATGGCTGGTGTCTTTTATTATTTA  
 AATACTTTTTGGTTTTTTAATTATTATTCTATGGTTAGATATTCTTTCGGGGGC  
 GATGTTTTGTCTATATGTATAATTTCTTGAGTTTTTGAATTGTAGCTTTAATA  
 ATTGTGGCTAGTTATAGTGTTTATAAATTTAGTAATTATAGAGGTGAGTTTAT  
 TGCTGTGAATGTTTTTTTATTAGTTTTTTAGTTCTTTCTTTTTCTACTTCTAAT  
 TTGTTTTATTTTATTTATTTTTTGAATCTTCTTTAATCCTACTTTATTTTTAAT  
 TTTTGGTTGGGGTTATCAACCCGAACGATTGAGAGCTGGGTTTTATTTGCTTT  
 TCTATACTTTATTTGCTTCTTTACCTCTTTTGTTAGGTATTTTTTATATTGCACG

TACTTCTAGAGGGGTGTTTTATTTTTTGATTACGGTTGATTGTAATTTTTATTT  
GTTTATTTCTATGATTTTGGCTTTTTTAGT

>ND4\_70\_TD

AGGATGATAAGAATATTATTATATTTGTTTTTTTTGATCCCCTTTTCTTTGTTT  
AATTTGTGGTGATTTATGGTTTTATATTTGATGGCTGGTGTCTTTTATTATTTA  
AATACTTTTTGGTTTTTTAATTATTATTCTATGGTTAGATATTCTTTTCGGGGGT  
GATGCTTTGTCTATATGTATAATTTTTTTGAGTTTTTTGGATTGTAGCTTTAATG  
GTTGTGGCTAGTTATAGTGTTTATAAATTTAGTAATTATAGAGGTGAGTTTAT  
TGCTGTGAATGTCTTTTTGTTAGTTTTTTTAGTTCTTTCTTTTTCTACTTCTAAT  
TTGTTTTTATTTTATTTATTTTTGAGTCTTCTTTAATTCCTACTTTATTTTTAAT  
TTTTGGTTGGGGTTATCAGCCTGAGCGATTGAGAGCTGGGTTTTATTGCTTTT  
TTATACTTTGTTTGCTTCTTTACCTCTTTTGTTAGGTATTTTTTATATTGCACGT  
ACTTCTAGAGGAGTGTTTTATTTTTTGATTACGGTTGATTGTAATTTTTATTTG  
TTTATTTCTATGATTTGGCTTTTTTAGT

>ND4\_67\_TD

AGGATGATAAGAATATTATTATATTTGTTTTTTTTGATCCCCTTTTCTTTGTTT  
AATTTGTGGTGATTTATGGTTTTATATTTGATGGCTGGTGTCTTTTATTATTTA  
AATACTTTTTGGTTTTTTAATTATTATTCTATGGTTAGATATTCTTTTCGGGGGC  
GATGTTTTGTCTATATGTATAATTTTTTTGAGTTTTTTGGATTGTAGCTTTAATG  
GTTGTGGCTAGTTATAGTGTTTATAAATTTAGTAATTATAGAGGTGAGTTTAT  
TGCTGTGAATGTCTTTTTGTTAGTTTTTTTAGTTCTTTCTTTTTCTACCTCTAAT  
TTATTTTTATTTTACTTATTTTTTGAGTCTTCTTTAATTCCTACTTTATTTTTAAT  
TTTTGGTTGGGGCTATCAGCCTGAGCGATTGAGAGCTGGGTTTTATTGCTTTT  
TTATACTTTGTTTGCTTCTTTACCTCTTTTGTTAGGTATTTTTTATATTGCACG  
TACTTCTAGAGGAGTGTTTTATTTTTTGATTACGGTTGATTGTAATTTTTATTT  
GTTTATTTCTATGATTTTGGCTTTTTTAGT

>ND4\_61\_TD

AGGATGATAAGAATATTATTATATTTGTTTTTTTTGATCCCCTTTTCTTTGTTT  
AATTTGTGGTGATTTATGGTTTTATATTTGATGGCTGGTGTCTTTTATTATTTA  
AATACTTTTTGGTTTTTTAATTATTATTCTATGGTTAGATATTCTTTTCGGGGGC  
GATGTTTTGTCTATATGTATAATTTTTTTGAGTTTTTTGGATTGTAGCTTTAATG  
GTTGTGGCTAGTTATAGTGTTTATAAATTTAGTAATTATAGAGGTGAGTTTAT  
TGCTGTGAATGTCTTTTTGTTAGTTTTTTTAGTTCTTTCTTTTTCTACCTCTAAT  
TTATTTTTATTTTACTTATTTTTTGAGTCTTCTTTAATTCCTACTTTATTTTTAAT  
TTTTGGTTGGGGTTATCAGCCTGAGCGATTGAGAGCTGGGCTTTATTGCTTTT  
TTATACTTTGTTTGCTTCTTTACCTCTTTTGTTAGGTATTTTTTATATTGCACG  
TACTTCTAGAGGAGTGTTTTATTTTTTGATTACGGTTGATTGTAATTTTTATTT  
GTTTATTTCTATGATTTTGGCTTTTTTAGT

>ND4\_53\_TD

AGGATGATAAGAATATTATTGTATTTGTTTTTTTTGATCCCTTTTTCTTTGTTT  
AATTTGTGGTGATTTATGGTTTTATATTTGATAGTTGGTGTCTTTTATTATTTA  
AACTTTTTGGTTTTTAAATTATTCTATAGTTAGATATTCTTTCGGGGGT  
GATGTTTTGTCTATATGTATAATTTTCTTGAGTTTTTGGATTGTAGCTTTAATG  
ATTGTGGCTAGTTATAGTGTTTATAAATTTAGTAATTATAGAGGTGAATTTAT  
TGCTGTGAATGTCTTTTTGTTAGTTTTTTTAGTTCTTTCTTTTTCTACTTCTAAT  
TTGTTTTTATTTTATTTATTTTTTTGAATCTTCTTTAATTCCTACTTTATTTTAAAT  
TTTTGGTTGGGGCTATCAACCTGAACGATTGAGAGCTGGGTTTTATTTGCTTT  
TCTATACTTTATTTGCTTCTTTGCCTCTTTTGTAGGTATTTTTTATATTGCATG  
TACTTCTAGAGGAGTGTTTTATTTTTTGATTATGGTTGATTGTAATTTTTATTT  
GTTTATTTCTATGATTTTGGCCTTTTTAGT

>ND4\_46\_TD

AGGATGATAAGAATATTATTGTATTTGTTTTTTTTGATCCCTTTTTCTTTGTTT  
AATTTGTGGTGATTTATGGTTTTATATTTGATAGTTGGTGTCTTTTATTATTTA  
AACTTTTTGGTTTTTAAATTATTCTATAGTTAGATATTCTTTCGGGGGT  
GATGTTTTGTCTATATGTATAATTTTCTTGAGTTTTTGGATTGTAGCTTTAATG  
ATTGTGGCTAGTTATAGTGTTTATAAATTTAGTAATTATAGAGGTGAATTTAT  
TGCTGTGAATGTCTTTTTGTTAGTTTTTTTAGTTCTTTCTTTTTCTACTTCTAAT  
TTGTTTTTATTTTATTTATTTTTTTGAATCTTCTTTAATTCCTACTTTATTTTAAAT  
TTTTGGTTGGGGCTATCAACCTGAACGATTGAGAGCTGGGTTTTATTTGCTTT  
TCTATACTTTATTTGCTTCTTTGCCTCTTTTGTAGGTATTTTTTATATTGCATG  
TACTTCTAGAGGAGTGTTTTATTTTTTGATTATGGTTGATTGTAATTTTTATTT  
GTTTATTTCTATGATTTTGGCCTTTTTAGT

>ND4\_38\_TD

AGGATGATAAGAATATTATTATATTTGTTTTTTTTGATCCCTTTTTCTTTGTTT  
AATTTGTGGTGATTTATGGTTTTATATTTGATGGCTGGTGTCTTTTATTATTTA  
AACTTTTTGGTTTTTAAATTATTCTATGGTTAGATATTCTTTCGGGGGC  
GATGTTTTGTCTATATGTATAATTTTTTTGAGTTTTTGGATTGTAGCTTTAATG  
GTTGTGGCTAGTTATAGTGTTTATAAATTTAGTAATTATAGAGGTGAGTTTAT  
TGCTGTGAATGTCTTTTTGTTAGTTTTTTTAGTTCTTTCTTTTTCTACCTCTAAT  
TTGTTTTTATTTTATTTATTTTTTTGAGTCTTCTTTAATTCCTACTTTATTTTAAAT  
TTTTGGTTGGGGCTATCAGCCTGAGCGATTGAGAGCTGGGTTTTATTTGCTTT  
TTTATACTTTGTTTGTCTTTACCTCTTTTGTAGGTATTTTTTATATTGCACG  
TACTTCTAGAGGAGTGTTTTATTTTTTGATTACGGTTGATTGTAATTTTTATTT  
GTTTATTTCTATGATTTTGGCCTTTTTAGT

>ND4\_11\_TD

AGGATGATAAGAATATTATTGTATTTGTTTTTTTTGATCCCTTTTTCTTTGTTT  
AATTTGTGGTGATTTATAGTTTTATATTTGATGGCTGGTGTCTTTTATTATTTA  
AATACTTTTTGGTTTTTTAATTATTATTCTATGGTTAGATATTCTTTCGGGGGT  
GATGTTTTGTCTATATGTATAATTTTCTTGAGTTTTTGAATTGTAGCTTTAATA  
ATTGTGGCTAGTTATAGTGTTTATAAATTTAGTAATTATAGAGGTGAGTTTAT  
TGCTGTGAATGTTTTTTTATTAGTTTTTTTAGTTCTTTCTTTTTCTACTTCTAAT  
TTGTTTTTATTTTATTTATTTTTTTGAATCTTCTTTAATTCCTACTTTATTTTAAAT  
TTTTGGTTGGGGTTATCAACCCGAACGATTGAGAGCTGGGTTTTATTTGCTTT  
TCTATACTTTATTTGCTTCTTTACCTCTTTTGTTAGGTATTTTTTATATTGCACG  
TACTTCTAGAGGGGTGTTTTATTTTTTGATTACGGTTGATTGTAATTTTTATTT  
GTTTATTTCTATGATTTTGGCTTTTTTAGT